

Utjecaj suplementacije bosiljkom u hranidbi kokoši nesilica na profil masnih kiselina, oksidaciju masti i antioksidativnu aktivnost jaja

Jukić, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:443302>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

Ivona Jukić

**UTJECAJ SUPLEMENTACIJE BOSILJKOM
U HRANIDBI KOKOŠI NESILICA NA PROFIL
MASNIH KISELINA, OKSIDACIJU MASTI I
ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST JAJA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju mesa i ribe na Zavodu prehrambenog-tehnološkog inženjerstva Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj dragoj mentorici izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić na uloženom vremenu, trudu i strpljenju tijekom izrade eksperimenta te na pruženim savjetima, razumijevanju i pomoći što mi je uvelike pomoglo prilikom pisanja diplomskog rada. Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i zaručniku koji su me neprestano bodrili i vjerovali u mene tijekom studiranja. Hvala vam na bezuvjetnoj pomoći, vjeri i razumijevanju. Bez vas ovo ne bi bilo moguće!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-biotehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ribe i mesa

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

UTJECAJ SUPLEMENTACIJE BOSILJKOM U HRANIDBI KOKOŠI NESILICA NA PROFIL MASNIH
KISELINA, OKSIDACIJU MASTI I ANTIOKSIDATIVNU AKTIVNOST JAJA

Ivona Jukić, univ. bacc. nutr. 0058215488

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj dodatka tri hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) i njihovih udjela (3 i 5 %) u smjese za hranidbu kokoši nesilica na udio masti, sastav masnih kiselina, oksidaciju lipida, antioksidativnu aktivnost te boju i teksturalna svojstva jaja. Rezultati istraživanja pokazali su da dodatak bosiljka u smjesu statistički značajno ($p \leq 0,05$) utječe na boju žumanjka, antioksidativna svojstva te teksturalna svojstva jaja. Također, dodatak bosiljka značajno utječe na udio masnih kiselina u jajetu te ima različite učinke na sastav masnih kiselina ovisno o tipu hibrida i udjelu bosiljka u smjesi što upućuje na potencijal korištenja bosiljka u modificiranju sastava masnih kiselina. Dodatak bosiljka doveo je do statistički značajne razlike u udjelu mononezasićenih, polinezasićenih i omega-3 masnih kiselina (n-3), a da pri tome nije utjecao na udio zasićenih i omega-6 masnih kiselina (n-6). S druge strane, hibridi bosiljka nisu statistički značajno ($p > 0,05$) utjecali na oksidaciju lipida što ukazuje na stabilnost masti u jajima.

Ključne riječi: jaja, bosiljak, sastav masnih kiselina, oksidacija masti, antioksidativna svojstva

Rad sadrži: 56 stranica, 10 slika, 12 tablica, 59 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Helga Medić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić (član)
4. izv. prof. dr. sc. Marko Obranović (zamjenski član)

Datum obrane: 23. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

EFFECTS OF BASIL SUPPLEMENTATION IN LAYING HEN DIETS ON EGG FATTY ACID PROFILE,
LIPID OXIDATION, AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY

Ivona Jukić, univ. bacc. nutr. 0058215488

Abstract:

The aim of this research was to examine the effect of addition of three basil hybrids (hybrid 576, hybrid 335 and Dark Opal) and their proportions (3% and 5%) to the feed mixture for laying hens, on the fat content, profile of fatty acids, lipid oxidation, antioxidant activity, and the color and textural properties of eggs. The results of the study showed that the addition of basil to the feed mixture had a statistically significant effect ($p \leq 0.05$) on the antioxidant properties, yolk color, and textural properties of the eggs. Additionally, basil supplementation significantly affected the proportion of fatty acids in the eggs and had varying effects on the composition of fatty acids, depending on the type of hybrid and the proportion of basil in the mixture. This suggests the potential for using basil to modify the fatty acid composition of eggs. The addition of basil resulted in a statistically significant difference in the proportions of monounsaturated, polyunsaturated and n 3 fatty acids, without affecting the proportions of saturated and n 6 fatty acids. In contrast, the basil hybrids did not have a statistically significant effect ($p > 0.05$) on lipid oxidation, indicating the stability of the fat in the eggs.

Keywords: eggs, basil, fatty acid composition, fat oxidation, antioxidant properties

Thesis contains: 56 pages, 10 figures, 12 tables, 59 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in the Library of the University of Zagreb Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Nives Marušić Radovčić , PhD, Associate professor

Reviewers:

1. Helga Medić, PhD, Full professor (president)
2. Nives Marušić Radovčić, PhD Associate professor/Assistant professor (mentor)
3. Klara Kraljić, PhD, Associate professor (member)
4. Marko Obranović, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 27th September, 2023

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. FIZIOLOGIJA JAJA	3
2.1.1. Ljuska	3
2.1.2. Bjelanjak	4
2.1.3. Žumanjak	4
2.2. NUTRITIVNI PROFIL I KEMIJSKI SASTAV JAJA	5
2.3. UTJECAJ HRANJENJA NA KVALITETU JAJA	6
2.3.1. Biljke i začini	7
2.3.2. Eterična ulja	10
2.3.3. Biljna i životinjska ulja	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. MATERIJALI	14
3.2. METODE RADA	15
3.2.1. Određivanje boje žumanjka	15
3.2.2. Određivanje teksturalnih svojstava	15
3.2.3. Određivanje udjela masti i sastava masnih kiselina	17
3.2.4. Određivanje stupnja oksidacije masti TBARS metodom	21
3.2.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom	22
3.2.6. Obrada podataka	24
4. REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1. REZULTATI ODREĐIVANJA BOJE ŽUMANJKA	26
4.2. REZULTATI ODREĐIVANJA TEKSTURALNIH SVOJSTAVA	27
4.3. REZULTATI ODREĐIVANJA UDJELA MASTI I SASTAV MASNIH KISELINA TE INDEKSI MASNIH KISELINA U JAJIMA	30
4.4. REZULTATI ODREĐIVANJA SASATAVA MASNIH KISELINA U SMJESI 43	
4.5. OKSIDACIJA MASTI	48
4.6. ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA	49
5. ZAKLJUČCI	51
6. LITERATURA	52

1. UVOD

Jaje je namirnica životinjskog porijekla koja se konzumira od prapovijesti pa sve do danas. Izvrstan je izvor visoko kvalitetnih proteina (zbog probavljivosti i aminokiselinskog sastava), lipida (fosfolipida i polinezasićenih masnih kiselina) kao i vitamina i mineralnih tvari. Nutritivno je gusta namirnica jer osigurava više hranjivih tvari nego energije što je čini idealnom namirnicom za različite potrošače. Osim s nutricionističkog aspekta jaja su također zanimljiva potrošačima zbog niske cijene, dostupnosti, okusa i lake pripreme (Zotte i sur., 2021).

Potreba stanovništva za zdravom i uravnoteženom prehranom učinila je peradarstvo jednim od najvažnijih gospodarskih sektora. Proizvodi životinjskog porijekla, posebice jaja, privukli su veliku pozornost potrošača zbog uravnotežene količine hranjivih tvari. Interes više nije usmjeren samo na opskrbu hranom, već na zdravstvenu ispravnost hrane i njegovu nutritivnu vrijednost, dobrobit životinja i utjecaj proizvodnje na okoliš (Marelli i sur., 2021). Uzgoj kokoši nesilica i proizvodnja jaja su zbog toga prošli brojne promjene tijekom povijesti kako bi se zadovoljili zahtjevi potrošača.

Jedan od glavnih ciljeva peradarske industrije jest poboljšati kvalitetu i sastav jaja. Mnoge studije zaključile su da sastav masnih kiselina u jajima ovisi o sastavu masnih kiselina u krmivima koja se daju kokošima nesilicama stoga se jaja obogaćuju određenim hranjivim tvarima kroz dijetalne manipulacije kako bi se stvorio posebni ili funkcionalni prehrambeni proizvod koji pruža zdravstvene dobrobiti za ljude. Uloga esencijalnih masnih kiselina (linolne i α -linolenske masne kiseline) i njihovih metabolita u ljudskom zdravlju, rastu i razvoju, tema je od stalnog interesa. Kako bi se modificirao sastav masnih kiselina u jajima u hranidbu kokoši dodaju se biljke, biljni ekstrakti, eterična ulja koja mogu biti u kombinaciji, sjemenke te biljna i životinjska ulja. Najčešće korištena biljna ulja su laneno i sojino ulje te ulje uljane repice, a od životinjskih svinjska mast i riblje ulje (Gao i sur., 2021). Od eteričnih ulja najčešće se koriste bosiljak, kadulja, ružmarin i majčina dušica. Beynen (2004) je proveo eksperiment u kojem je hranio kokoši s hranom koja sadrži kikiriki, soju i lanene sjemenke. Prilikom ispitivanja pokušava se odrediti sastav masnih kiselina i brojni parametri koji određuju kvalitetu jaja. Sastav masnih kiselina i boja žumanjka pokazuju varijacije tijekom dodatka različitih ulja i biljaka tijekom hranidbe kokoši što je još 1934. godine Cruickshank otkrio (Kirubakaran i sur., 2011).

Ceylan i sur. (2011) zaključili su da se profil masnih kiselina može modificirati upotrebom dodanih ulja bogati n-3 masnim kiselinama, ali se sadržaj kolesterola ne može značajno promijeniti promjenom izvora masti u prehrani. Opadajući redosljed nutritivne kvalitete jaja kokoši hranjeni krmivima koja se temelji na različitim izvorima n-6 i n-3 masnim kiselinama je: laneno ulje > riblje ulje > repičino ulje > suncokretovo ulje. Nadalje, veliki istraživački značaj u peradarskoj industriji imaju i dodatci eteričnih ulja u stočnu hranu koji su odlična zamjena za

antibiotike za poboljšanje zdravlja i učinka kokoši. Neka istraživanja potvrdila su da dodatak bosiljka u prehranu kokoši može značajno ($p \leq 0,01$) povećati n-3 masne kiseline u žumanjku s razmjernim smanjenjem zasićenih masnih kiselina. Uz to, dodatak bosiljak značajno poboljšava boju žumanjka (Kirubakaran i sur., 2011). Kediri i sur. (2023) proveli su pokus kako bi istražili učinak brašna od listova ružmarina na proizvodnju i kvalitetu jaja. Rezultati su pokazali da pri dodavanju 3,5 i 5,2 % brašna od listova ružmarina je došlo do povećanja težine i čvrstoće ljuske jajeta. Osim toga, došlo je i do značajnog povećanja težine i visine bjelanjka i žumanjka te Houghove jedinice.

Također je važno naglasiti da na kvalitetu jaja ne utječu samo karakteristike krmiva (sastav, energetski sadržaj, tekstura), već i način čuvanja kokoši, njihova starosna dob, pasmina kao i njihovo zdravlje.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka tri hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) i njihovih udjela (3 i 5 %) u smjese za hranidbu kokoši nesilica na sastav i udio masnih kiselina, oksidaciju masti, boju žumanjka te teksturalna i antioksidativna svojstva jaja.

2. TEORIJSKI DIO

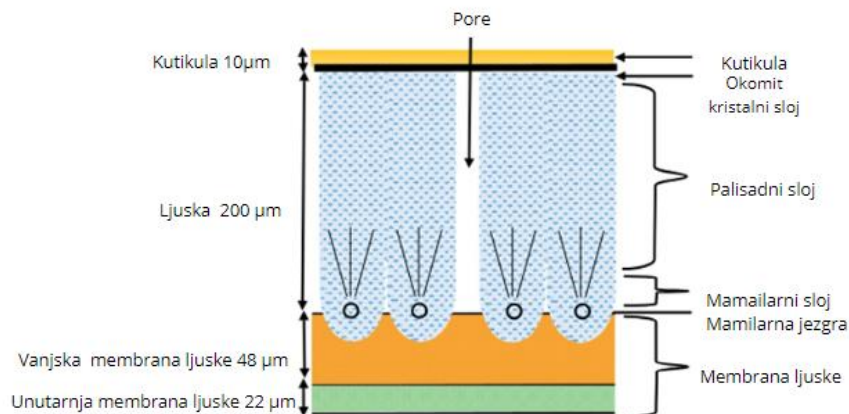
2.1. FIZIOLOGIJA JAJA

Kokoške jaje ima elipsoidni oblik, s jednim krajem većim od drugog, promjera oko 45 cm i duljine oko 60 cm te težine u prosjeku oko 60 g. Oologija je znanost o anatomiji i fiziologiji jaja koja objašnjava da se svako jaje sastoji od 3 osnovna dijela: ljuska koja čini 9 -11 %, bjelanjak 60 - 63% i žumanjak 28 - 29%.

2.1.1. Ljuska

Ljuska jajeta višeslojna je struktura koja je najvećim dijelom građena od kalcijeva karbonata, oko 98 %. Takva struktura omogućuje izmjenu plinova i prijenos topline, ali i sprječava ulazak patogena. Debljina ljuske kreće se između 350 - 450 μm . (Hamilton i Bryden, 2021). Na slici 1 može se najbolje razumjeti složenost strukture ljuske jajeta. Polazeći s unutarne prema vanjskoj strani možemo uočiti da se ljuska dijeli na 3 osnovna dijela: membrana ljuske (unutarnja i vanjska membrana), tzv. prava ljuska (mamilarni, palisadni i kristalni sloj) i kutikula. Također je uočljivo da ljuska jajeta sadrži pore čiji je broj promjenjiv, a kod kokošnjih jaja kreće se između 12 do 15 tisuća (Senčić i Samac, 2017).

Kvaliteta ljuske predstavlja sposobnost ljuske da izdrži vanjsku silu bez pucanja ili razbijanja, a određuje je njezina čvrstoća i debljina (Stojanović, 2021).



Slika 1. Građa presjeka ljuske jajeta (prema Hamilton i Bryden, 2021)

2.1.2. Bjelanjak

Bjelanjak je slojevito građen kao i ljuska. Sastoji se od vanjskog sloja ili rijetkog bjelanjka (21%), sloja gustog bjelanjka (55%) i unutrašnjeg sloja rijetkog bjelanjka (21%). Sloj bjelanjka koji okružuje žumanjak tvori halaze-uvijene vrpce bjelanjka koje drže žumanjak na sredini jajeta. Bjelanjak uglavnom čini voda i proteini (Senčić i Samac, 2017). Uloga bjelanjka je opskrbljivanje zametka hranjivim tvarima i zaštita od mehaničkih utjecaja- potresanje (Biđin, 2010).

Glavni pokazatelj unutarnje kvalitete jaja su Haughove jedinice (HJ) koje se računaju na temelju visine bjelanjka i mase jajeta, prema formuli (Senčić i Samac, 2017) :

$$HJ=100 \log (H + 7,77-1,7W^{0,37}) \quad [1]$$

gdje je:

H= visina gustoga bjelanjka (mm)

W= masa jajeta (g)

2.1.3. Žumanjak

Žumanjak je loptasta i gusta struktura koja je obavijena tankom i prozirnom žumanjkovom opnom. Na vanjskoj površini žumanjka nalazi se zametna pločica ili disk, a u sredini žumanjka se nalazi latebra - okrugla jezgra. Oko latebre izmjenjuju se slojevi tamnog i žutog žumanjka. Latebra i zametna pločica (disk) povezani su pomoću vrata latebre (Senčić i Samac, 2017).

Njegova boja može biti žute do narančaste boje i ovisi o količini pigmenta u prehrani. Boja se prepisuje karotenoidima topljivim u mastima, a glavne komponente u žumanjku su ksantofili uključujući lutein, zeaksantin i β -kriptoksantin. Nešto manje ima karotenoida točnije β -betakarotena (Li-Chan i Kim, 2008). Uporaba krmiva s većim sadržajem pigmenata dobiva se veći intenzitet boje žumanjka. Boja žumanjka je ekspresivni senzorski čimbenik potrošača i u pojedinim državama različiti su zahtjevi za intenzitet boje žumanjka. Vrlo slaba je povezanost između boje žumanjka i njegove hranjive vrijednosti. Žumanjak je važan sastojak hrane zbog svojih nutritivnih i organoleptičkih svojstava. Obiluje vitaminima topivim u mastima, vitaminima B kompleksa, mineralnim tvarima, esencijalnim aminokiselinama te fosfolipidima (Senčić i Samac, 2017).

2.2. NUTRITIVNI PROFIL I KEMIJSKI SASTAV JAJA

Osnovni kemijski sastav prikazan je u tablici 1. Vidljivo je da $\frac{3}{4}$ jaja čini voda. Od makronutrijenata najzastupljeniji su proteini, potom masti i tek nešto malo ima ugljikohidrata. U žumanjku ima najviše masti, zatim proteina dok bjelanjak sadrži najviše proteina, a masti ima u tragovima. Mineralnih tvari ima oko 1% u cijelom jajetu.

Tablica 1. Osnovni kemijski sastav kokošnjih jaja (Senčić i Samac, 2017)

Sastojci	Žumanjak	Bjelanjak	Cijelo jaje
Voda, %	47,0 - 50,0	86,0 – 88,0	72,0 – 75,0
Proteini, %	15,0-17,0	10,5 – 12,3	12,5 – 13,3
Masti, %	28,0 – 36,0	u tragovima	10,7 – 11,6
Ugljikohidrati, %	0,7 – 1,4	0,1 – 0,5	0,7
Mineralne tvari, %	0,7 – 1,6	0,3 – 0,6	1,0

Jaja su namirnice s visokokvalitetnim proteinima zbog velike probavljivosti (> 90 %) i nenadmašnom ravnotežom esencijalnih aminokiselina (Zotte i sur., 2021). Identificirano je ukupno 550 različitih proteina u jajetu, a fiziološka funkcija samo njih 20 je okarakterizirana (Réhault-Godber i sur., 2019). Proteini su ravnomjerno raspoređeni između bjelanjka i žumanjka jajeta i njihova biološka vrijednost iznosi 94 što u prijevodu znači da ako osoba unese 100 g proteina ona može sintetizirati 94 g vlastitih proteina (Senčić i Samac, 2017). Proteini su po udjelu druga najzastupljenija hranjiva tvar u jajetu i raspodijeljeni su između bjelanjka i žumanjka gdje ga ima nešto više. Ovalbumin je glavni protein u bjelanjku i čini oko 54 % ukupnog proteina. U bjelanjku su još zastupljeni globulin, albumin (gusti dio bjelanjka), muscin i mukoid (strukturni dio bjelanjka). Osim toga još se nalaze, ovotransferin, lizozim, ovoinhibitor, flavoprotein, cistatin i avidin (Li- Chan i Kim, 2008). Žumanjak jajeta je složena sredina koja sadrži 68 % lipoproteina niske gustoće (LDL), 16 % lipoproteina visoke gustoće (HDL), 10 % livetina i drugih topljivih proteina te 4B% fosvitina. Ove komponente raspoređene su između netopljivih proteinskih frakcija koji se nazivaju granule i plazme. U žumanjku su također prisutni apolipoprotein B, apovitelenin-1, vitelogenin, serumski albumin, imunoglobulin, ovalbumin i ovotransferin.

Ukupan sadržaj masti u jajetu je relativno stabilan i kreće se od 8,7 g do 11,2 g na 100 g cijelog jajeta (Réhault-Godbert, 2019). U jajetu su glavne masne komponente trigliceridi (65 %) i fosfolipidi (32%). U sastavu fosfolipida se nalaze polinezasićene masne kiseline, pri čemu su najzastupljenije arahidonska masna kiselina i α -linolenska masna kiselina, a od mononezasićenih najzastupljenija je oleinska masna kiselina. U rasponu od 30 do 35 % prisutne su zasićene masne kiseline od kojih su najzastupljenije palmitinska masna kiselina s udjelom oko 22 - 26 % i stearinska masna kiselina u količini 8 – 10 % (Senčić i Samac, 2017).

Lipidi su glavna komponenta čvrste tvari žumanjka, 65 % čine trigliceridi, 28-30 % fosfolipidi i 4 - 5 % kolesterol. Glavne zasićene masne kiseline su palmitinska i stearinska kiselina koje čine 30 - 38% masnih kiselina u žumanjku, dok oleinska masna kiselina, linolna masna kiselina i arahidonska masna kiselina čine ostatak (Li-Chain i Kim, 2008). Glavne komponente fosfolipida čine fosfatidilkolin i fosfatidiletanolamin (Senčić i Samac, 2017). Jedan žumanjak jajeta u prosjeku sadrži 226 mg kolesterola. U žumanjku su prisutni i cerebrozidi klasificirani kao glikolipidi.

Bjelanjak sadrži jako malo lipida. Glavne masne kiseline u bjelanjku su: palmitinska, oleinska, linolna, arahidonska i stearinska masna kiselina. Sadržaj ugljikohidrata u jajima je nizak oko 0,7 % i jaja ne sadrže prehrambena vlakna. Kao i proteini, ugljikohidrati su raspoređeni između bjelanjka i žumanjka. Najvećim djelom su u obliku oligosaharida, vezani na proteinima. Glukoza je dominantni slobodni šećer većinom prisutan u bjelanjku, a u tragovima se nalaze fruktoza, laktoza, maltoza i galaktoza (Réhault-Godbert, 2019).

Jaje sadrži sve vitamine osim vitamina C. Najviše sadrži vitamine bogate u mastima (A, D, K, E) i vitamine B- kompleksa.

Jaje je bogato fosforom, kalcijem, kalijem te umjerenim količinama natrija. U tragovima su prisutni bakar, željezo, magnezij, mangan, selen i cink (Rehault- Galbert, 2019).

2.3. UTJECAJ HRANJENJA NA KVALITETU JAJA

Hranidba kokoši nesilica je ključna u optimizaciji kvalitete jaja. Istraživanja su pokazala da karakteristika prehrane kao što su sastav i energetska sadržaj, ali učestalost i raspored hranjenja mogu utjecati na karakteristike jaja i reproduktivni učinak kokoši. Frekvencija i raspored hranjenja mogu utjecati na reprodukciju i masu jaja. Dnevna proizvodnja jaja veća je kod kokoši koje su hranjene više od 1 x dnevno u usporedbi s onima koje se hrane samo jednom dnevno. Pokazalo se da hranjenje kokoši 2 x dnevno ima pozitivan učinak na masu jaja, masu ljuske, visinu bjelanjka kao i Haughovu jedinicu i boju žumanjka. Također, većina jaja bila je proizvedena u vremenu 8 - 12 sati stoga bi najprikladniji početak hranjenja bio prije 8 h (Soltanmoradi, 2014).

Sadržaj makronutrijenata kao što su lipidi i proteini jaja relativno je stabilan. Glavni utjecaj hranidbe kokoši nesilica je na masu jaja, s manjim utjecajem na glavne sastojke jaja, osim na udio bjelanjka i žumanjka. Međutim, neki sastojci krmne smjese imaju izravan učinak na sastav masnih kiselina, vitamina topljivih u mastima (E, D, K, A), mineralnih tvari i karotenoida u žumanjku (Bouvaerel i sur., 2011). Osim toga, od 2018. zabranjena je upotreba antibiotika kao dodatka hrani za životinje kao stimulans rasta, a od 2020. zabranjena je njihova upotreba za

prevenciju bolesti životinja (Phuong i Thuy, 2021). Pored toga, kokoši nesilice često su izložene raznim stresorima kao što su nutritivni (prisutnost oksidiranih masti i mikotoksina u hrani), okoliš (tj. temperatura) i fiziološki čimbenici (visoka stopa proizvodnje jaja i starenje). Svaki od tih čimbenika doprinosi povećanju proizvodnje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) što može rezultirati promjenama u redoks ravnoteži i dovesti do oksidativnog stresa (OS) u kokoši i na taj način negativno utjecati na produktivnost, kvalitetu jaja i zdravlje peradi (Orzuna-Orzuna i Lara-Bueno, 2023). Sve su to razlozi koji tjeraju farmere za pronalaženjem i razvojem sigurnijih i alternativnih rješenja koja će poboljšati zdravlje kokoši i kvalitetu jaja. Stoga, odgovarajuće upravljanje hranidbom kokoši pravi je izazov za peradarsku industriju. Brojna istraživanja su pokazala da upotreba fitogenih dodataka hrani kao što su biljke, biljni ekstrakti, eterična ulja (u kombinaciji i pojedinačno) i začini, učinkovita su zamjena za antibiotike zbog poticanja rasta i imaju povoljan učinak na zdravlje i kvalitetu jaja zbog svojih antimikrobnih, protuupalnih i antioksidativnih svojstava. Osim toga, uključivanje prirodnih antioksidanasa u obroke kokoši nesilica može pomoći u smanjenju prekomjerne proizvodnje ROS-a i rezultirati nižim OS. Iako postoje istraživanja o učinkovitosti fitogenih dodataka hrani kokoši na kvalitetu jaja ona su kontradiktorna.

2.3.1. Biljke i začini

Postoje studije koje procjenjuju utjecaj najčešće korištenih mediteranskih začina poput šafrana, ružmarina i origana na kvalitetu jaja i oksidativnu stabilnost žumanjka jajeta.

Ružmarin, začini koji se dobiva sušenjem lišća biljke *Rosmarinus officinalis*, sadrži širok raspon različitih fenolnih spojeva s različitim antioksidativnim djelovanjem. Karnozna kiselina je glavni fenolni sastojak prisutan u listovima ružmarina s antioksidativnom aktivnošću približno tri puta većom od karnozola i sedam puta višom od sintetskih antioksidansa butil hidroksitoluena i butil hidroksianisola. Ružmarin također sadrži manje količine drugih antioksidansa uključujući karnosol, rozmanol, epirosmanol, ružmarinsku kiselinu i njihove metoksi-derivate (Botsoglou i sur., 2005a). Krause i Ternes (2000) otkrili su poboljšanje oksidativne stabilnosti žumanjka jajeta kada je karnozna kiselina, glavni antioksidativni sastojak ružmarina, korišten kao dodatak krmivu kokoši nesilica.

Šafran, osušene crvene stabljike, aromatični je začini koji se naširoko koristi u prehrambenoj industriji zbog svojih svojstava bojenja te se smatra aditivom koji poboljšava kvalitetu jaja. Također se koristi kao analgetik u tradicionalnoj medicini i nedavno je pokazao svoja izrazita antioksidativna svojstva. Glavni biološki aktivni sastojci šafrana su krocini, crveno obojeni u vodi topljivi karotenoidi, koji su svi glikozidi krocetina. Krocini i krocetini pokazuju značajno antioksidativno djelovanje. Žumanjci iz kontrolne skupine podešeni na pH 6,2 dali su vrijednosti malondialdehida (MDA) veće od onih u skupini čija je prehrana bila obogaćena s

10 mg/kg šafrana, koje su pak bile više od onih u skupini čija je prehrana bila obogaćena s 20 mg/kg šafrana. Možemo zaključiti da je šafran pokazao antioksidativno djelovanje ovisno o dozi (Botsoglou i sur., 2005b). Uspoređujući boju žumanjka s ostalim skupinama (ružmarin i origano), boja žumanjka značajno se poboljšala u skupini s dodatkom šafrana. Ovo poboljšanje boje žumanjka ukazuje na prolaz krokina, likopena i karotena, komponente koje daju obojenje u šafranu, iz krmiva u žumanjak jajeta.

Origano, začín koji se dobiva sušenjem listova i cvjetova *Origanum vulgare*, također je dobro poznat po svojim antimikrobnim i antioksidativnim svojstvima. Glavne komponente koje su uglavnom odgovorne za ova svojstva su karvakrol i timol, dok su ostali manji sastojci γ -terpinen i p-cimen. (Botsoglou i sur., 2005a). Rezultati Gultepe i sur. (2021) pokazali su da je ukupni antioksidativni kapacitet (TAC) ostao nepromijenjen u svježim jajima i 10 dana čuvanim jajima. Nakon 20 dana skladištenja on se povećao u skupinama s 5 i 10 % origana. Nakon 30 dana skladištenja TAC je bio viši u skupini s 10 % origana nego u skupini s 5 % origana. Gultepe i sur. (2021) zaključili su da dijetalno lišće origana može produljiti vrijeme skladištenja jaja, i djelovati pozitivno na zdravlje životinja. Antioksidacijski učinci origana dodanog u krmiva za kokoši može pomoći u održavanju svježine i kvalitete pohranjenih jaja na 4°C do 30 dana.

U tablici 2 prikazani su učinci dodataka različitih vrsta i koncentracija biljaka i začina na boju žumanjka, Haughove jedinice, debljinu i postotak ljuske te postotak bjelanjka i žumanjka. Iz tablice 2 možemo zaključiti da dodatkom biljaka u krmiva za kokoši možemo utjecati na kvalitetu jaja. Njihov dodatak najviše je utjecao na postotak bjelanjka zatim debljinu ljuske, postotak žumanjka i na kraju na postotak ljuske dok na ostale parametre poput boje žumanjka i Haughove jedinice dodatak biljaka u krmiva za kokoši nije imalo utjecaja. Dodatkom kumina u koncentraciji od 20 g/kg krmiva došlo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u debljini ljuske i postotku žumanjka, a povećanjem koncentracije na 30 g/kg dovelo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u debljini ljuske dok na postotak žumanjka nije imalo utjecaja. Dodatkom 20 i 30 g zelenog čaja na kg krmiva dovelo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u postotku bjelanjka, debljine ljuske i ($p \leq 0,01$) postotku ljuske dok je koncentracija od 10 g/kg krmiva utjecala na postotak bjelanjka. Dodatak timijana i kurkume u koncentraciji od 10 g/kg pokazali su statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$) za postotak bjelanjka i žumanjka, a dodatak ružmarina u istoj koncentraciji dovelo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u postotku bjelanjka. Dodatak svježeg portulka u krmiva za kokoši rezultiralo je povećanom težinom jaja i poboljšanom bojom žumanjka. Tretmani koji su primali portulak imali su značajno ($p \leq 0,05$) veće razine α -linoleinske masne kiseline, kao i linolne masne kiseline u usporedbi s onima koji nisu primali portulak te poboljšani nutritivnim indeks n-6/ n-3. Sukladno tome, sadržaj stearinske masne kiseline u žumanjku jajeta značajno se smanjio ($p \leq 0,05$) u skupinama koje su primale portulak. Koncentracija MUFA ostala nepromijenjena s dodatkom portulaka u prehranu (Dotas i sur., 2023).

Tablica 2. Utjecaj dodataka različitih biljaka i začina na kvalitetu jaja (*prema* Bozkurt i sur., 2014)

Dodatak biljke	g/kg	Boja žumanjka	Haugh jedinice	Debljina ljuske	Postotak ljuske	Postotak bjelanjka	Postotak žumanjka
Crni kumin	10	nije analizirano	nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Crni kumin	20	nije analizirano	nije analizirano	≤ 0,05	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05
Crni kumin	30	nije analizirano	nije analizirano	≤ 0,05	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Zeleni čaj	10	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	Nije utjecalo
Zeleni čaj	30	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	Nije utjecalo
Zeleni čaj	50	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	Nije utjecalo
Timijan	5	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Timijan	10	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,05
Origano	5	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Origano	10	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Ružmarin	5	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Ružmarin	10	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	Nije utjecalo
Kurkuma	5	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Kurkuma	10	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,05
Mješavina češnjaka i timijana	1	nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Mješavina češnjaka i timijana	2	nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Mješavina biljaka	0,5	nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo

Dodatak ružmarina hrani nesilica rezultiralo je značajnim povećanjem postotka žumanjka ($p \leq 0,05$) i omjer žumanjka i bjelanjka ($p \leq 0,01$), ali i smanjenjem postotka bjelanjka u usporedbi s kontrolnom skupinom koja nije primala ružmarin. Zabilježen je i porast debljine ljuske gdje su dobivene najveće vrijednosti ljuske s dodatkom 3 g ružmarina na 1 kg hrane (Alagawany i Avd El-Hack, 2015). Rezultati se djelomično podudaraju s Radwan-om i sur. (2008) koji su pokazali da dodatak ružmarina u hranu povećava težinu i indeks žumanjka.

Alicin je aktivni spoj koji se nalazi u češnjaku i može smanjiti razinu serumskog kolesterola, triglicerida i LDL kolesterola. Vodeći se tom činjenicom provedena su istraživanja koja su

dokazala da dodatak češnjaka u hranidbu kokoši može dovesti do smanjenja koncentracije kolesterola u serumu i u žumanjku jajeta kako se povećava razina češnjaka, ali nije bilo utjecaja na masu jaja (Khan i sur. 2008) Dodatkom 0,2 % ljekovitog bilja (češnjak i timijan) povećalo je boju žumanjka, ali smanjilo težinu ljuske (Ghasemi i sur. 2010). Mješavine biljaka koji se sastojao od 0,05 % češnjaka u prahu, 0,3 % cimeta u prahu i 0,03 % svake od sljedećih suhih biljaka: stolisnik, ružmarin, majčina dušica, bosiljak i origano pokazali su da je došlo do povećanja sadržaja fosfolipida, triglicerida i nezasićenih masnih kiselina (C18:3 i C20:3) (Gerzilov, 2015). Utjecaj ekstrakta češnjaka na ukupnu količinu masti u jajima, analizirali su Abad i sur. (2020). Nisu primijećene značajne razlike ($p > 0,05$) u količini ukupne masti u kontrolnoj skupini i tretiranoj skupini koja je kao dodatak primala češnjak.

2.3.2. Eterična ulja

Eterična ulja mješavina su mirisnih i hlapljivih spojeva koji obično potječu iz biljaka, a nazvani su prema aromatskim karakteristikama s obzirom na podrijetlo biljke. Eterična ulja dobivaju se destilacijom i sadrže složene molekule niske molekulske mase, uglavnom terpene, terpenoide i fenilpropanoide. Osim toga, sadrže i alkohole, estere, aldehide, kiseline, ketone, epoksidge, amine i sulfide. Naširoko se koriste zbog antibakterijskog, antivirusnog, fungicidnog, insekticidnog, akaricidnog, antiparazitskog, antipiretičkog, ekspektorantskog, antikancerogenog i citotoksično djelovanja. Korištenje eteričnih ulja u povećavanju produktivnosti može dati poželjne rezultate kao promotor rasta i zdravlja, ali uključivanje eteričnih ulja u hranidbu peradi može se uspješno koristiti za poboljšanje oksidativnog statusa jaja. Eterična ulja mogu se koristiti kao prirodni antioksidansi u prehrani peradi budući da sadrže nekoliko bioaktivnih metabolita s antioksidativnim djelovanjem (Orzuna-Orzuna i Lara-Bueno, 2023). Postoje obećavajući rezultati o korištenju eteričnih ulja kao pojačivači učinka i oksidativne stabilnosti u jajima kokoši nesilica.

U tablici 3 prikazani su rezultati utjecaja dodataka eteričnih ulja različitih biljaka i začina na kvalitetu jaja. Dodavanje eteričnog ulja bergamota u koncentraciji od 0,25; 0,50 i 0,75 ml/kg nije imalo utjecaja na udio bjelančevina i debljinu ljuske jaja kokoši, ali dodatkom bilo koje koncentracije je dovelo do smanjenja postotka ljuske jaja za 15 % ili više usporedbom s netretiranom skupinom. Nadalje, dodatkom 200 mg/kg eteričnog ulja majčine dušice, kadulje ili ružmarina povećao se udio ljuske jajeta, dok dodatkom tri različite koncentracije (1, 2 ili 3 ml/kg) eteričnog ulja crnog kima nije imalo nikakvog utjecaja na ljusku jajeta. Slično tome, eterično ulje origana, koncentracijom od 50 i 100 mg/kg, nije utjecalo na karakteristiku jaja kao što su rezultat boje žumanjka, Haughova jedinica ili debljina ljuske. Nasuprot tome, dodatak mješavine 6 eteričnih ulja dovelo je do izvanrednog poboljšanja relativne težine jaja, ali nije poboljšala relativnu težinu ljuske jaja. Haughova jedinica, glavni pokazatelj unutarnje kvalitete

jaja nije bila po utjecajem eteričnih ulja bergamonta, origana, listova zelenog čaja timijana, ružmarina ili kurkumina u prahu ili kombinacija češnjaka i majčine dušice. Međutim, dodatkom eteričnog ulja dobivenog iz majčine dušice (200 ml/kg), ružmarin (200 ml/kg) ili crnog kima (3 ml/kg) snizili su vrijednosti Haughove jedinice, dok se ta vrijednost povećala dodatkom eteričnog ulja kadulje (200 ml/kg), a nije se promijenila dodatkom 1 ili 2 ml/kg eteričnog ulja crnog kima (Bozkurt i sur., 2014).

Tablica 3. Utjecaj dodataka različitih biljaka na kvalitetu jaja (*prema* Bozkurt i sur., 2014)

Dodatak eteričnog ulja	mg/kg	Boja žumanjka	Haugh jedinice	Debljina ljuske	Postotak ljuske	Postotak bjelanjka	Postotak žumanjka
Timijan	200	Nije analizirano	≤ 0,05	Nije analizirano	≤ 0,001	Nije utjecalo	≤ 0,05
Kadulja	200	Nije analizirano	≤ 0,05	Nije analizirano	≤ 0,001	Nije utjecalo	≤ 0,05
Ružmarin	200	Nije analizirano	≤ 0,05	Nije analizirano	≤ 0,001	Nije utjecalo	≤ 0,05
Crni kumin	1 ml	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Crni kumin	2 ml	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Crni kumin	3 ml	Nije analizirano	≤ 0,05	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Bergamot	0,25 ml	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,01	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Bergamot	0,50 ml	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,001	Nije utjecalo	≤ 0,05
Bergamot	0,75 ml	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,001	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Origano	50	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije analizirano	Nije analizirano
Origano	100	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije analizirano	Nije analizirano
Zeleni čaj	5	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,001	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Zeleni čaj	15	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	Nije utjecalo
Zeleni čaj	25	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,05	≤ 0,001	≤ 0,05	Nije utjecalo
Mješavina eteričnog ulja	24	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	≤ 0,001	≤ 0,001	Nije utjecalo
Mješavina eteričnog ulja	24	Nije analizirano	Nije analizirano	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije analizirano
Mješavina eteričnog ulja	24	Nije analizirano	Nije analizirano	Nije utjecalo	≤ 0,05	Nije utjecalo	Nije utjecalo
Mješavina eteričnog ulja	36	Nije utjecalo	≤ 0,05	Nije utjecalo	Nije utjecalo	Nije analizirano	Nije analizirano

Postoje i studije o učinku eteričnih ulja kao krmnog dodatka na status antioksidanasa u jajima i sastav masnih kiselina. Prema Orzuna-Orzuna i Lara-Bueno (2023) dodatak eteričnih ulja u krmnu smjesu statistički značajno je smanjio sadržaj MDA u žumanjku što ukazuje da eterična ulja smanjuju peroksidaciju lipida u žumanjku, što bi moglo poboljšati oksidacijsku stabilnost i kvalitetu skladištenja masti i jaja te tako produžiti rok trajanja jaja. Prethode studije, također su pokazale da eterična ulja sadrže različite bioaktivne spojeve s antioksidativnim svojstvima koji se mogu apsorbirati u crijevima kokoši nesilica te kroz cirkulaciju ući u žumanjak jajeta i na taj način štiti lipide od oksidacije čime se usporava proces peroksidacije lipida. Florou-Paneri i sur. (2005) izvijestili su da je stupanj oksidacije lipida u jajima, mjeren stvaranjem malondialdehida (MDA), bio značajno smanjen kada je dodano eterično ulje origana u dozi od 50 mg/kg i 100 mg/kg kao dodatak krmiva za kokoši nesilice. Rezultate je potvrdila i studija Bozkurt i sur. (2012) gdje su također primijetili značajno smanjenje sadržaja MDA u žumanjku jaja koje su snijele kokoši koje su bile hranjene mješavinom eteričnih ulja origana, lovora, kadulje, mirte, komorača i citrusa (24 mg/kg). Dodatak Enviva eterično ulje (komercijalni proizvod koji sadrži 13,5 % timola i 4,5 % cinamaldehyd kao aktivne komponente) u koncentracijama 50, 100 i 150 mg/kg krmiva nije imao statistički značajan učinak na sastav masnih kiselina u žumanjku (Ding i sur., 2017), dok dodatak eteričnog ulja origana u koncentraciji od 275 mg/ kg krmiva je imao statistički značajan utjecaj za pojedinačne masne kiseline, palmitinska, stearinska, oleinska, linolna i arahidonska masna kiselina bile su značajno niže u jajima kokoši koje su kao dodatak krmivu imali origano u usporedbi s kontrolnom skupinom ($p \leq 0,05$). Palmitoleinska ($p = 0,002$), linolenska ($p = 0,001$) i dokozaheksaenska masna kiselina ($p = 0,001$) bile su značajno više u jajima kokoši koje su kao dodatak krmivu imala origano (Johnson i sur., 2022).

2.3.3. Biljna i životinjska ulja

Ulja su najčešće primjenjivani izvori energije u hranidbi za kokoši nesilice i imaju višestruke učinke, poput poboljšanja okusa, unosa hrane, imuniteta životinja i smanjenja morbiditeta. Odgovarajući udio i vrsta ulja koja se dodaju u hrani za kokoši nesilice posebno su važni za proizvodne performanse, metabolizam lipida i kvalitetu jaja nesilica. Trenutno su glavna ulja koja se koriste u modificiranju sastava masnih kiselina biljna i životinjska ulja. Dodavanje ulja u obroke za kokoši nesilice postala je učinkovita metoda za poticanje rasta kokoši, povećanja proizvodnje i kvalitete jaja. Obično korištena biljna ulja u hrani uglavnom uključuju sojino ulje, ulje uljane repice, palmino ulje i laneno ulje, a životinjska ulja koja se obično koriste u hrani uglavnom uključuju svinjsku mast, mast peradi, loj i riblje ulje. Različita ulja imaju različite omjere zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. Biljna ulja obiluju nezasićenim masnim

kiselinama, dok životinjska ulja imaju više zasićenih masnih kiselina pa se stoga biljna ulja trenutno više koriste nego životinjska ulja (Gao i sur., 2021).

Pozornost se pridaje modificiranju sastava masnih kiselina uglavnom povećanjem n-3 (n-3) masnih kiselina jer su važne za normalan rast i razvoj te imaju važnu ulogu u liječenju i prevenciji kardiovaskularnih bolesti, hipertenzije, nekih autoimunih bolesti, dijabetesa i nekih tipova rakova. Pored toga, dokazano je da trenutni obrasci prehrane ne zadovoljavaju preporuke n-3 masnih kiselina. Sadržaj eikosapentaenska (EPA) i dokozaheksaenske (DHA) u jajima može se povećati hranidbom kokoši hranom koja sadrži riblje ulje jer je bogato EPA i DHA te se hranidbom kokoši nesilica ribljim uljem može povećati taloženje EPA i DHA u žumanjku jajeta, međutim ima negativan utjecaj na okus jaja (Huang, 1990). Dodavanje različitih ribljih ulja u obroke kokoši nesilica značajno se povećava sadržaj n-3 masnih kiselina u žumanjku jajeta, smanjuje se ukupni sadržaj n-6 masnih kiselina u žumanjku jajeta i povećava se omjer n-3/n-6 masnih kiselina (Gao i sur., 2021). Druga varijanta za povećanje sadržaja EPA i DHA je hranjenje kokoši s dodatkom ulja lanenih sjemenki jer imaju visok sadržaj linolenske kiseline (Beynen, 2004). Dodatak lanenog ulja od 4% u prehrani kokoši može se smanjiti omjer n-6 / n-3 manje od 3:1 (Petrović, 2012).

Dodavanje sojinog ulja u hranu za kokoši poboljšava hranjivu vrijednost jaja bez negativnog utjecaja na ostale aspekte kvalitete jaja. Općenito, dodavanje sojinog ulja u obrok kokoši nesilica povećava razine n-3 i n-6 PUFA u jajima, obogaćuje n-3 masnih kiselina u žumanjku i poboljšava boju žumanjka, ali nema negativnih učinaka na težinu bjelanjaka, visinu bjelanjaka ili Haughove jedinice. Dodatak sojinog ulja u hranidbu kokoši povećava se omjer n-3/ n-6 PUFA, a to je uglavnom zbog povećanog sadržaja n-3 masnih kiselina. Osim toga, korištenje sojinog ulja smanjuje sadržaj kolesterola u jajima i smanjuje trombogeni indeks (TI) i indeks aterogenosti (AI), što potvrđuje nutritivnu i zdravstvenu vrijednost sojinog ulja u prehrani kokoši nesilica (Gao i sur., 2021)

Repičino ulje je jestivo biljno ulje bogato ne masnim kiselinama koje igra važnu ulogu u svakodnevnom životu. Osim što sadrži određenu količinu oleinske kiseline, linoleinske kiseline i linolenske kiseline. Dodatak repičinog ulja može povećati sadržaj lipida i sastav žumanjka jajeta te povećati sadržaj oleinske kiseline, linolenske kiseline, DHA i ukupnih n-3 PUFA u jajima, ali ne mijenja značajno sadržaj kolesterola (Gao i sur., 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za provedbu ovog eksperimenta korišteni su svježi uzorci kokošjih jaja koji su preuzeti s Agronomskog fakulteta u Zagrebu gdje se provodio pokus s nesilicama s ciljem ispitivanja utjecaja različitih udjela (3 i 5 %) i različitih hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) na kvalitetu jaja. Smjese su sadržavale tri različita hibrida bosiljka s različitim udjelima, a kontrolna skupina nije sadržavala bosiljak. Ovaj eksperiment usredotočio se na ispitivanje utjecaja razine bosiljka različitog hibrida na sastav masnih kiselina u jajima i njihovu oksidaciju te sastav masnih kiselina u samom bosiljku. Također se određivalo ima li dodatak bosiljka utjecaja na boju žumanjka, antioksidacijsku aktivnost i teksturalna svojstva jaja. Uzorci su prije početka analize pakirani u kartonskim kutijama (slika 2) i držani u hladnjaku na 4 °C.



Slika 2. Uzorci jaja (vlastita fotografija)

3.2. METODE RADA

3.2.1. Određivanje boje žumanjka

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (Konica Minolta CM-700d/600d, Osaka, Japan)

Princip metode:

Najčešće korištena metoda za kvantificiranje boje žumanjka jajeta je spektrofotometrija gdje se određuju L^* , a^* i b^* parametri boje. Parametar L^* je mjera svjetline iskazana vrijednostima od 0 do 100 (0 = crno; 100 = bijelo). Vrijednost parametra a^* je mjera crvenila iskazana vrijednostima od -60 do 60, a iskazuje spektar od crvene do zelene boje, pri čemu veća vrijednost a^* parametra karakterizira pozitivni kraj, dok zelena negativni kraj ljestvice. Vrijednost b^* parametra ukazuje na spektar nijansi između plave i žute boje, a njegova veća vrijednost označava izraženost žutog dijela spektra (Samiullah i sur., 2015).

Postupak rada:

Za mjerenje boje ljuske i žumanjka korišten je spektrofotometar pomoću čega su izmjerene L^* (svjetlina), a^* (crvenilo) i b^* (žutilo) vrijednosti (CIE 1976). Prosječna vrijednost za svaki parametar uzorka bila je srednja vrijednost 9 određivanja

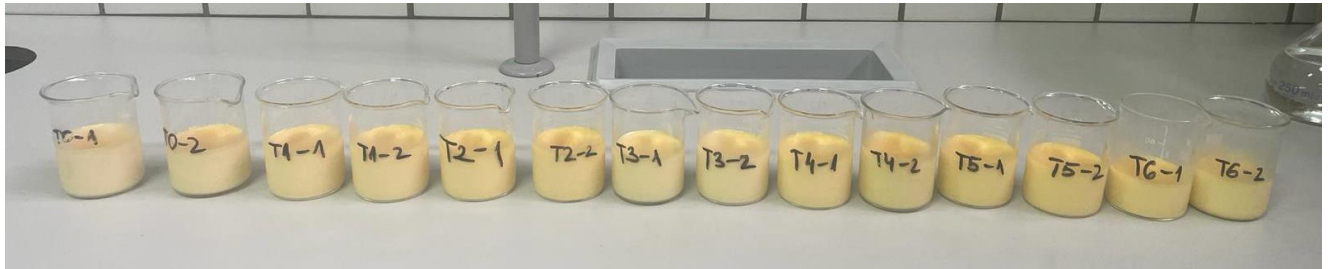
3.2.2. Određivanje teksturalnih svojstava

Aparatura i pribor:

- Teksturometar (TA1 Texture Analyzer, Ametek Lloyd Instruments Ltd., UK)
- Ultra-Turrax homogenizator (IKA- Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Laboratorijska čaša

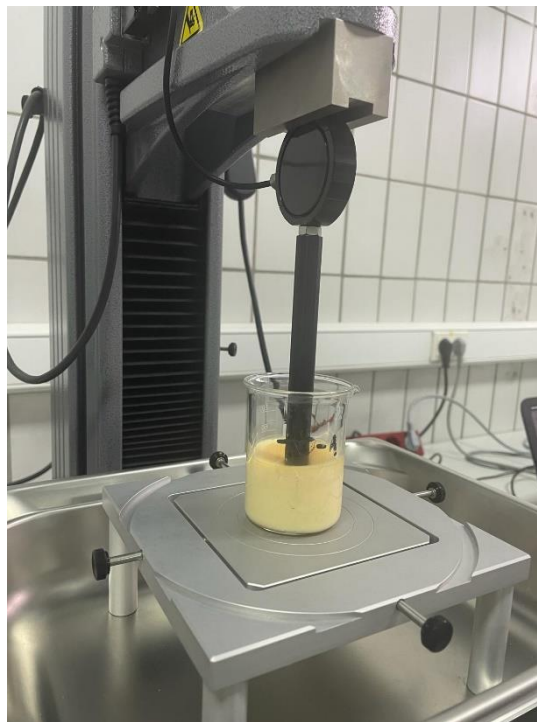
Postupak rada:

Teksturalna svojstva određuju se na način da su homogenizirani uzorci jaja (60 ml) prebačeni u čaše od 100 mL te zagrijavaju na 80°C u vremenu od 15 min u vodenoj kupelji s tresilicom. Nakon formiranja gela (Slika 3) uzorci su brzo ohlađeni na sobnu temperaturu uranjanjem u ledenu vodu te su do daljnjih analiza čuvani pri 4°C. Tekstura formiranih gelova mjerila se nakon 24 sata.



Slika 3. Ohlašeni gelovi (vlastita fotografija)

Određivanje čvrstoće gela provedeno je pomoću TA1 teksturometra (Ametek, Lloyd) (Slika 4). Rad ovog uređaja se bazira na penetriranju uzorka putem sonde. Sonda tada određenom brzinom i do određene dubine penetrira u uzorak te se naposljetku vraća u početni položaj. Ovakav ciklus se ponavlja još jednom, a podatke koje uređaj prikuplja tijekom testiranja (primijenjena sila, dubina, vrijeme) sam uređaj prikazuje u obliku grafa te ga putem računalnog programa obrađuje (Vrdoljak, 2016). Uzorci su testirani u paralelama. Brzina testiranja iznosila je 1 mm/s, udaljenost prodiranja 15 mm, brzina povlačenja 10 mm/s te povlačenje na iznad površine -3 cm.



Slika 4. Određivanje teksture uzorka pomoću teksturometra (vlastita fotografija)

3.2.3. Određivanje udjela masti i sastava masnih kiselina

3.2.3.1. Izolacija i određivanje udjela masti po Smedsu

Aparatura i laboratorijski pribor:

- Analitička vaga (ABT 220-4M, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Ultra-Turrax (IKA- Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Centrifuga (ROTINA 380 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Njemačka)
- Rotavapor (B-490, BÜCHI, Flawil, Švicarska)
- Sušionik (ST-01/02, Instrumentaria Zagreb, Hrvatska)
- Tikvica s okruglim dnom
- Pipete

Reagensi:

- Deionizirana voda
- Propan-2-ol: ACS grade (Carlo Erba Reagents, Rodano, Italija)
- Cikloheksan: ACS grade (Fisher Chemical, Hampton, USA)
- Otopina A: propan-2-ol – cikloheksan (w/w), 16-20 (96 g propan-2-ol + 120 g cikloheksan)
- Otopina B: 13 % (w/w) propan-2-ol u cikloheksanu (13 g propan-2-ol + 87 g cikloheksan)

Princip metode:

Masti se ekstrahiraju pomoću organskih otapala, cikloheksana i propan-2-ola. Dodatkom vode prelaze u nepolarnu organsku fazu tj. cikloheksanski sloj, nakon čega slijedi centrifugiranje kojim se postiže odvajanje faza. Masti se određuju gravimetrijski nakon odvajanja iz cikloheksanskog sloja i otparavanja.

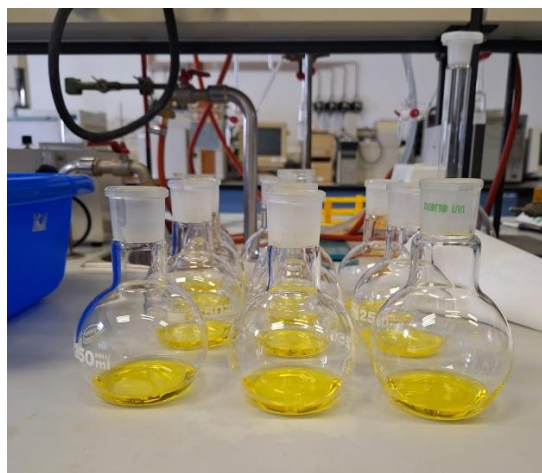
Postupak rada:

Izvaže se 2 g pripremljenog uzorka u Falcon epruvetu od 50 mL te doda 18 mL otopine A. Uzorak se homogenizira na Ultra-Turraxu 2 min pri broju okretaja od 11000 do 13000 rpm, doda mu se 10 ml vode te se ponovno homogenizira 1 min na istom broju okretaja. Centrifugiranjem tako pripremljenog uzorka 5 min na 2000 rpm dolazi do odvajanja faza. Gornja organska faza se kvantitativno odvoji pipetom (Slika 5a) u prethodno osušenu i izvaganu tikvicu s okruglim dnom (Slika 5b). Preostaloj vodenoj fazi u epruveti doda se 10 mL otopine B te homogenizira pomoću Ultra-Turraxa 1 min na istom broju okretaja. Odvajanje faza se ponovno vrši centrifugiranjem pri istim uvjetima, a organska faza se izdvoji u tikvicu s okruglim dnom koja sadrži prvi ekstrakt. Iz tikvice se otpari otapalo pomoću rotavapora (Slika

6) na temperaturi 51 °C i tlaku 235 mbar te slijedi sušenje u sušioniku 1 h na temperaturi 105 °C. Nakon hlađenja tikvica se važe i preračunava se udio ekstrahirane masti. Uzorci su testirani u paralelama.



a)



b)

Slika 5. a) kvantitativno odvajanje gornje organske faze pipetom; b) odvojena organska faza u tikvicama (vlastita fotografija)



Slika 6. Otparivanje otapala pomoću rotavapora (vlastita fotografija)

Račun:

Količina masti računa se prema formuli:

$$\text{Količina masti} = \frac{a \cdot 100}{b} [\%]$$

[2]

gdje je:

a – masa ekstrahirane masti (g)

b – masa ispitivanog uzorka (g)

Indeksi masti računaju se prema formuli:

$$\text{Indeks peroksidabilnosti (PI)} = 0,025 * \%mono + 1 * \%di + \%tri * 2 + 4 * \%tetra \quad [3]$$

$$\text{Indeks aterogenosti (AI)} = \frac{(4 * C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0})}{MUFA + PUFA} \quad [4]$$

$$\text{Indeks trombogenosti (TI)} = \frac{C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}}{0,5 * MUFA + 0,5 * n_6 + 3 * n_3 + n_6 / n_3} \quad [5]$$

$$\text{Poželjne masne kiseline (DFA)} = C_{18:0} + UFA \quad [6]$$

$$\text{Hiperkolesterolemične zasićene masne kiseline (HFSA)} = C_{14:0} + C_{16:0} \quad [7]$$

$$\text{Omjer hipokolesterolemičkih i hiperkolesterolemičkih masnih kiselina (h/H)} = \frac{C_{18:3n33} ALA + C_{20:4n6}}{C_{14:0} + C_{16:0}} \quad [8]$$

$$\text{Indeks zasićenja (SI)} = \frac{C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}}{MUFA + PUFA} \quad [9]$$

3.2.3.2. Određivanje sastava masnih kiselina plinskom kromatografijom

Aparatura i pribor:

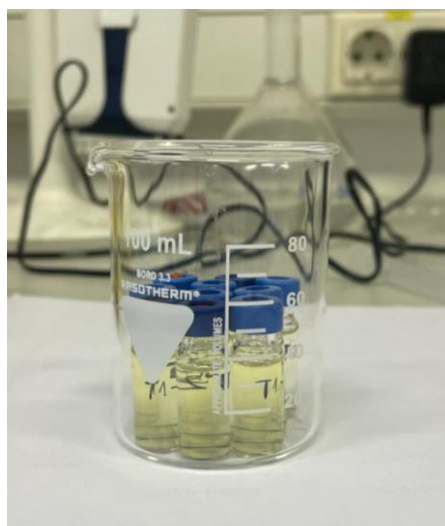
- Plinski kromatograf - Agilent Technologies 6890N Network GC System (Santa Clara, SAD)
- Vortex
- Pipete i epruvete
- Vaga

Princip metode:

Za određivanje sastava masnih kiselina u uzorcima masti plinskom kromatografijom potrebno je prevesti masne kiseline u njihove metilne estere. Metilni esteri pripremljeni su metodom po Bannonu, ISO 5509:2000.

Postupak metode:

Za pripremu metilnih estera odvaže se 60 mg uzorka masti i otopi u 4 mL izooktana u epruveti volumena oko 10 mL sa staklenim čepom. Zatim se u epruvetu doda 200 µL metanolne otopine KOH (c = 2 mol/L) i snažno protrese oko 30 sekundi. Ostavi se na sobnoj temperaturi da reagira. Nakon što se reakcijska smjesa izbistri i odvoji se glicerolni sloj na dnu epruvete, u nju se doda 1 g natrijeva hidrogensulfata monohidrata kako bi se smjesa neutralizirala. Bistra otopina se prebaci u vijalicu (slika 7).



Slika 7. Bistra otopina (vlastita fotografija)

Analiza metilnih estera masnih kiselina provodi se plinskom kromatografijom (slika 8). Metilni esteri masnih kiselina analizirani su metodom ISO 5508:1990. Pripremljen uzorak analizira na plinskom kromatografu Agilent Technologies 6890N Network GC System (Santa Clara, SAD) opremljenom sa plamenoionizacijskim detektorom (FID) koji je preko kanala spojen na računalo. U kompjuterskom sustavu zadani su uvjeti analize koji su postavljeni nakon provedenih preliminarnih ispitivanja po kojima su odabrani optimalni uvjeti (temperatura kolone, detektora, injektora, protok plina i količina injektiranog uzorka). Korištena je kapilarna kolona DB-23 (Agilent) duljine 60 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm te debljine filma 0,25 μm . Kao stacionarna faza koristio se cijanopropil-silikon. Temperaturni program kolone bio je: početna temperatura 60 °C, brzina porasta temperature 7 °C/min do konačne temperature od 220 °C koja je zadržana na 17 min. Plin nosioc bio je helij uz protok od 1,5 mL/min. Temperatura detektora iznosila je 280 °C. Količina injektiranog uzorka iznosila je 1 μL . Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese 37 masnih kiselina (F.A.M.E. C4 - C24, Supelco) poznatog sastava.



Slika 8. Analiza metilnih estera masnih kiselina na plinskom kromatografu (vlastita fotografija)

3.2.4. Određivanje stupnja oksidacije masti TBARS metodom

Aparatura i laboratorijski pribor:

- Ultra-Turrax (IKA- Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Njemačka)
- Tube za centrifugu (oak Ridfe Centrifuge Tube, PPCC, ref. 311 – 0050, Nalge Nunc Internacional)
- Centrifuga (ROTINA 380 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Njemačka)
- Filter papira Whatman (n° 54)
- Pipete

Reagensi:

- TCA 5 %: 5g TCA otopiti u 100 ml destilirane vode
- TBA 0.02 M: 0,57 g u 200 ml destilirane vode
- Otopine standarda TMP 25 μ M: izvagati 0,4088 mg u 100 ml TCA 5 %

Princip metode:

Za određivanje stupnja oksidacije masnih kiselina koristi se metoda s tiobarbiturnom kiselinom (TBA). Metoda se naziva i metodom tiobarbiturne kiseline, a temelji se na spektrofotometrijskom određivanju ružičastog pigmenta nastalog reakcijom tiobarbiturne kiseline (TBA) i malondialdehida (MDA). Po svojem kemijskom sastavu MDA je ketoaldehid i predstavlja sekundarni produkt lipidne oksidacije nezasićenih masnih kiselina.

Postupak rada:

Prije kolorimetrijske reakcije potrebno je provesti ekstrakciju. Odvagano je 5 g uzorka u tubama za centrifugu (oak Ridfe Centrifuge Tube, PPCC, ref. 311 – 0050, Nalge Nunc Internacional). Zatim je dodano 10 mg butiliranog hidroksitoluena (BHT) i 20 mL 5%-tne otopine trikloroetene kiseline (TCA). Smjesa je homogenzirana (Ultra Turrax T25 basic, IKA - Werke i potom stavljena u led par minuta. Nakon toga su tube ekvilibrirane za centrifugu i centrifugirane (Rotina 380 R, Hettich LabTechnology, Tuttlingen, Njemačka) tijekom 10 min na 12000 rpm pri 4 °C. Dobiveni supernatant profiltriran je preko filter papira Whatman (n° 54).

Kolorimetrijska reakcija: U tube za centrifugu od 15 mL dodaje se slijedećim redoslijedom: 4 ml centrifugiranog uzorka /4 ml TCA za slijepu probu/4 ml otopina za kalibracijsku krivulju (TMP), dodati 4 ml TBA 0,02 M u destiliranoj vodi. Ostaviti da reagira 1h na 100 °C te očitati apsorbanciju na 532 nm (A532). Koncentracija nastalog malondialdehida u uzorcima određena je pomoću kalibracijske krivulje.

Račun:

1 mol TMP je ekvivalentan sa 1 mol malonaldehida (MDA)

Preko kalibracijske krivulje izračuna se koncentracija u μM de MDA ekstrakata

Kalibracijska krivulja: $\mu\text{M TMP} = m \text{ Abs}_{532} + b = \mu\text{M MDA}$

$$\frac{\text{mg MDA}}{\text{kg uzorka b.h}} = \mu\text{M MDA} * (PM \text{ MDA}) * 0,0004 \text{ L} = \frac{\mu\text{M MDA}}{\text{g uzorka}} = \frac{\text{mg MDA}}{\text{kg uzorka}} \quad [10]$$

Ne treba korigirati pa slijedi:

$$\frac{\mu\text{M MDA}}{\text{g uzorka}} = \frac{\mu\text{M MDA}}{4 \text{ mL TCA}} * \frac{20 \text{ mL TCA}}{5 \text{ g uzorka}} \quad [11]$$

Tj. $\mu\text{g MDA/kg uzorka} = \mu\text{g MDA} * 0.2888$

3.2.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Aparatura i laboratorijski pribor:

- Spektrofotometar
- Pipete
- Kiveta
- eppendorfice
- Stalak za eppendorfice

Reagensi:

- Metanol
- Otopina 0,02 % DPPH radikala
- BHT
- Etanol
- Destilirana voda

Princip metode:

Ova metoda je jednostavna, brza i široko primjenjivana metoda za mjerenje antioksidativne sposobnosti uklanjanja slobodnih radikala i doniranja vodikovih atoma, te antioksidativne aktivnosti hrane. Osnovni princip metode je da antioksidans donira vodik dušiku koji sadrži jedan nespareni elektron odgovarajućeg hidrazina molekule radikala DPPH• pri čemu on prelazi u svoj neradikalni oblik DPP(H). Zbog delokalizacije elektrona preko cijele molekule ovaj stabilan radikal se ne dimerizira kao ostali slobodni radikali, a delokalizacija uzrokuje ljubičastu boju s apsorbancijom na valnoj duljini od 517 nm u otopini etanola. Tijekom reakcije DPPH radikala sa spojem koji može donirati vodikov atom, nastaje njegova stabilna forma pri čemu dolazi do gubitka ljubičaste, tj. promjene boje.

Postupak rada:

Za pripremu uzorka ispipetira se 200 µl uzorka potom se dodaje 100 µl metanola i 250 µl otopine DPPH radikala u eppendorficama. Za pripremu kontrole ispipetira se 200 µl destilirane vode se dodaje 1000 µl metanola i 250 µl otopine DPPH radikala. Promiješa se i inkubira 30 min na sobnoj temperaturi a tamnom mjestu zbog izrazite nestabilnosti DPPH radikala. Redukcija DPPH radikala mjeri se spektrofotometrijski pri 517 nm. U svom radikalnom obliku, DPPH ima apsorpcijski pojas a 517 m koji nastaje nakon redukcije antiradikalnim spojem. Niža apsorpcija reakcijske smjese pokazala je veću antioksidacijsku aktivnost. Slijepa proba je čista destilirana voda. Test je proveden u tri paralelna mjerenja.

Račun:

Postotak inhibicije DPPH radikala (% inhibicije DPPH') računa se prema izrazu:

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = \frac{\text{apsorbancija kontrole} - \text{apsorbancija uzorka}}{\text{apsorbancija kontrole} \cdot 100} \quad [12]$$

3.2.6. Obrada podataka

Za obradu podataka korišten je računalni program SPSS 12.0 (IBM, USA). Statistički izračun rezultata određen je jednosmjernom analizom varijance (one-way ANOVA test) uz razinu značajnosti 95 % ($p \leq 0,05$).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu ispitivan je utjecaj dodatka tri hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) i njihovih udjela (3 i 5 %) u smjese za hranidbu kokoši nesilica na udjel masti i sastav masnih kiselina i boju žumanjka te oksidaciju masnih kiselina. Uz to, ispitivan je utjecaj ovih dodataka na antioksidacijsku aktivnost, teksturalna svojstva jaja i sastav masnih kiselina u smjesi. Tablica 4 prikazuje sastojke, udio hranjivih tvari i kemijski sastav bazalne smjese. U bazalnu smjesu dodan je jedan od tri hibrida u udjelu od 3 i 5 %. Kokoši nesilice raspoređene su u 7 dijetetskih tretmana: kontrola (bez dodatka bosiljka), hibrid 576 (3 %), hibrid 335 (3 %), Dark Opal (3%), hibrid 576 (5 %), hibrid 335 (5 %) i Dark Opal (5%). Na temelju dobivenih rezultata izračunata je p-vrijednost koja pokazuje postoje li statistički značajne razlike između kontrolne skupine i različitih hibrida bosiljka i njihovih udjela.

Tablica 4. Sastojci i udjeli bazalne mješavine eksperimentalnih smjesa

Sastojak	Sadržaj (g/kg)
Hibrid kukuruza	600
Soja	262
Suncokretovo ulje	30
Kalcijev karbonat	88
Monokalcij - fosfat	12
Natrijev klorid	4
DL metionin	1.5
Vitaminska predsmjesa ¹	1.2
TRT Poultry Pack ²	1.3

¹Vitaminska predsmjesa po kg obroka sadrži: vitamin A 10 000 IU, vitamin D3 2500 IU, vitamin E 200 IU, vitamin K3 3 mg, vitamin B1 1 mg, vitamin B2 45 mg, vitamin B3 30 mg, vitamin B5 10 mg, vitamin B6 3 mg, vitamin B7 50 mg, vitamin B9 0,5 mg, vitamin B12 25 mg, kolin 400 mg, antioksidans (BHA, EQ) 50 mg

²TRT Poultry Pack (Alltech Ireland Ltd., Dunboyne, Ireland po kg obroka sadrži: I 1 mg, Fe 5 mg, Cu 5 mg, Mn 30 mg, Zn 30 mg, Se 0.2 mg.

4.1. REZULTATI ODREĐIVANJA BOJE ŽUMANJKA

Većina potrošača preferira pigmentirane žumanjke sa zlatno-narančastom bojom jer potrošači smatraju da tamnija boja žumanjka korelira s boljom kvalitetom, svježinom i intenzivnijim okusom. Pigmentacija se postiže pomoću karotenoida koji su prisutni u hrani kokoši jer kokoši ne mogu same sintetizirati karotenoide *de novo* (Grashorn, 2016). Samo karotenoidi koji su topljivi u mastima mogu se ugraditi u lipide žumanjka, a boja žumanjka ovisi o količina žutih i crvenih karotenoida te o učinkovitosti taloženja (Hammershøj i Steinfeldt, 2012). U hrani se najčešće koriste lutein, zeaksantin i ksantofil (Réhault-Godbert i sur., 2019). Osim količine i vrste karotenoida u hranidbi, boja žumanjka ovisi i o načinu držanja kokoši. Intenzivnija boja žumanjka dobiva se kad su kokoši držane na otvorenom nego u kavezima jer kokoši koje su na otvorenom mogu slobodno pasti hranu (Dvorak i sur., 2010). Boja žumanjka se najpreciznije može izmjeriti reлектirajućim spektrofotometrom gdje se rezultati izražavaju prema parametrima L^* , a^* i b^* (Grashorn, 2016).

U tablici 5. prikazani su rezultati određivanja boje žumanjka čije su vrijednosti L^* u rasponu od 46,09 – 48,73, vrijednost a^* između 1,47– 3,01 i vrijednost b^* između 25,02 – 28,71. Rezultati pokazuju da dodatkom bosiljka bez obzira na vrstu hibrida i njegova udjela nije došlo do statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u L^* i b^* vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu dok je za a^* vrijednost došlo do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$). Uspoređujući s kontrolnom skupinom došlo je do povećanja a^* vrijednosti kod svih udjela i vrsta hibrida bosiljka, a najveća vrijednost je zabilježena dodatkom 5 % bosiljka hibrid 576, a najmanji porast a^* vrijednosti je kod dodatka 3 % Dark Opal hibrid. Ovakvi rezultati su i očekivani jer kao što je ranije spomenuto boja žumanjka uvelike ovisi o vrsti karotenoida. Bosiljak ima visok udio violaksantina- narančasti karotenoid koji se nalazi u jajima u koncentraciji od 150 mg/100 g i luteina koji čini 72- 83 % karotenoida žumanjka (Hammershøj i Steinfeldt, 2012).

Tablica 5. Utjecaj različitih vrsta hibrida bosiljka (udjela 3 i 5 %) na boju žumanjka

Tretmani	Žumanjak L*	Žumanjak a*	Žumanjak b*
Kontrola	46,13±0,40	1,47±0,17 ^a	23,81±1,05
Bosiljak 3% (hibrid 576)	48,73±0,43	2,49±0,31 ^b	28,71±0,74
Bosiljak 3% (hibrid 335)	46,09±1,14	2,92±0,15 ^b	25,02±1,53
Bosiljak 3% (Dark Opal)	46,41±0,88	2,25±0,15 ^{ab}	26,38±1,04
Bosiljak 5% (hibrid 576)	45,98±0,57	3,01±0,21 ^b	27,76±1,54
Bosiljak 5% (hibrid 335)	48,61±0,60	2,72±0,25 ^b	25,36±1,76
Bosiljak 5% (Dark Opal)	46,73±0,93	2,63±0,24 ^b	26,63±1,01
	<i>0,054</i>	<i>0,001</i>	<i>0,160</i>

*Različita slova a i b u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna greška.

Hammershøj i Steinfeldt (2012) postigli su slične rezultate kao i u ovom istraživanju tako što su hranili kokoši s bosiljkom (15 g/kg i 30 g/kg), timijanom i keljem. Rezultati su pokazali da dodatkom kelja u hrani za kokoši dolazi do značajnog povećanja ($p \leq 0,001$) a* vrijednosti u odnosu na kontrolnu skupinu zbog značajno visokog udjela violaksantina u kelju i njegove visoke učinkovitosti taloženja. Suprotno našim rezultatima, osušeni bosiljak s dodatkom od 15 g/kg i 30 g/kg imao je tendenciju rezultirati većom b* vrijednosti u usporedbi sa kontrolnom skupinom i skupinom koja je imala dodatak timijana. Gul i sur. (2023) su otkrili da suplementacijom kokoši organskim selenom dolazi do smanjenja L* i b* vrijednosti, a do povećanja a* vrijednosti. U skladu s našim rezultatima je i istraživanje koje su proveli Lokaewmanee i sur. (2011) koji su dodavali različite količine luteina (10- 40 mg/kg) što je dovelo do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) a* vrijednosti.

4.2. REZULTATI ODREĐIVANJA TEKSTURALNIH SVOJSTAVA

Tekstura je jedan od glavnih ili važnih čimbenika koji odlučuju o prihvaćanju hrane, definira se kao "svi reološki i strukturni (geometrijski i površinski) atributi prehrambenog proizvoda koji se mogu uočiti pomoću mehaničkih, taktilnih te ako je moguće, vizualnih i slušnih receptora" (Nath i sur., 2023). Parametre koje smo ispitali pomoću teksturometra vidljivi su: adhezivnost (rad potreban za prevladavanje privlačnih sila između proizvoda i određene površine), kohezivnost (koliko dobro proizvod podnosi drugu deformaciju u odnosu na svoju otpornost tijekom prve deformacije), konzistencija, tvrdoća (sila koja je potrebna za sabijanje proizvoda), indeks viskoznosti i rad smicanja.

U tablici 6. prikazan je utjecaj 3 različite vrste hibrida s udjelima od 3 i 5 % na teksturalna svojstva jaja. Hibridi bosiljka nisu pokazali statistički značajnu razliku ($p > 0,05$) za adhezivnost (2,46 - 6,3) i indeks viskoznosti (2,46 – 6,38) dok za ostala svojstva (kohezivnost, konzistencija, tvrdoća i rad smicanja) su pokazali statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$). Kohezivnost je u rasponu od -0,31 do 0,81. Najmanje vrijednosti zabilježene su kod 3 %-tnog udjela za sve tri vrste hibrida, a najveći porast je uočen je kod Dark Opal s udjelom od 5 % koji pokazuje pozitivnu vrijednost u odnosu na sve ostale hibride i njihove udjele. Svojstvo konzistencije je između 6,51 - 28,40. Slično kao i za kohezivnost, konzistencija je pokazala najmanju vrijednost za kontrolnu skupinu, a najveću za Dark Opal s udjelom od 5 %. Tvrdoća je između 1,5 - 4,94, a rad smicanja između 9,03 - 34,80. Kod oba svojstva dosljedno najveće vrijednosti su zabilježene kod 5 % bosiljka Dark Opal, a najmanje kod kontrolne skupine. Do najveće promjene i porasta u kohezivnosti, konzistenciji, tvrdoći i radu smicanja je došlo kod Dark Opal hibrida s udjelom od 5%.

Tablica 6. Utjecaj različitih vrsta hibrida bosiljka (udjela 3 i 5 %) na teksturu

Svojstvo teksture	Kontrola	Bosiljak 3% (hibrid 576)	Bosiljak 3% (hibrid 335)	Bosiljak 3% (Dark Opal)	Bosiljak 5% (hibrid 576)	Bosiljak 5% (hibrid 335)	Bosiljak 5% (Dark Opal)	<i>p-vrijednosti</i>
Adhezivnost (Nmm)	2,46±0,17	2,84±0,48	3,86±0,28	4,22±1,4	3,27±0,23	3,58±0,32	6,38±0,9	0,065
Kohezivnost (N)	-0,31±0,01 ^b	-0,40±0,01 ^b	-0,41±0,05 ^{ab}	0,46±0,14 ^{ab}	-0,36±0,01 ^b	-0,38±0,02 ^b	0,81±0,12 ^a	0,022
Konzistencija (Nmm)	6,51±0,68 ^a	8,14±0,87 ^a	13,23±1,84 ^{ab}	13,11±1,79 ^{ab}	13,03±2,44 ^{ab}	17,27±0,80 ^b	28,40±1,55 ^c	0,000
Tvrdoća (N)	1,5±0,09 ^a	1,74±0,14 ^a	2,37±0,36 ^a	2,53±0,08 ^a	2,4±0,45 ^a	3,03±0,26 ^{ab}	4,94±0,92 ^b	0,011
Indeks viskoznosti (Nmm)	2,46±0,17	2,84±0,48	3,86±0,28	4,22±1,40	3,27±0,23	3,58±0,32	6,38±0,94	0,065
Rad smicanja (Nmm)	9,03±0,56 ^a	11,00±1,31 ^{ab}	17,12±2,13 ^{ab}	17,26±3,07 ^{ab}	16,28±2,64 ^{ab}	20,88±0,51 ^b	34,80±0,65 ^c	0,000

*Različita slova a i b u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost ± standardna greška.

U ovom istraživanju možemo zaključiti da dodatkom hibrida bosiljka dolazi do statistički značajnog povećanja konzistencije, tvrdoće i rada smicanja, dok je dodatkom došlo do smanjenja kohezivnosti. Iznimka je za bosiljak Dark Opal (5 %) gdje je došlo do evidentnog povećanja. Mu i sur. (2019) proveli su analizu teksturalnih svojstva jaja (tvrdoću, elastičnost, kohezivnost, žilavost i adhezivnost) dodatkom sačme od sjemenki pamuka i ulja sjemenki pamuka. Povećanjem koncentracije ulja sjemenki pamuka došlo je do povećanja ($p \leq 0,001$) tvrdoće, elastičnosti, kohezivnosti i žilavosti žumanjka, dok se adhezivnost smanjila. Suplementacija sačme od sjemenki pamuka nije utjecala na svojstva teksture. Osim toga, do promjene u teksturi je došlo i tijekom dva tjedna skladištenja jaja ($p \leq 0,05$) na sobnoj temperaturi i na hladnom. Na sobnoj temperaturi smanjila se tvrdoća i žilavost žumanjka, a skladištenje na hladnom je povećalo elastičnost, kohezivnost, otpornost i žilavost. Nadalje, Wang i sur. (2015) ispitivali učinke vrste proteina (sojina sačma, sjemenke pamuka i sačma uljane repice) u hranidbi kokoši i vremena skladištenja na tvrdoću i elastičnost kuhanog žumanjka. U obrocima su dodani izvori proteina pojedinačno ili u kombinaciji s jednakim sadržajem sirovih proteina. Uočili su da izvor proteina u prehrani značajno utječe na tvrdoću žumanjka pri čemu su žumanjci u skupini koja je kao dodatak prehrani primala proteine sjemenke pamuka pokazala veću tvrdoću žumanjka ($p \leq 0,05$) u usporedbi s drugim skupinama. Također, hranidba s dodatkom sjemenki pamuka je značajno ($p \leq 0,05$) povećala elastičnost kuhanog žumanjka u usporedbi s drugim dijetama osim kod dijeta gdje je bila kombinacija proteina sjemenki pamuka i ulja uljane repice. Gao i sur. (2022) proveli su istraživali u kojem su ispitivali kako dodatak različit ulja utječe na parametre teksture kuhanih žumanjaka. Autori su uočili statistički značajan utjecaj ($p \leq 0,05$) razine dodatka ulja (1,5 ili 3 %) na tvrdoću, gumastost, žvakavost i elastičnost. Dodatak 3 % sojinog ulja, svinjske masti i 1,5 % miješanih ulja značajno je povećalo tvrdoću kuhanih žumanjaka u usporedbi s kontrolnom skupinom ($p \leq 0,05$). Međutim, dodatak 1,5 % sojinog ulja nije utjecalo na tvrdoću žumanjka, ali je značajno povećalo gumastost. Povećanjem koncentracija sojinog ulja na 3 % smanjila se elastičnost žumanjka. Uspoređujući kontrolnu skupinu sa skupinama koje su imale dodatke različitih ulja i koncentracija ulja značajno se smanjila elastičnost žumanjka.

4.3. REZULTATI ODREĐIVANJA UDJELA MASTI I SASTAV MASNIH KISELINA TE INDEKSI MASNIH KISELINA U JAJIMA

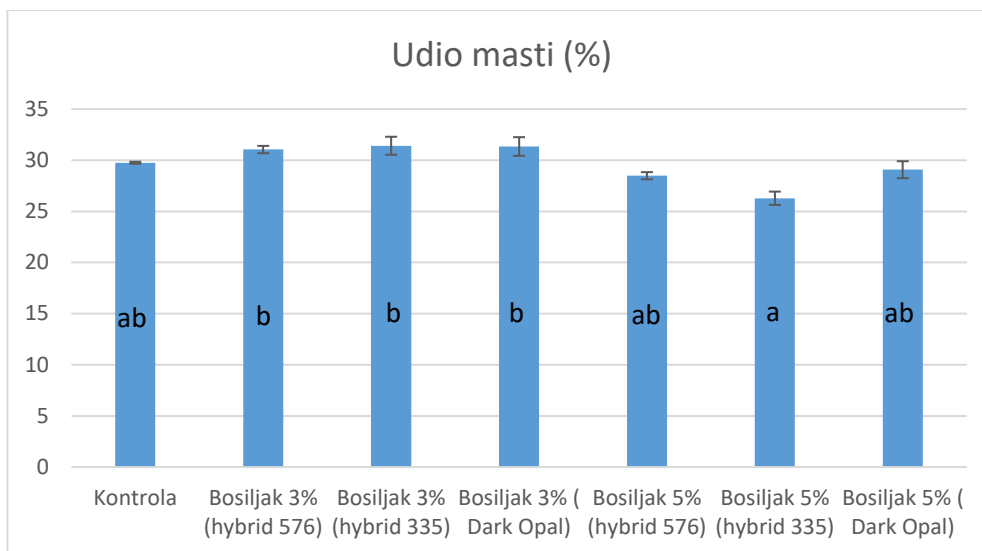
Sva mast u jajima nalazi se u žumanjku i njegov raspon se kreće od 28 – 36 %. Na kemijski sastav jaja mogu utjecati čimbenici kao što su dob, geni kokoši, sustav držanja ili hranidba. Prilično lako se može modificirati sastav masnih kiselina manipulacijom krmiva za kokoši. Konkretno, profil masnih kiselina se može mijenjati. Kako bi se to postiglo, modificira se sastav

zasićenih i nezasićenih masnih kiselina u krmivima. Masne kiseline obuhvaćaju zasićene masne kiselina (SFA), mononezasićene masne kiselina (MUFA) i polinezasićene masne kiselina (PUFA). Prema Faitarone i sur. (2016) kokošja jaja sadrže 33,84 % zasićene masne kiseline, 45,26 % MUFA te 17,63 % n-6 masne kiseline (n-6 PUFA) i 2,34 % n-3 masne kiseline (n-3 PUFA). Sadržaj linolne kiseline (LA) - glavne n-6 polinezasićene masne kiseline u žumanjku jajeta može se povećati. Međutim, budući da se LA unosi u izobilju u zapadnoj ljudskoj prehrani, obogaćivanje jaja ovom masnom kiselinom nema praktične važnosti. Od velikog interesa u peradarskoj industriji su n-3 PUFA kao što su α -linolenska (ALA), eikosapentaenska (EPA) i dokozaheksaenske (DHA) masne kiseline jer imaju značajan biološki učinak na zdravlje. ALA je biološki prekursor dugolančane masne kiseline n-3 PUFA. Pretvorba ALA u EPA i DHA kod ljudi iznosi samo 0,05 - 0,40 % te se stoga mora unijeti hranom. Upravo ova činjenica pobuđuje interes istraživača za što učinkovitije obogaćivanje proizvoda n-3 PUFA, a jaja su pogodan proizvod koji se može obogatiti hranjivim tvarima (Kralik i sur., 2020). Također, obraća se pozornost i oko omjera n-3/n-6 PUFA zbog njihove funkcije u organizmu, ali i nemogućnosti međusobne zamjene. Optimalan omjer n-3/n-6 PUFA je 1 : 3 – 5 jer je sadržaj n-6 PUFA u hrani veći. Neadekvatna prehrana rezultira omjerima 1 : 20 – 30, a tijekom prošlog stoljeća uočava se dramatičan porast unosa n-6 PUFA na račun manjeg unosa n-3 PUFA (Gerzilov i sur., 2015).

Potencijalni zdravstveni doprinos prehrambenih masti može se pokazati procjenom odnosa između pojedinačnih masnih kiselina i njihovih skupina unutar glavne klase nezasićenih masnih kiselina. Analiza nutritivne vrijednosti i nutritivne kvalitete masti jaja izvršena je na temelju sljedećih indeksa masnih kiselina: indeks peroksidabilnosti (PI), indeks aterogenosti (AI), indeks trombogenosti (TI), poželjne masne kiseline (DFA), hiperkolesterolemične zasićene masne kiseline (HFSA), omjer hipokolesterolemičkih i hiperkolesterolemičkih masnih kiselina (h/H) i indeks zasićenja (SI). Razlozi uvođenja dodatnih indeksa u procjeni nutritivne vrijednosti masti rezultat je nedostatak dosadašnjih pokazatelja, a to su najčešće omjeri PUFA/SFA i n-6 / n-3. Naime, dosadašnja procjena pomoću omjera PUFA/SFA temelji se na pretpostavci da sve PUFA smanjuju ukupni i LDL kolesterol, dok sve SFA utječu na njihovom povećanju u serumu, zanemarujući utjecaj MUFA. Istraživanja pokazuju da oleinska masna kiselina (najčešća MUFA u ljudskoj prehrani) povećava aktivnost LDL receptora, a smanjuje kolesterol u serumu, dok različite SFA imaju različite učinke: laurinska, miristinska i palmitinska masna kiselina povećavaju kolesterol inhibirajući LDL receptore, dok maslačna, kapronska, kaprilna i kaprinska masna kiselina brzo se oksidiraju u jetri pa nemaju utjecaj na LDL receptor, a stearinska masna kiselina je biološki neutralna. Također, ni sve PUFA nemaju isti učinak na prevenciju kardiovaskularnih bolesti: n-3 PUFA (DHA i EPA) preveniraju aterosklerotske lezije, dok višak n-6 PUFA (linolna kiselina) ima

suprotan učinak. Ipak, linolna kiselina kao zamjena za SFA može smanjiti LDL kolesterol i prevenirati kardiovaskularne bolesti. Ove spoznaje dovele su do preispitivanja ranijih preporuka o smanjenju unosa SFA i usmjeravanje fokusa na pojedinačne masne kiseline i njihove specifične biološke uloge (Kasapidou i sur., 2022). AI i TI su vitalni parametri za procjenu zdravstvene ispravnosti lipida za ljudsku prehranu te ukazuju na potencijalno pružanje dobrobiti za zdravlje kardiovaskularnog sustava. AI prikazuje odnos između zasićenih masnih kiselina (SFA), koje se smatraju proaterogenima i nezasićenih masnih kiselina (UFA) koje se smatraju antiaterogenima jer inhibiraju stvaranje plaka i snižavaju razine fosfolipida, kolesterola i esterificiranih masnih kiselina. TI se odnosi na trombogeni potencijal masnih kiselina, što ukazuje na njihovu sklonost stvaranju ugrušaka u krvnim žilama. Vrijednosti AI i TI niže od 1 smatraju se korisnima za ljudsko zdravlje (Tadessei sur., 2023). S druge strane, prema izvješću FAO, PI, h/H i DFA trebali bi biti što viši, smatrajući se da imaju ili neutralne učinke ili snižavaju kolesterol. Omjer h/H masnih kiselina opisuje odnos između masnih kiselina s hipokolesterolemijskim učinkom i onih s hiperkolesterolemijskim učinkom, tako da su visoke vrijednosti za ovaj omjer poželjne. DFA predstavlja zbroj antiaterogenih masnih kiselina (UFA + C18:0) koje snižavaju kolesterol i trigliceride u plazmi (Attia i sur., 2015).

Na Slici 9 prikazan je udio masti u žumanjku jaja dodatkom različitih hibrida bosiljka s različitim udjelima u krmiva za kokoši nesilice. Raspon udjela masti je od 26,28 do 31,41 %. U usporedbi s kontrolnom skupinom, vidljivo je da udio bosiljka u hrani za kokoši statistički značajno ($p \leq 0,05$) utječe na udio masti u jajima. Dodatkom bilo kojeg hibrida bosiljka pri udjelu od 3 % došlo je do povećanja udjela masti u jajima i to najviše kod hibrid 335 s udjelom 31,41 %, dok povećavanjem udjela hibrida bosiljka na 5 % je dovelo do smanjenja udjela masti i to najviše kod hibrid 335 te je udio masti pao na 26,28 %.



*Različita slova a i b predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

Slika 9. Grafički prikaz utjecaja različitih hibrida bosiljka (udjela 3 i 5 %) na udio masti (%) u žumanjku jaja

Suprotno našim rezultatima su rezultati Lordelo i sur. (2016) koji su proveli eksperiment u kojem su u hranidbu kokoši nesilica dodavali kikiriki, soju i lanene sjemenke kako bi ispitali utječe li njihov dodatak na sastav masti i kolesterol. Rezultati su pokazali da nije došlo do statističke značajne razlike u sadržaju masti i kolesterola. Iste rezultate dobili su Cheiran i Quezada (2016) samo su kao dodatak hranidbi kokoši nesilica dodavali 10 % punomasnu kamilu i sjemenke lana čiji dodatak nije značajno utjecao ($p > 0,05$) na ukupni sadržaj masti u jajima, a njihov raspon je bio 32,86 – 33,30 %. Radwan i sur. (2008) ispitali utjecaj različitih biljka na ukupni sadržaj ukupnih masti u žumanjku jajeta te su ustanovili da kokoši nesilice hranjene 1 % timijanom, ružmarinom ili kurkumom dovodi do statistički značajnog smanjenja ukupnog količine masti u jajima, dok dodavanje manjih koncentracija (0,5 %) timijana, ružmarina i kurkume smanjuje ukupnu količinu masti, ali ona nije statistički značajna. Dodavanje origana u bilo kojoj koncentraciji (0,5 i 1 %) dovelo je također do smanjenja ukupne količine masti u žumanjku, ali ono nije bilo statistički značajno.

Manipulacija hranidbom kokoši nesilica dodavanjem različitih hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) pri različitim udjelima (3 i 5 %) rezultiralo je značajnim promjenama u sastavu masnih kiselina. Profil masnih kiselina prikazan je u tablici 7 i tablici 8. Dodatno u tablici 7. prikazani su indeksi kvalitete masti. Dodatak bosiljka u hranidbu kokoši nije utjecao ($p \leq 0,05$) na ukupni sadržaj zasićenih masnih kiselina (SFA), n-6 PUFA i omjer MUFA/PUFA, dok je, s druge strane, dodatak bosiljka utjecao ($p \leq 0,05$) na ukupni sadržaj MUFA, PUFA, n-3 PUFA te omjere n-6/n-3 PUFA, PUFA/SFA i MUFA/PUFA.

Zasićene masne kiseline (SFA) predstavljene su kao zbroj svih prisutnih zasićenih masnih kiselina, a to su: maslačne (C4:0), miristinska (C14:0), palmitinska (C16:0), heptadekanska (C17:0) i stearinska (C18:0). Nešto veći sadržaj ukupnih SFA je bio dodatkom 5 % bosiljka hibrid 576, dok ostali hibridi bosiljka dodatkom 3 i 5 % su pokazali smanjenje sadržaja SFA, ali razlike nisu bile statistički značajne. Raspon SFA se kreće između 34,23 - 35,28 %.

MUFA predstavljaju zbroj prisutnih mononezasićenih kiselina, a to su palmitolenska (C16:1), oleinska (C18:1c) i eikosenoična (C20:1) i nervonična (C24:1) masna kiselina. Varijacije između hibrida nisu uočene, ali povećavanjem udjela bosiljka pokazao je trend smanjenja ($p \leq 0,05$) ukupnog sadržaja MUFA. Najveće smanjenje zabilježeno je kod dodatka bosiljka u udjelu od 5 %. Kod bosiljka s udjelom od 5%, smanjenje ukupnog udjela MUFA izraženo je kod hibrid 576 (42,34 %), zatim hibrid 335 (41,45 %) te Dark Opal (41,57 %) u odnosu na kontrolnu skupinu (43,92 %).

PUFA su prikazane kao zbroj svih prisutnih pojedinačnih polinezasićenih masnih kiselina među kojima su linolna (C18:2 cis), dokosadienoična (C20:2), α -linolenska (C18:3n3) i n-6 PUFA koje čine γ -linolenska (C18:3n6), eikozatrienska (C20:3n6) i arahidonska (C20:4n6) masna kiselina. Ukupni sadržaj PUFA statistički značajno ($p=0,000$) se povećao dodatkom bosiljka, no nije kod sva tri hibrida bosiljka došlo do povećanja sadržaja PUFA povećanjem udjela bosiljka. Kod hibrid 576 povećavanjem njegovog udjela s 3 % na 5 % došlo je do vrlo malog smanjenja ukupnog sadržaja PUFA, a ostali dva hibrida (hibrid 335 i Dark Opal) su povećavanjem udjela povećali sadržaj PUFA 24,33 % i 23,98 %.

Ukupni sadržaj n-6 PUFA pokazao je udio od 2,57 % u kontrolnoj skupini koji je dodatkom hibrida 335 (3 %) i Dark Opal (5 %) pao na 2,39 %, no ovaj pad nije bio statistički značajan.

Ukupni sadržaj n-3 PUFA, tj. α -linolenska statistički značajno se povećao ($p=0,000$) dodatkom bosiljka. U kontrolnoj skupini zabilježen je nizak udio n-3 PUFA od 0,16% koji se blago povećao dodatkom bosiljka udjela 3 % i to je hibrid 576 povećao sadržaj n-3 PUFA na 0,22 %, hibrid 335 na 0,24% i Dark Opal na 0,21 %. Značajnije povećanje uočeno je povećanjem udjela bosiljka (5 %) posebice kod hibrid 335 (0,33 %). Ovi rezultati upućuju da veća koncentracija bosiljka značajno povećava sadržaj n-3 PUFA što može imati pozitivan utjecaj na zdravlje ljudi pa je povećanje njihovog sadržaja u jajima izrazito korisno.

Omjer MUFA/SFA kretao se 1,25 - 1,2 % što ukazuje da dodatak bosiljka u različitim koncentracijama nije značajno promijenio omjer MUFA i SFA. Međutim, omjer PUFA/SFA dodatkom bosiljka s različitim koncentracijama pokazao je statistički značajno ($p=0,000$) povećanje, a omjer MUFA/PUFA je pokazao statistički značajno ($p=0,000$) smanjenje dodatkom bosiljka. Kvaliteta masti često se procjenjuje na temelju omjera PUFA/SFA, koji bi trebao imati vrijednost iznad 0,45 za prevenciju kardiovaskularnih bolesti i drugih kroničnih bolesti (Mierlita i sur., 2023). Hibridi bosiljka 3 i 5 % udjela pokazuju slične vrijednosti MUFA/SFA, bez značajnih razlika među hibridima. Najviši omjer MUFA/SFA zabilježen je pri udjelu

od 5 %, posebice kod hibrid 335 (0,71 %) i Dark Opal (0,70 %). Hibrid 335 pri koncentraciji 5 % pokazuje najveće smanjenje omjera MUFA/PUFA čija vrijednost iznosi 1,70 %, a najmanje smanjenje uočeno je kod 3 % Dark Opal (2,07 %).

Indeksi kvalitete masti jaja kokoši koje su hranjene bosiljkom predstavljani su u tablici 7 te prema rezultatima u tablicama dodatak bosiljka statistički značajno ($p \leq 0,05$) povećava PI i TI. Dodatak bosiljka u krmiva za kokoši, posebno pri većim udjelima, generalno dovodi do povećanja PI i TI. Krmiva za kokoši s 3 % bosiljka uzrokuju statistički značajno povećanje PI kod hibrid 576 (30,50 %) i hibrid 335 (30,22 %), međutim kod Dark Opal (29,07) dolazi do statistički značajnog smanjenja u odnosu na kontrolnu skupinu (29,25 %). U skupinama s dodatkom 5 % bosiljka, PI pokazuje statistički značajno povećanje, što je najizraženije kod hibrid 335 (32,29 %) i Dark Opal (31,79 %). Slične vrijednosti PI dobili su Vlaicu i sur. (2021) gdje su vrijednosti PI u jajima kokoši koje su hranjene s 9 % sjemenki uljane repice i 3% sjemenki grožđa iznosile 30,91 %, a kod skupine kokoši koja je hranjena s 9 % sjemenki lana i 3 % krkavine iznosile su 44,92 %, čije su vrijednosti veće od onih iz kontrolne skupine (27,37 %). Ti rezultati ukazuje na veću zdravstvenu vrijednost dobivenih jaja. TI (0,88 – 1,12 %) dodavanjem bosiljka, naročito u udjelu od 5 %, prelazi preporučenu granicu jer su mu vrijednosti veće od 1. Kod hibrid 576 TI povećan je na 1 %, hibrid 335 na 1,04 % te kod Dark Opal minimalno povećan na 0,99 %. Kod bosiljka pri udjelu od 5 % hibrid 576 povećao je TI na 1,05 %, hibrid 335 na 1,12 % i Dark Opal na 1,09 %. Stoga, dodatkom bosiljka dolazi do povećanja TI što ukazuje na pad nutritivne kvalitete žumanjka. S druge strane, nije došlo do statistički značajne ($p > 0,05$) razlike u AI (0,53 - 0,55 %) te navedeni indeks zadovoljava preporučeni raspon koji mora biti manji od 1 za zdravlje kardiovaskularnog sustava (Tadessei sur., 2023). Slične vrijednosti TI i AI dobili su Tadesse i sur. (2023) u jajima kod kojih su kokoši nesilice hranjene lanenim sjemenkama (75 g) i biljnim polifenolnim ekstraktima. Iako nije bilo statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u TI i AI između kontrolne skupine i skupine koja je primala biljne ekstrakte, hranjenje kokoši biljnim ekstraktima smanjilo je TI i AI. Vlaicu i sur. (2021) izvijestili su da AI nije bio značajno promijenjen, dok je TI bio značajno ($p = 0,0007$) različiti među skupinama kokoši hranjene s 9 % sjemenki uljane repice i 3% sjemenki grožđa i skupinama kokoši koja je hranjena s 9 % sjemenki lana i 3 % krkavine . Očekivano, PI bio je značajno ($p \leq 0,0001$) viši u skupinama koje su imale dodatke bazalnoj prehrani naspram kontrolne skupine. Vrijednosti indeksa masti (DFA, HFSA, h/H i SI) u ovom istraživanju pokazuju da se nisu statistički značajno ($p > 0,05$) razlikovali među skupinama. Rasponi njihovih vrijednosti su: DFA 73,41 – 74,45 %, HFSA 25,01 – 26,01% , h/ H 0,09 – 0,10 % i SI 0,52 – 0,54 %. Za navedene indekse poželjno je da imaju što veće vrijednost radi pozitivnog učinka na zdravlje. Statistički značajne vrijednosti ($p \leq 0,0001$) h/H indeksa zdravlja dobiveni nsu u istraživanju Vlaicu i sur. (2021) gdje je skupini s dodatkom 9 % sjemenki uljane repice i 3% sjemenki grožđa u krmiva zabilježen udio od 1,18 %, a skupini s dodatkom 9 % sjemenki

lana i 3 % krkavine zabilježen udio od 0,94 % dok je kontrolna skupina imala 0,81 %. Povećanje h/H indeksa predstavlja povoljan učinak na ljudsko zdravlje jer što je omjer veći to je masnoća adekvatnija za ljudsku prehranu.

Tablica 7. Utjecaj različitih vrsta hibrida bosiljka (udjela 3 i 5 %) na udio SFA, MUFA, PUFA i njihovih omjera te indeksi masnih kiselina u jajima

	Kontrola	Bosiljak 3% (hibrid 576)	Bosiljak 3% (hibrid 335)	Bosiljak 3% (Dark Opal)	Bosiljak 5% (hibrid 576)	Bosiljak 5% (hibrid 335)	Bosiljak 5% (Dark Opal)	SEM***	<i>p</i> - vrijednosti
SFA	35,16	34,68	35,11	35,07	35,28	34,23	34,45	0,15	0,17
MUFA	43,92 ^b	42,68 ^{ab}	42,52 ^{ab}	43,76 ^b	42,34 ^{ab}	41,45 ^a	41,57 ^a	0,36	0,01
PUFA	20,92 ^a	22,64 ^{abc}	22,37 ^{ab}	21,17 ^a	22,39 ^{ab}	24,33 ^c	23,98 ^{bc}	0,48	0,00
n6	2,57	2,42	2,39	2,41	2,52	2,43	2,39	0,03	0,10
n3	0,16 ^a	0,22 ^{bc}	0,24 ^c	0,21 ^b	0,24 ^c	0,33 ^e	0,28 ^d	0,02	0,00
n6/n3	15,96 ^d	11,08 ^c	10,03 ^{bc}	11,48 ^c	10,34 ^c	7,45 ^a	8,52 ^{ab}	1,03	0,00
MUFA/SFA	1,25	1,23	1,21	1,25	1,20	1,21	1,21	0,01	0,42
PUFA/SFA	0,59 ^a	0,65 ^{ab}	0,64 ^{ab}	0,60 ^a	0,63 ^{ab}	0,71 ^c	0,70 ^{bc}	0,02	0,00
MUFA/PUFA	2,10 ^b	1,89 ^{ab}	1,90 ^{ab}	2,07 ^b	1,89 ^{ab}	1,70 ^a	1,74 ^a	0,06	0,00
PI	29,25 ^a	30,50 ^{ab}	30,22 ^{ab}	29,07 ^a	30,52 ^{ab}	32,29 ^b	31,79 ^b	0,45	0,00
AI	0,55	0,54	0,55	0,55	0,56	0,53	0,54	0,00	0,22
TI	0,88 ^a	1,00 ^{bc}	1,04 ^{bcd}	0,99 ^b	1,05 ^{cd}	1,12 ^e	1,09 ^{de}	0,03	0,00
DFA	73,59	74,32	73,41	74,17	73,83	74,45	73,94	0,14	0,18
HFSA	25,99	25,14	25,97	25,55	26,01	25,37	25,88	0,13	0,21
h/H	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,09	0,00	0,95
SI	0,54	0,52	0,53	0,54	0,54	0,52	0,52	0,00	0,21

*Različita slova a-e u istom redu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$)

***SEM označava standardnu pogrešku srednje vrijednosti

Hammershøj i Steinfeldt (2012) određivali su sastav masnih kiselina pod utjecajem dodatka sušenog bosiljka (15 i 30 g/kg), sušenog timijana (15 g/kg) i listovi svježeg kelja (1000 g/kg) te se ukupan sadržaj SFA i MUFA nije se statistički značajno ($p > 0,05$) promijenio u odnosu na kontrolnu skupinu. Ukupan sadržaj PUFA se statistički značajno promijenio ($p \leq 0,05$) i do najvećeg povećanja je došlo u skupini koja je bila hranjena keljem. Slične rezultate kao i u ovom istraživanju dobili su Vlaicu i sur. (2021) koji su proveli studiju u kojoj su, između ostalog, procjenjivali kvalitetu jaja i sastav masnih kiselina u žumanjku. Svakodnevno su kokoši hranili sa standardnom hranidbom (kontrola), hranidbom koja je sadržavala 9 % sjemenke uljane repice s 3 % sjemenki grožđa i hranidbom koja je sadržavala 9 % sjemenke lana s 3% krkavine. Rezultati su pokazali da je došlo je do statistički značajne razlike u ukupnom sadržaju MUFA, PUFA, n-3 PUFA, n-3 PUFA i omjer n-6 / n-3 PUFA, a nije statistički značajno utjecalo na ukupni sadržaj SFA. Oba tretmana smanjili su ukupan sadržaj SFA i MUFA, dok je skupina koja je hranjena s 9 % sjemenke uljane repice s 3 % sjemenki grožđa povećala ukupan sadržaj PUFA i n-6 PUFA, a skupina koja je hranjena 9 % sjemenke lana s 3% krkavine je smanjila. Jaja kokoši koje su hranjene s krmivom koje sadrži 9 % sjemenke lana s 3% krkavine rezultiralo je povećanjem ukupnog sadržaja n-3 PUFA i smanjenje n-6 PUFA. Dakle, hranidba bogata n-3 PUFA (9 % sjemenke lana s 3% krkavine) smanjuje n-6 PUFA žumanjka, što predstavlja povoljan učinak za potrošače (niži omjer n-6/n-3 PUFA). Nutricionisti preporučuju hranu s niskim omjerom n-6 / n-3 PUFA za smanjenje rizika od hipertenzije, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa i raka kod ljudi.

U tablici 8. nalaze se rezultati udjela pojedinačnih masnih kiselina u jajima. U uzorcima ovog istraživanja najzastupljenije masne kiseline su: oleinska (68,64 – 41,05 %), palmitinska (24,85 – 25,70 %), linolna (17,99 – 21,32 %) i stearinska (8,4 – 9,24 %).

Dodatak hibrida bosiljka pri različitim udjelima (3 i 5 %) statistički značajno ($p \leq 0,05$) je utjecao na sadržaj maslačne (C4:0), heptadekanske (C17:0), oleinske (C18:1cis), linolne (C18:2 cis), γ -linolenske (C18:3n6), α -linolenske (C18:3n3 ALA), cis-11-eikozenske (C20:1), dokosadienoične (C20:2) i nervonične (C24:1) masne kiseline, dok na sadržaj miristinske (C14:0), palmitinske (C16:0), palmitolenske (C16:1), stearinske (C18:0), eikozatrienske (C20:3n6) i arahidonske (C20:4n6) masne kiseline nije statistički značajno ($p > 0,05$) utjecao. Ding i sur. (2017) nisu primijetili značajan utjecaj na sastav masnih kiselina u žumanjku sa ili bez dodatka Enviva eteričnog ulja (komercijalnog proizvoda koji sadrži timol 13,5% i cinamaldehyd 4,5% kao aktivne komponente).

Maslačna masna kiselina (C4:0) detektirana je u kontrolnoj skupini i u skupini koja je primala bosiljak u udjelu od 3 % te je njezin raspon bio 0,12 – 0,48 %, dok povećanjem udjela hibrida bosiljka na 5% navedena masna kiselina nije detektirana.

Udio miristinske masne kiseline (C14:0) iznosio je 0,29 – 0,33 %, udio palmitinske masne kiseline (C16:0) kretao se 24,85 – 25,70 %, a udio palmitolenske masne kiseline (C16:1) bio je 2,1 – 2,49 %. Hammershøj i Steinfeldt (2012) su izvijestili da dodavanjem bosiljka, timijana i kelja nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$) za udio miristinske, palmitinske masne kiseline, što je sukladno s rezultatima ovog istraživanja, dok je udio palmitoleinske masne kiseline pokazao statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$) dok su rezultati našeg istraživanja pokazali da se udio palmitoleinske masne kiseline nije statistički značajno promijenio ($p > 0,05$). Udio miristinske masne kiseline i koncentracija bosiljka su obrnuto proporcionalni, tj. povećavanjem koncentracije bosiljka dolazi do smanjenja udjela miristinske kiseline, dok u ovom istraživanju nije bilo statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u udjelu miristinske kiseline. Dodatkom 15 g/kg bosiljka i kelja dovelo je do povećanja palmitinske i palmitoleinske masne kiseline, a dodatak 30 g/kg bosiljka i timijana doveli su do smanjenja (Hammershøj i Steinfeldt, 2012). Međutim, dodavanjem različitih vrsta ulja i masti u prehrani kokoši može dovesti do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u udjelu miristinske, palmitinske i palmitoleinske masne kiseline i to na način da dodatak masti od 1,5 % i 3 % dovelo je do povećanja udjela miristinske, dok je dodatak sojinog ulja i miješana ulja (1,5 i 3 %) dovelo do smanjenja udjela. Udjeli palmitinske i palmitoleinske masne kiseline su se smanjili dodatkom različitih vrsta ulja i koncentracija masti (Gao i sur., 2022). Dobiveni rezultati su oprečni s našim rezultatima jer je dodatkom različitih hibrida bosiljka (3 i 5 %) nije bilo statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u udjelima navedenih masnih kiselina.

Udio heptadekanske (C17:0) masne kiseline kretao se između 0,14 – 0,18 %. Dodatkom različitih hibrida bosiljka s udjelom 3 i 5 % dovelo je do povećanja udjela heptadekanske masne kiseline. Iznimka je hibrid 335 s udjelom od 3 % koji nije doveo do promjene udjela C17:0. Dodatak hibrid 576 (3 %), hibrid 335 (5 %) i Dark Opal (5 %) doveli su do najvećeg povećanja udjela koji je iznosio 0,18 %. Iste rezultate dobili su Gao i sur. (2022) u svom ispitivanju gdje su dodatkom različitih koncentracija (1,5 i 3 %) sojinog ulja, svinjske masti i miješanih ulja dobili povećanje heptadekanske masne kiseline. Najveće povećanje došlo je dodatkom 3 % sojinog ulja.

Raspon od 8,4 do 9,24 % bio je stearinske (C18:0) masne kiseline. Hibrid 335 i hibrid 576 povećanjem njihovog udjela s 3 % na 5 % doveli su i do povećanja udjela C18:0, dok hibrid Dark Opal je povećanjem udjela doveo do smanjenja udjela. Hibrid Dark Opal možemo poistovjetiti s rezultatima istraživanja Hammershøj i Steinfeldt (2012) koji su povećanjem koncentracije bosiljka s 15 g/ kg na 30 g/kg također dobili smanjenje udjela koje kao i u našem istraživanju nije bilo statistički značajno. Također, dodatak sjemenki kamile i lana nije dovelo do statističke značajne razlike u udjelu stearinske kiseline (Cherian i Quezada, 2016).

Udio oleinske (C18:1cis) masne kiseline kretao se 38,64 - 41,05 %. Dodatkom različitih hibrida bosiljka s udjelom 3 i 5 % dovelo je do statistički značajnog ($p \leq 0,05$) smanjenja udjela

oleinske kiseline, s iznimkom hibrid Dark opal (3 %) koji je doveo do malog povećanja. Najveće smanjenje uočeno je se pri povećanim udjelom (5 %) ističući se hibrid 335 i Dark Opal s udjelima 38,70 %, odnosno 38,64 %. Omid i sur. (2015). također su dobili statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u udjelu oleinske kiseline kad su kao dodatak krmivu koristili ulje kanole, maslinovo i riblje ulje koje je dovelo do povećanja udjela, dok su sojino ulje i ulje sjemenki grožđa doveli do smanjenja udjela oleinske masne kiseline.

Suprotno rezultatima stearinske masne kiseline su rezultati linolne (C18:2 cis) masne kiseline (17,99 – 21,32 %) čiji se udio povećao dodatkom hibrida bosiljka u krmivu za kokoši i to najviše kod hibrida 335 i Dark Opal pri koncentraciji od 5%, a najmanje povećanje uočeno je kod Dark Opal pri koncentraciji od 3%. Udio linolne masne kiseline također je moguće povećati dodatkom ulja sjemenki grožđa, sojinim uljem i uljem kanole (Omid i sur., 2015).

Udio γ -linolenska (C18:3n6) masne kiseline tijekom dodatka hibrid 576 pokazao je povećanje koje je pri udjelu od 3 % iznosio 0,15 %, a povećanjem udjela hibrida na 5 % dodatno se povećao na 0,17 %. Hibridi hibrid 335 i Dark Opal (3 %) dodatkom su doveli do smanjenja udjela na 0,12 i 0,13 %, a isti ti hibridi pri većim koncentracijama nisu doveli do promjene udjela. Gao i sur. (2022) otkrili su da je dodavanje različitih količina sojinog ulja značajno povećalo sadržaj (C18:2 cis, C18:3n6 i C20:3n6) te smanjilo ukupni sadržaj zasićenih masnih kiselina u žumanjku jajeta u odnosu na kontrolnu skupinu.

Udio α -linolenska (C18:3n3 ALA) masne kiseline (0,18 – 0,33 %) pokazuje povećanje dodatkom različitih hibrida bosiljka u krmivu za kokoši u usporedbi s kontrolnom skupinom. Primijećeno je da viša koncentracija bosiljka (5 %) generalno rezultira većim povećanjem sadržaja ALA masne kiseline u usporedbi s nižom koncentracijom (3 %). Hibrid 335 pokazao je najveće povećanje sadržaja ALA masne kiseline u oba koncentracijska nivoa što implicira da ovaj hibrid ima najveći potencijal za povećanje sadržaja ALA masne kiseline. Suprotno tome su rezultati Hammershøj i Steinfeldt (2012) koji pokazuju da dodatak različitog krmnog materijala nije dovelo do statistički značajnog povećanja C18:3n3.

Kod udjela cis-11-eikozenska (C20:1) masne kiseline (0,17 – 0,23 %) primijećeno je da niža koncentracija bosiljka (3%) rezultira povećanjem sadržaja cis-11-eikozenske masne kiseline. Nasuprot tome, viša koncentracija bosiljka (5%) kod nekih hibrida (Hibrid 576 i Dark Opal) dovodi do smanjenja sadržaja ove masne kiseline. Kao i kod ALA masne kiseline, hibrid 335 pokazao je najveće povećanje udjela.

Udio dokosadienoična (C20:2) masne kiseline 0,19 – 0,25 % u oba nivoa udjela bosiljka (3 i 5%) rezultira značajnim povećanjem udjela C20:2 u usporedbi s kontrolnom skupinom. Najveće povećanje u oba udjela bosiljka dovelo je dodatkom hibrid 335 te je udio dokosadienoične masne kiseline iznosio 0,25 %, a najmanje povećanje uočeno je kod hibrida 576 pri udjelu 5 % te je udio dokosadienoične masne kiseline iznosio 0,20 %.

Udio eikozatrienske (C20:3n6) masne kiseline (0,18 – 0,20 %) i udio arahidonske

(C20:4n6) masne kiseline (2,25 – 2,05 %) ukazuju da dodatak bosiljka nije značajno utjecao na sadržaj ovih dviju masnih kiselina. Suprotno tome, udio arahidonske masne kiseline statistički značajno ($p \leq 0,05$) se mijenja dodatkom sušenog bosiljka, kelja i timijana. Do povećanja udjela došlo je pri koncentraciji bosiljka od 30 g/kg i dodatkom kelja u prehrani kokoši (Hammershøj i Steinfeldt, 2012).

Udio nervonične (C24:1) masna kiselina koji je u kontrolnoj skupini iznosio 0,31 % primijećeno je da su svi tretmani s dodatkom bosiljka pokazali statistički značajno ($p \leq 0,05$) povećanje udjela nervoične kiseline. Bosiljak s koncentracijom 5 % ima izraženije povećanje od 0,37 % (hibrid 335) i 0,38 % (hibrid 576) što ukazuje da viša koncentracija bosiljka ima pozitivan utjecaj na udio nervoične masne kiseline.

Tablica 8. Utjecaj različitih hibrida bosiljka (udio 3 i 5 %) na sastav pojedinačnih masnih kiselina u jajima

Masne kiseline	Kontrola	Bosiljak 3% (hibrid 576)	Bosiljak 3% (hibrid 335)	Bosiljak 3% (Dark Opal)	Bosiljak 5% (hibrid 576)	Bosiljak 5% (hibrid 335)	Bosiljak 5% (Dark Opal)	SEM***	p-vrijednost
C4:0	0,28 ^{bc}	0,36 ^c	0,48 ^c	0,12 ^{ab}	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,07	0,000
C14:0	0,33	0,29	0,33	0,31	0,31	0,31	0,31	0,00	0,070
C16:0	25,66	24,85	25,64	25,23	25,70	25,06	25,57	0,13	0,223
C16:1	2,41	2,1	2,49	2,19	2,25	2,17	2,4	0,05	0,630
C17:0	0,14 ^a	0,18 ^b	0,14 ^a	0,17 ^{ab}	0,16 ^{ab}	0,18 ^b	0,18 ^b	0,01	0,002
C18:0	8,76	9	8,52	9,24	9,10	8,67	8,4	0,12	0,050
C18:1 cis	41,02 ^b	40,04 ^{ab}	39,46 ^{ab}	41,05 ^b	39,53 ^{ab}	38,70 ^a	38,64 ^a	0,37	0,001
C18:2 cis	17,99 ^a	19,79 ^{bcd}	19,49 ^{abc}	18,33 ^{ab}	19,42 ^{abc}	21,32 ^d	21,07 ^{cd}	0,47	0,000
C18:3n6	0,14 ^{abc}	0,15 ^{bc}	0,12 ^a	0,13 ^{ab}	0,17 ^c	0,14 ^{abc}	0,14 ^{abc}	0,01	0,001
C18:3n3 ALA	0,16 ^a	0,22 ^{bc}	0,24 ^c	0,21 ^b	0,24 ^c	0,33 ^e	0,28 ^d	0,02	0,000
C20:1	0,18 ^{ab}	0,20 ^{bcd}	0,23 ^d	0,20 ^{abcd}	0,17 ^a	0,21 ^{cd}	0,19 ^{abc}	0,01	0,001
C20:2	0,19 ^a	0,21 ^{ab}	0,25 ^c	0,21 ^{ab}	0,20 ^{ab}	0,25 ^c	0,24 ^{bc}	0,01	0,000
C20:3n6	0,18	0,19	0,19	0,19	0,20	0,21	0,19	0,00	0,450
C20:4n6	2,25	2,08	2,08	2,09	2,15	2,08	2,05	0,03	0,050
C24:1	0,31 ^a	0,33 ^{ab}	0,35 ^{ab}	0,32 ^{ab}	0,38 ^b	0,37 ^{ab}	0,33 ^{ab}	0,01	0,022

*Različita slova a-d u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$)

***SEM označava standardnu pogrešku srednje vrijednosti

4.4. REZULTATI ODREĐIVANJA SASATAVA MASNIH KISELINA U SMJESI

U hranidbi peradi dijetetske biljke kao dodaci stočnoj hrani uspješno su korištene kao alternativa antibioticima, sredstvima za promicanje zdravlja i kvalitete prehrambenih proizvoda. Bioaktivne komponente biljaka imaju visoku aktivnost hvatanja slobodnih radikala, što može pridonijeti endogenom oksidativnom statusu životinja i posljedično, spriječiti oksidaciju što dovodi do poboljšane kvalitete mesa i proizvoda. Štoviše, profil masnih kiselina u tim biljkama također može poboljšati kvalitetu mesa i njihovih proizvoda. Bosiljak (*Ocimum basilicum* L.) je aromatična biljna vrsta iz obitelji Lamiaceae (pored majčine dušice (*Thyous vulgaris* L.) i kadulje (*Salvia officinalis*)) koje se koriste zbog antimikrobnih, antiseptičkih, antioksidativnih, antivirusnih, protuupalnih i antibakterijskih svojstva. Mješavine su antioksidansa i fenolnih spojeva pa je njihov dodatak hranidbi životinja vrlo zanimljiv alat za dobivanje proizvoda s poboljšanim funkcionalnim svojstvima. Vlaicu i sur. (2022) ispitivali su kemijski sastav bosiljka u osušenom obliku. Analiza bosiljka pokazala je da bosiljak sadrži 22,53 % proteina i 1,51 % masti. Osim toga, bosiljak je bogat i mineralnim tvarima. Sadržaj bakra iznosi 27,69 mg/kg, dok sadržaj željeza doseže 624,51 mg/kg. Mangan je prisutan u količini 78,46 mg/g, a cink u količini od 54,63 mg/kg. Ovi podaci ukazuju na visok nutritivni potencijal bosiljka što ga čini vrlo vrijednim dodatkom prehrani. Antioksidacijski kapacitet bosiljka iznosio je 42,66 mM trolox, a ukupni sadržaj polifenola iznosio je 21,53 mg GAE/g. Također su analizirali sastav masnih kiselina u bosiljku. Ukupna količina SFA iznosila je 40,52 g na 100 g bosiljka. MUFA su bile prisutne u količini od 21,99 g na 100 g bosiljka, n-3 PUFA iznosile su 18,66 g/ 100 g, dok je količina n-6 PUFA bila 17,91 g/ 100 g. Ukupna količina PUFA bila je 36,57 g/ 100 g.

U hranidbi kokoši nesilica korištenje biljaka kao dodaci krmivu uspješno se koriste u peradarskoj industriji. S obzirom da i profil masnih kiselina u biljkama također može poboljšati kvalitetu proizvoda, tj. jaja stoga se u ovom istraživanju analizirao sastav masnih kiselina u smjesi kojom su hranjene kokoši nesilice. Njihov sastav prikazan je u tablici 9 i 10. U tablici 9 izdvojene su SFA, MUFA, PUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA te njihovi omjeri. Rezultati pokazuju da dodatak bosiljka u smjesu ima različite učinke na sastav masnih kiselina ovisno o tipu hibrida i njihovom udjelu u smjesi. Dodavanje bosiljka u smjesu nije statistički značajno utjecao ($p > 0,05$) na sastav SFA, MUFA te posljedično ni na omjere MUFA/SFA, PUFA/SFA i MUFA/PUFA, dok je statistički značajno utjecao na PUFA pa tako i na n-3 i n-6 PUFA te njihov omjer. Udio SFA u ovom istraživanju iznosio je 13,44 – 14,03 %, a udio MUFA kretao se između 30,10 i 30,38 %. S druge strane, dodatkom bosiljka u smjesu došlo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u udjelu PUFA čije vrijednosti su varirale između 55,95 i 56,27 %.

Uočeno je da se dodatkom 5 % hibrida 335 i Dark Opal smanjuje udio PUFA u usporedbi s kontrolnom skupinom, a suprotno tome, najviša vrijednost zabilježena je dodatkom 5 % hibrida 576. Smanjenje udjela bosiljka na 3 % rezultira sličnim vrijednostima PUFA kod sva tri hibrida. Ovi rezultati sugeriraju da izbor hibrida i njegove količine koja će se dodati u krmiva može utjecati na nutritivni profil smjese. Hibrid 576 pokazao se kao potencijal za povećanje udjela PUFA. Dodavanje bosiljka u smjesi povećava udio n-6 PUFA u smjesi u odnosu na kontrolnu skupinu. Pri koncentraciji bosiljka od 3 % najveće povećanje uočeno je kod Dark Opal (55,04 %) i hibrida 335 (55,01 %), a pri koncentraciji bosiljka od 5 % najveće povećanje uočeno je kod hibrida 576 (55,20 %) što je ujedno i najveće povećanje među svim ispitivanim smjesama. Najmanje povećanje pokazuju 3 % hibrid 576 (54,79 %) i 5 % hibrid 335 (54,87 %) i Dark Opal (54,50 %) uspoređujući s kontrolnom skupinom. Dodavanje bosiljaka u smjesu smanjuje udio n-3 PUFA samih smjesa u usporedbi s kontrolnom skupinom. Uspoređujući kontrolnu skupinu (2,23 %) s 3 % udjela bosiljka, najveće smanjenje zabilježeno je kod Dark Opal, a uspoređujući s 5 % udjela bosiljka, hibrid 576 dovodi do najvećeg smanjenja udjela na 1,07 %. Zbog povećanja udjela n-6 PUFA i smanjenja udjela n-3 PUFA u smjesi doveo je do povećanja njihova omjera. Najveći omjeri n-6 PUFA/ n-3 PUFA zabilježeni su pri dodatku 5 % bosiljka, posebice hibrid 576 (51,35 %) i hibrid 335 (50,47 %), a Dark Opal s istim udjelom pokazuje najmanji omjer (39,90 %). Ostali omjeri MUFA/SFA (2,15 – 2,26 %), PUFA/SFA (3,98 - 4,18 %) i MUFA/PUFA (0,54 %) nisu pokazali statistički značajnu razliku ($p > 0,05$).

Sastav masnih kiselina u smjesi pokazuje određene promjene koje se u manjoj ili većoj mjeri prenose na sastav masnih kiselina u jajima. Općenito, dodatak različitih hibrida i udjela bosiljka u smjesu nije statistički značajno utjecao na udio SFA u samoj smjesi, a ni u jajima. MUFA u smjesi zadržava uski raspon, dok su u jajima izražene veće varijacije što može upućivati na složene metaboličke procese koji utječu na taloženje MUFA u jajima. Nadalje, povećanje udjela PUFA i promjene u omjerima n6/n3 u smjesi reflektiraju se na povećanje PUFA i smanjenje n6/n3 u jajima što sugerira da postoji određeni stupanj apsorpcije PUFA iz smjese u jajima. Udio n-6 u smjesi se dodatkom bosiljka statistički značajno povećao, a udio n-3 statistički značajno smanjio, dok je u jajima uočen sasvim drugačiji trend - udio n-6 se smanjio iako to smanjenje nije statistički značajno, a udio n-3 u jajima se statistički značajno povećao. Ovo ukazuje na potencijal bosiljka kao funkcionalnog dodatka koji može poboljšati sastav masnih kiselina u jajima, osobito n-3 masnih kiselina te ima utjecaj na udio PUFA i omjer n-6/n3.

Tablica 9. Utjecaj različitih vrsta hibrida bosiljka (udio 3 i 5 %) na udio SFA, MUFA, PUFA i njihovih omjera te indeksi masnih kiselina u smjesi

tretmani	Kontrola	Bosiljak 3% (hibrid 576)	Bosiljak 3% (hibrid 335)	Bosiljak 3% (Dark Opal)	Bosiljak 5% (hibrid 576)	Bosiljak 5% (hibrid 335)	Bosiljak 5% (Dark Opal)	SEM***	p-vrijednost
SFA	13,87	13,49	13,44	13,52	13,61	13,87	14,03	0,09	0,065
MUFA	30,18	30,37	30,38	30,33	30,12	30,18	30,10	0,05	0,095
PUFA	55,95 ^a	56,14 ^{ab}	56,17 ^{ab}	56,15 ^{ab}	56,27 ^b	55,95 ^a	55,87 ^a	0,06	0,011
n6	53,72 ^a	54,79 ^{bc}	55,01 ^{cd}	55,04 ^{cd}	55,20 ^d	54,87 ^c	54,50 ^b	0,19	0,000
n3	2,23 ^d	1,35 ^c	1,17 ^b	1,11 ^a	1,07 ^a	1,09 ^a	1,37 ^c	0,16	0,000
n6/n3	24,04 ^a	40,52 ^b	47,12 ^c	49,73 ^d	51,35 ^e	50,47 ^d	39,90 ^b	3,66	0,000
MUFA/SFA	2,18	2,25	2,26	2,24	2,21	2,18	2,15	0,02	0,082
PUFA/SFA	4,04	4,16	4,18	4,15	4,14	4,03	3,98	0,03	0,054
MUFA/PUFA	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54	0,00	0,492

*Različita slova a-e u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$)

***SEM označava standardnu pogrešku srednje vrijednosti

U tablici 10 nalazi se sastav pojedinačnih masnih kiselina u smjesi. Dodavanje bosiljka u smjesu dovelo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u sastavu C14:0, C16:1, C18:3n6 i C18:3n3 ALA masnih kiselina, dok kod ostalih masnih kiselina (C4:0, C16:0, C18:0, C18:1 cis, C20:0, C20:1, C22:0, C23:0 i C24:0) nije bilo statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Uključivanje PUFA u prehrani može imati preventivnu ulogu kod kardiovaskularnih bolesti. U tom kontekstu, dodatak bosiljka značajno je poboljšao profile masnih kiselina u jajima kokoši zbog povećanja sadržaja ukupnih PUFA koje promiču zdravlje. Najveće povećanje γ -linolenske masne kiseline zabilježen je kod hibrid 576 pri udjelu 5 % i u uzorcima smjese i jajima. Budući da je dodatkom bosiljka u smjesi došlo do značajnog smanjenja α -linolenske masne kiseline, a značajnog povećanje sadržaja α -linolenske masne kiseline u jajima kokoši koje su hranjene tom istom smjesom, ova konstatacija može se pripisati sadržaju antioksidansa i drugih bioaktivnih komponenata koje se nalaze u bosiljku, a koje mogu utjecati na metabolizam masnih kiselina. Naime, kada kokoši konzumiraju smjesu s dodatkom bosiljka, njihov organizam ima sposobnost bolje iskoristiti dostupne n-3 masne kiseline uslijed čega dolazi do povećanja njihove koncentracije u jajima. Također, dodatak bosiljka može poboljšati metabolizam masti, što rezultira boljim iskorištavanjem n-3 masnih kiselina i njihovom akumulacijom u jajima (Vlaicu i sur, 2022). U ovom eksperimentu došlo je do značajnog smanjenja omjera n-6 /n-3 u jajima što ukazuje na povoljan učinak bosiljka na kvalitetu jaja.

Za većinu masnih kiselina (C16:1, C18:0, C18:1cis, C20:1) postoji visok stupanj dosljednosti između udjela u smjesi i jajima, dok kod ostalih masnih kiselina (C14:0, C16:0, C18:3n6, C18:3n3 ALA) postoje razlike u trendovima promjene udjela. U smjesi udio C14:0 i C18:3n6 se statistički značajno povećava u odnosu na kontrolnu skupinu dok u jajima C14:0 i C18:3n6 masna kiselina pokazuje oscilacije, kod pojedinih hibrida i udjela dolazi do njihova smanjenja u odnosu na kontrolnu skupinu. Masna kiselina C18:3n3 ALA u smjesi pokazuje statistički značajno smanjenje, a u jajima statistički značajno povećanje u odnosu na kontrolnu skupinu.

Tablica 10. Utjecaj različitih hibrida bosiljka (udio 3 i 5 %) na sastav pojedinačnih masnih kiselina u smjesi

TRETMANI	Kontrola	Bosiljak 3% (hibrid 576)	Bosiljak 3% (hibrid 335)	Bosiljak 3% (Dark Opal)	Bosiljak 5% (hibrid 576)	Bosiljak 5% (hibrid 335)	Bosiljak 5% (Dark Opal)	SEM***	<i>p vrijednost</i>
C4:0	0,24	0,21	0,23	0,22	0,25	0,26	0,26	0,01	0,230
C14:0	0,07 ^a	0,09 ^b	0,07 ^a	0,08 ^{ab}	0,11 ^c	0,09 ^b	0,09 ^b	0,00	0,001
C16:0	9,52	9,07	8,93	8,99	9,02	9,19	9,31	0,08	0,120
C16:1	0,12 ^{ab}	0,12 ^a	0,12 ^a	0,12 ^a	0,13 ^{ab}	0,13 ^b	0,13 ^{ab}	0,00	0,024
C18:0	3,11	3,10	3,13	3,10	3,10	3,10	3,12	0,00	0,949
C18:1 cis	29,88	30,07	30,08	30,03	29,82	29,87	29,80	0,05	0,088
C18:3n6	53,72 ^a	54,79 ^{bc}	55,01 ^{cd}	55,04 ^{cd}	55,20 ^d	54,87 ^c	54,5 ^b	0,19	0,000
C18:3n3 ALA	2,23 ^d	1,35 ^c	1,17 ^b	1,11 ^a	1,07 ^a	1,09 ^a	1,37 ^c	0,16	0,000
C20:0	0,18	0,20	0,23	0,20	0,17	0,21	0,19	0,00	0,176
C20:1	0,19	0,21	0,25	0,21	0,20	0,25	0,24	0,00	0,520
C22:0	0,18	0,19	0,19	0,19	0,20	0,21	0,19	0,01	0,180
C23:0	2,25	2,08	2,08	2,09	2,15	2,08	2,05	0,03	0,207
C24:0	0,31	0,33	0,35	0,32	0,38	0,37	0,33	0,01	0,424

*Različita slova a-d u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$)

***SEM označava standardnu pogrešku srednje vrijednosti

4.5. OKSIDACIJA MASTI

Oksidacija se može dogoditi u trigliceridima i fosfolipidima jer se lipidi dijele u dvije glavne skupine: polarni lipidi (fosfolipidi) i neutralni lipidi (trigliceridi). Oksidacija uključuje niz molekularnih mehanizama kao što je stvaranje reaktivnih prekursora kisika i slobodnih radikala. Oksidacija lipida utječe na mnoge interakcije među sastojcima hrane što onda dovodi do pogoršanja hranjivosti, okusa, teksture, izgleda, smanjenje njezine kvalitete, skraćenje rok trajanja te na taj način uzrokuje velike ekonomske gubitke. Oksidativna stabilnost lipida ovisi o mnogim intrinzičnim i ekstrinzičnim čimbenicima, uključujući sastav masnih kiselina, masnih acilnih lanaca, vrste lipida, sastojke u tragovima i uvjetima okoliša, itd. (Wang i sur., 2017). Lipidi žumanjka jajeta podložniji su oksidaciji zbog relativno visoke koncentracije PUFA.

U tablici 8. prikazani su rezultati utjecaja različitih hibrida bosiljka s koncentracijama 3 i 5 % na oksidaciju lipida. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da dodatak različitih hibrida bosiljka nema statistički značajan ($p > 0,05$) utjecaj na oksidaciju lipida. MDA Vrijednosti kretale su se 0,09 – 0,13 ug/g žumanjka.

Tablica 11. Utjecaj dodatka hibrida bosiljka (udio 3 i 5 %) na stupanj oksidacije masti u žumanjku jaja

Tretmani	ug MDA/g yolk
Kontrola	0,13±0,03
Bosiljak 3% (hibrid 576)	0,10±0,02
Bosiljak 3% (hibrid 335)	0,12±0,02
Bosiljak 3% (Dark Opal)	0,13±0,02
Bosiljak 5% (hibrid 576)	0,10±0,01
Bosiljak 5% (hibrid 335)	0,09±0,02
Bosiljak 5% (Dark Opal)	0,11±0,02
	0,638

*Različita slova a i b u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna greška.

Razine oksidativnih indikatora, kao što su MDA također su proučavali Kralik i sur. (2021) te je utvrđen statistički značajan ($p \leq 0,01$) utjecaj tretmana hranidbe, interakcije tretmana i vremena skladištenja (svježih i uskladištenih jaja) na vrijednost oksidacije lipida u žumanjcima. Istraživanjem su pokazali da je skladištenje jaja 28 dana u hladnjaku na 4°C dovelo do pada izvorne kvalitete jaja, dok su se vrijednosti TBARS za žumanjke povećale. Florou-Paneri i sur. (2005) izvijestili su da je stupanj oksidacije lipida, kao što je izmjereno stvaranjem malondialdehida (MDA), značajno smanjeno kada je eterično ulje origana dodano u hranu za kokoši s koncentracijama od 50 i 100 mg/kg. Jaworska i sur. (2021) ustanovili su da sušeno

bilje ima jače antioksidativno djelovanje od dodataka u uljnom obliku. Razina lipidne oksidacijske transformacije značajno se povećala s 21 vremenom skladištenja, a vrijednosti MDA bile su najveće u kontrolnim uzorcima u usporedbi s ostalim uzorcima. Kokoši nesilice hranjene ekstraktom đumbira imale su niži sadržaj MDA u žumanjku nakon četiri i osam, što sugerira da je ekstrakt đumbira bio učinkovit u poboljšanju antioksidativnog statusa jaja (Wen i sur., 2019). Proučavajući rezultate našeg istraživanja uočeno je kako nije postojao statistički značajan utjecaj u stupnju oksidacije masti kada su jaja bila svježija. S obzirom da se potencijal za oksidaciju masti može povećati tijekom vremena, moguće je da bi se očitovalo i u rezultatima ovog istraživanja kada bi pratili oksidaciju masti kasnije tijekom roka skladištenja jaja.

4.6. ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA

Kako bi se izbjegli neželjeni učinci oksidacije masti, normalan način je povećati unutarnju koncentraciju antioksidansa unošenjem prirodnih antioksidansa u prehrani. Biljke i biljni materijali bogati su bioaktivnim spojevima (npr. prirodnim antioksidansima) s potencijalnim korisnim učincima na zdravlje. Začinsko bilje i začini stoljećima se koriste za pripremu jela kako bi mnogim jelima dali ukusan okus i miris ili produžili rok trajanja prehrambenih proizvoda. Kemijska priroda prirodnih antioksidansa ima prednost jer su prihvatljiviji potrošačima zbog toga što se smatraju manje opasnim za zdravlje (Jaworska i sur., 2021). Dodavanje prirodnih izvora antioksidanasa u krmiva za kokoši pokazalo se vrlo uspješnim u poboljšanju antioksidativnog profila u peradarskim proizvodima i istovremenom odgađanju oksidacije lipida koja može nastati zbog visokog sadržaja masti u jajetu. Razvijeno je nekoliko metoda za procjenu ukupne antioksidacijske aktivnosti poput: ukupni antioksidativni kapacitet (TAC), kapacitet apsorpcije kisikovih radikala (ORAC), hvatanje slobodnih radikala ABTS radikalom, metoda fosfomolibdena te metoda hvatanja slobodnih radikala DPPH radikalom koja je korištena u ovom istraživanju u svrhu procjene antioksidacijske aktivnosti jaja.

U ovom istraživanju analizirao se utjecaj udjela bosiljka (3 i 5 %) i različitih hibrida bosiljka (hibrid 576, hibrid 335 i Dark Opal) na sposobnost neutralizacije slobodnih radikala (% DPPH) kod jaja. Rezultati su prikazani u tablici 12 kao srednje vrijednosti sa standardnom pogreškom. Dodavanje različitih hibrida bosiljka u različitim udjelima dovelo je do statistički značajne razlike ($p \leq 0,05$) u % redukcije DPPH i sposobnost bosiljka da neutralizira slobodne radikale u jajima. Dodavanje bosiljka s udjelom od 3 % povećava %redukcije DPPH kod hibrid 576 ($8,93 \pm 0,16$) i hibrid 335 ($9,68 \pm 1,65$), a kod Dark Opal smanjuje ($7,65 \pm 1,70$). Povećanjem koncentracije svih hibrida bosiljka dolazi do smanjenja %redukcije DPPH, s najvećim smanjenjem kod hibrid 576 ($2,99 \pm 1,04$) što ukazuje na negativan utjecaj prekomjernog dodavanja bosiljka na

antioksidativnu aktivnost. Hibrid 335 pri 3 % koncentraciji pokazuje najveće povećanje % redukcije DPPH što može biti korisno za poboljšanje antioksidativne aktivnosti jaja.

Tablica 12. Antioksidativni učinak dodatka različitih vrsta hibrida bosiljka (udio 3 i 5 %) u hranidbu kokoši nesilica

Tretmani	%DPPH 30 min
Kontrola	8,15±0,53 ^{ab}
Bosiljak 3% (hibrid 576)	8,93±0,16 ^b
Bosiljak 3% (hibrid 335)	9,68±1,65 ^b
Bosiljak 3% (Dark Opal)	7,65±1,70 ^{ab}
Bosiljak 5% (hibrid 576)	2,99±1,04 ^a
Bosiljak 5% (hibrid 335)	6,64±1,30 ^{ab}
Bosiljak 5% (Dark Opal)	4,95±0,50 ^{ab}
	0,011

*Različita slova a i b u istom stupcu predstavljaju statistički značajnu razliku ($p \leq 0,05$).

**Podebljane vrijednosti su statistički značajne ($p \leq 0,05$). Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna greška.

Botsoglou i sur. (2005a) proveli su studiju u kojoj su ispitali učinke hranjenja kokoši s ružmarinom, organom i šafranom na izvedbu i kvalitetu jaja tj. antioksidacijsku aktivnost te su pokazali da šafran ima veću antioksidacijsku aktivnost od ružmarina i origana, dok je α -tokoferol pokazao najveću antioksidacijsku aktivnost. S obzirom da su jaja iz skupine koja je imala dodatke u hranidbi pokazali povećanu otpornost na oksidaciju lipida u usporedbi s kontrolom, Botsoglou i sur. (2005a) zaključili su da su sastojci iz navedenih biljaka prešli iz hrane u žumanjak i tako jajima pružili povećana antioksidativna svojstva. Rezultati istraživanja Soliman i Kamael (2020) čije vrijednosti smanjenja DPPH (59,52 – 62,31 %) nisu odgovarale na tretmane (crni kumin, tijamin, cimet, đubir i nar) i bile su približno jednake s kontrolnom skupinom.

5. ZAKLJUČCI

1. Dodatkom bosiljka došlo je do utjecaja na boju žumanjka gdje se a^* vrijednost statistički značajno ($p \leq 0,05$) povećala i to najviše kod hibrid 576 pri udjelu 5 %. Nasuprot tome, L^* i b^* vrijednosti se nisu statistički značajno ($p > 0,05$) promijenile.

2. Od teksturalnih svojstava, dodatak različitih hibrida bosiljaka i njihovih udjela imalo je statistički značajnog ($p \leq 0,05$) utjecaja na gotovo sva ispitivana svojstva (kohezivnost, konzistenciju, tvrdoću i rad smicanja), osim na adhezivnost i indeks viskoznosti. Posebno se ističe Dark Opal pri udjelu 5 % koji ima najveće vrijednosti za sve navedene parametre.

3. Dodatak različitih hibrida bosiljka i udjela statistički značajno utječe na udio masti u žumanjku jajeta tako što uzorci tretirani manjim udjelom bosiljka (3 %) pokazuje povećanje udjela masti u žumanjku jajeta, dok je povećanje udjela (5 %) bosiljka utjecao na smanjenje udjela masti u žumanjku jajeta u usporedbi s kontrolnom skupinom.

4. Dodatak bosiljka u krmiva ima različite učinke ovisno o udjelima i tipu hibrida na profil masnih kiselina u jajima. Dovelu je do statistički značajne razlike u udjelima MUFA, PUFA i n-3 te omjerima n6/n3, PUFA/SFA i MUFA/PUFA, dok kod SFA, n-6 i omjera MUFA/SFA nisu zabilježene statistički značajne razlike. Dodavanjem hibrida bosiljka pri različitim udjelima došlo je do povećanja sadržaja PUFA, n-3 i omjera PUFA/SFA, te do smanjenja sadržaja MUFA te omjera n6/n3 i MUFA/SFA. Ovi učinci su najizraženiji u udjelima od 5 % i to kod hibrida 335.

5. Dodavanje bosiljka, posebice u udjelu od 5 % dovelo je do povećanja PUFA kao što su C18:2 cis i C18:3n3 ALA. Uočeno je smanjenje SFA (C4:0) i MUFA (C18:1 cis). Hibrid 335 s udjelom 5 % najviše je doprinio povećanju udjela C18:2 cis, a hibrid 576 bio je najučinkovitiji u povećanju C18:3n3 ALA.

6. Dodatak različitog udjela i različitog hibrida bosiljka nije statički značajno ($p > 0,05$) utjecalo na oksidaciju masti u žumanjku jajeta.

7. Dodavanje bosiljka u udjelima 3 i 5 % statistički značajno utječe na antioksidativna svojstva jaja. Dodatkom bosiljka s udjelom od 3 % povećava se % DPPH tj. antioksidativna sposobnost jaja dok se povećanjem udjela bosiljka na 5 % dolazi do smanjenja antioksidativne sposobnosti jaja.

6. LITERATURA

Abad P, Arroyo-Manzanares N, Ariza JJ, Baños A, García-Campaña AM (2021) Effect of *Allium* extract supplementation on egg quality, productivity, and intestinal microbiota of laying hens. *Animals*. **11**, 41. <https://doi.org/10.3390/ani11010041>

Alagawany M, Abd El-Hack ME (2015) The effect of rosemary herb as a dietary supplement on performance, egg quality, serum biochemical parameters, and oxidative status in laying hens. *J Anim Feed Sci* **24**(4), 341-347. <https://doi.org/10.22358/jafs/65617/2015>

Attia YA, Al-Harathi MA, Korish MA, Shiboob MM (2015) Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. *Lipids Health Dis* **14**(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0133-z>

Beynen AC (2004) Fatty acid composition of eggs produced by hens fed diets containing groundnut, soya bean or linseed. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, **52**(1), 3-10. [https://doi.org/10.1016/S1573-5214\(04\)80026-5](https://doi.org/10.1016/S1573-5214(04)80026-5)

Biđin M (2010) Jaja domaće peradi – visokovrijedna namirnica u prehrani ljudi. *Meso* **12**(6), 356 – 359.

Botsoglou N, Florou-Paneri P, Botsoglou E, Dotas V, Giannenas I, Koidis A, Mitrakos P (2005a) The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and α -tocopheryl acetate on hen performance and oxidative stability of eggs. *S Afr J Anim Sci* **35** (3), 143-151. <https://doi.org/10.4314/sajas.v35i3.4053>

Botsoglou NA, Florou-Paneri P, Nikolakakis I, Giannenas I, Dotas V, Botsoglou EN i sur. (2005b) Effect of dietary saffron (*Crocus sativus* L.) on the oxidative stability of egg yolk. *Br Poult Sci* **46**(6), 701-707. <https://doi.org/10.1080/00071660500392092>

Bozkurt M, Hippenstiel F, Abdel-Wareth AA, Kehraus S, Küçükyılmaz K, Südekum KH (2014) Effects of selected herbs and essential oils on performance, egg quality and some metabolic activities in laying hens – a review. *Eur Poult Sci* **78**, 127-131. <https://doi.org/10.1399/eps.2014.49>

Bozkurt M, Selek N, Küçükyılmaz K, Eren H, Güven E, Çatli A U, Çınar M (2012) Effects of

dietary supplementation with a herbal extract on the performance of broilers infected with a mixture *Eimeria* species. *Br Poult Sci* **53**(3), 325-332. <https://doi.org/10.1080/00071668.2012.699673>

Ceylan N, Ciftci I, Mizrak C, Kahraman Z, Efil H (2011) Influence of different dietary oil sources on performance and fatty acid profile of egg yolk in laying hens. *J Anim Feed Sci* **20**(1), 71-83. <https://doi:10.22358/jafs/66159/2011>

Cherian G, Quezada N (2016) Egg quality, fatty acid composition and immunoglobulin Y content in eggs from laying hens fed full fat camelina or flax seed. *J Animal Sci Biotechnol* **7**, 15. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0075-y>

Ding X, Yu Y, Su Z, Zhang K (2017) Effects of essential oils on performance, egg quality, nutrient digestibility and yolk fatty acid profile in laying hens. *Anim Nutr* **3**(2), 127-131. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.03.005>

Dotas V, Gourdouvelis D, Symeon G, Hatzizisis L, Mitsopoulos I Galamatis D i sur. (2023) Fatty Acid Profile and Oxidative Stability of Layers' Egg Yolk as Affected by Dietary Supplementation with Fresh Purslane and Addition of Aromatic Plant Essential Oils to Drinking Water. *Sustainability* **15** (15), 1-18. <https://doi.org/10.3390/su151511539>

Dvořák P, Suchý P, Straková E, Doležalová J (2010) Variation in Egg Yolk Colour in Different Systems of Rearing Laying Hens. *Acta Vet Brno* **79**(9), S13–S19. <https://doi.org/10.2754/avb201079S9S013>

Faitarone ABG, Garcia EA, Roça RO, Andrade EN, Vercese F, Pelícia K (2016) Yolk color and lipid oxidation of the eggs of commercial white layers fed diets supplemented with vegetable oils. *Braz J Poult Sci* **18**(1), 9-15. <https://doi.org/10.1590/1516-635x1801009-016>

Florou-Paneri P, Nikolakakis I, Giannenas I, Koidis A, Botsoglou E, Dotas V, Mitsopoulos I (2005) Hen performance and egg quality as affected by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. *Int J Poult Sci* **4**, 449-454. <https://doi.org/10.3923/ijps.2005.449.454>

Gao Z, Duan Z, Zhang J, Zheng J, Li F, Xu G (2022) Effects of Oil Types and Fat Concentrations on Production Performance, Egg Quality, and Antioxidant Capacity of Laying Hens. *Animals* **12**(3), 1-24. <https://doi.org/10.3390/ani12030315>

Gao Z, Zhang J, Li F, Zheng J, Xu G (2021) Effect of Oils in Feed on the Production Performance and Egg Quality of Laying Hens. *Animals* **11**(12), 3482. <https://doi.org/10.3390/ani11123482>

Gerzilov V, Nikolov A, Petrov P, Bozakova B, Penchev G, Bochukov A (2015) Effect of a Dietary Herbal Mixture Supplement on the Growth Performance, Egg Production and Health Status in Chickens. *J Cent Eur Agric* **16**(2), 10-27. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/16.2.1580>

Ghasemi R, Zarei M, Toriki M (2010) Adding Medicinal Herbs Including Garlic (*Allium sativum*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) to Diet of Laying Hens and Evaluating Productive Performance and Egg Quality Characteristics. *Am J Anim Vet Sci* **5**(2), 151-154. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2010.151.154>

Grashorn M (2016) Feed Additives for Influencing Chicken Meat and Egg Yolk Color. In Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. *Industrial Applications for Improving Food Color* **295**, 283 – 302. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100371-8.00014-2>

Gül E, Olgun O, Yildiz A (2023) Effect of Enrichment of Laying Quail Diets with Organic Selenium on Performance and Fresh and Stored Egg Quality. *J Hellenic Vet Med Soc.* **74**(3), 5945-5952. <https://doi.org/10.12681/jhvms.30512>

Gultepe EE, Iqbal A, Uyarlar C, Rahman A, Ozcinar U, Cetingul IS i sur. (2021). Dietary Oregano (*Origanum onites*) Maintained the Antioxidant Capacity and Haugh Unit, but not Yolk Color of Stored Eggs up to 30 Days. *Acta Vet Eurasia* **47**(2), 76–81. <https://doi.org/10.5152/actavet.2021.20038>

Hamilton RMG, Bryden WL (2021) Relationship between egg shell breakage and laying hen housing systems – an overview. *J World's Poult Sci* **77**(2), 249-266. <https://doi.org/10.1080/00439339.2021.1878480>

Hammershøj M i Steinfeldt S (2012) The effects of kale (*Brassica oleracea* ssp. *acephala*),

basil (*Ocimum basilicum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) as forage material in organic egg production on egg quality. *Br Poult Sci* **53**(2), 245-256. <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2012.681770>

Huang Z, Leibovitz H, Lee CM, Millar R (1990) Effect of dietary fish oil on .n.-3 fatty acid levels in chicken eggs and thigh flesh. *J Agri Food Chem* **38**(3), 743–747. <https://doi.org/10.1021/jf00093a034>

Jaworska D, Rosiak E, Kostyra E, Jaszczyk K, Wroniszewska M, Przybylski W (2021) Effect of Herbal Addition on the Microbiological, Oxidative Stability and Sensory Quality of Minced Poultry Meat. *Foods* **10**(7), 1537. <https://doi.org/10.3390/foods1007153>

Johnson AM, Anderson G, Arguelles-Ramos M, Ali AAB (2022) Effect of dietary essential oil of oregano on performance parameters, gastrointestinal traits, blood lipid profile, and antioxidant capacity of laying hens during the pullet phase. *Front Anim Sci* **3**. <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.1072712>

Kasapidou E, Karatzia MA, Mitlianga P, Basdagianni Z (2022) Effects of Production Systems and Seasons on Retail-Goat-Milk Fatty-Acid Composition and Nutritional Indices in Greece. *Animals* **12**(17), 2204. <https://doi.org/10.3390/ani12172204>

Kedir S, Tamiru M, Tadesse D A, Takele I, Mulugeta M, Miresa A, Wamatu J, Alkhtibu A, Burton E (2023) Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaf meal supplementation on production performance and egg quality of laying hens. *Heliyon* **9** (8), e19124. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19124>

Khan SH, Hasan S, Sardar R, Anjum MA (2008) Effects of dietary garlic powder on cholesterol concentration in Native Desi laying hens. *Am J Food Tech* **3**, 207-213. <http://www.doaj.org/doaj?func=abstract&id=428504>

Kirubakaran A, Narahari D, Ezhil Valavan T, Sathish Kumar A (2011) Effects of flaxseed, sardines, pearl millet, and holy basil leaves on production traits of layers and fatty acid composition of egg yolks. *Poult Sci*, **90**(1), 147-156. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00152>

Kralik G, Kralik Z, Grčević M, Galović O, Hanžek D, Biazik E (2021) Fatty acid profile of eggs produced by laying hens fed diets containing different shares of fish oil. *Poult Sci* **100**(10). <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101379>

Kralik G, Kralik Z, Hanžek D (2020) The effect of vegetable oils and the fish oil on the fatty acid profile in egg yolks. *Poljoprivreda* **26**(2), 79 – 87. <https://doi.org/10.18047/poljo.26.2.10>

Krause E i Ternes W (2000) Bioavailability of the antioxidative Rosmarinus officinalis compound carnosic acid in eggs. *Eur Food Res Technol* **3**, 161-164. <https://doi.org/10.1007/PL00005505>

Li-Chan ECY, Kim HO (2008.) Structure and Chemical Compositions of Eggs. Egg bioscience and biotechnology. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. p. 1–97

Lokaewmanee K, Yamauchi K, Komori T and Saito K (2011) Enhancement of Yolk Color in Raw and Boiled Egg Yolk with Lutein from Marigold Flower Meal and Marigold Flower Extract. *J Poult Sci* **48**(1), 25–32. <https://doi.org/10.2141/jpsa.010059>

Lordelo M, Fernandes E, Bessa RJB, Alves SP (2016) Quality of eggs from different laying hen production systems from indigenous breeds and specialty eggs. *Poult Sci* **96**, 1485-1491. <https://doi.org/10.3382/ps/pew409>

Marelli SP, Madeddu M, Mangiagalli M G, Cerolini S, Zaniboni L (2021) Egg Production Systems, Open Space Allowance and Their Effects on Physical Parameters and Fatty Acid Profile in Commercial Eggs. *Animals* **11** (2), 265. <https://doi.org/10.3390/ani11020265>

Mierlita D, Mierlita S, Struti DI, Mintas OS (2023) Effects of Hemp Seed on the Production, Fatty Acid Profile, and Antioxidant Capacity of Milk from Goats Fed Hay or a Mixed Shrubs–Grass Rangeland. *Animals* **13**, 3435. <https://doi.org/10.3390/ani13223435>

Mu Y, Zhu LY, Yang A, Gao X, Zhang N, Sun L, Qi D (2019) The effects of dietary cottonseed meal and oil supplementation on laying performance and egg quality of laying hens. *Food Sci Nutr* **7**(7), 2436-2447. <https://doi:10.1002/fsn3.1112>

Nath KG, Pandiselvam R, Sunil CK (2023) High-pressure processing: Effect on textural properties of food- A review. *J Food Eng* **351**. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111521>

Omidi M, Rahimi S, Torshizi MAK (2015) Modification of egg yolk fatty acids profile by using different oils. *Vet Res Forum* **6**(2), 137-141.

Orzuna-Orzuna JF, Lara-Bueno A (2023) Essential Oils as a Dietary Additive for Laying Hens: Performance, Egg Quality, Antioxidant Status, and Intestinal Morphology: A Meta-Analysis. *Agriculture* **13**(7), 1294. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071294>

Petrović M (2012) Optimizacija proizvodnje konzumnih jaja obogaćenih s n-3 masnim

Phuong LT, Thuy NT (2021) Effect of herbal powder supplementations in feed on egg performances and intestinal microflora of small size local hens in the south of Vietnam. *Livestock Res Rural Dev* **33**(9)

Radwan LN, Hassan RA, Qota EM and Fayek HM (2008) Effect of Natural Antioxidant on Oxidative Stability of Eggs and Productive and Reproductive Performance of Laying Hens. *Int J Poult Sci* **7**, 134-150. <https://doi.org/10.3923/ijps.2008.134.150>

Réhault-Godbert S, Guyot N, Nys Y (2019) The Golden Egg: Nutritional Value, Bioactivities, and Emerging Benefits for Human Health. *Nutrients* **11**(3). <https://doi:10.3390/nu11030684>

Samiullah S, Roberts JR, Chousalkar K (2015) Eggshell color in brown-egg laying hens — a review. *Poult Sci* **94**(10), 2566–2575. <https://doi:10.3382/ps/pev202>

Senčić Đ, Samac D (2017) Jaja, Poljoprivredni fakultet, Osijek

Soliman NK, Kamel SM (2020) Effect of Herbs on productive performance of laying hens, some blood constituents and antioxidant activity in egg yolk. *Egypt Poult Sci* **40**(2), 493-505. <https://doi.org/10.21608/epsj.2020.96095>

Soltanmoradi MG, Seidavi A, Dadashbeiki M, Laudadio V, Centoducati G, Tufarelli V (2014) Influence of feeding frequency and timetable on egg parameters and reproductive performance in broiler breeder hens. *Avian Biol Res*, **7**(3), 153-159. <https://doi.org/10.3184/175815514X14025828753279>

Stojanović T (2021) Varijabilnosti fizikalnih i senzorskih svojstava jaja iz slobodnog uzgoja (diplomski rad), Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Tadesse D, Retta N, Girma M, Ndiwa N, Dessie T, Hanotte O i sur. (2023) Yolk Fatty Acid Content, Lipid Health Indices, and Oxidative Stability in Eggs of Slow-Growing Sasso Chickens Fed on Flaxseed Supplemented with Plant Polyphenol Extracts. *Foods* **12**(9), 1819. <https://doi.org/10.3390/foods12091819>

Vlaicu PA, Panaite TD, Turcu RP (2021) Enriching laying hens eggs by feeding diets with different fatty acid composition and antioxidants. *Sci Rep* **11**(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00343-1>

Vlaicu PA, Untea AE, Turcu RP, Saracila M, Panaite TD, Cornescu GM (2022) Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Basil, Thyme and Sage Plant Additives and Their Functionality on Broiler Thigh Meat Quality. *Foods* **11**(8). <https://doi.org/10.3390/foods11081105>

Vrdoljak M (2016) Utjecaj dodatka limunske kiseline na svojstva tekućih pasteriziranih jaja tijekom 4 tjedna skladištenja (diplomski rad), Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Wang Q, Jin G, Wang N, Guo X, Jin Y, Ma M (2017) Lipolysis and oxidation of lipids during egg storage at different temperatures. *Czech J Food Sci* **35**(3), 229–235. <https://doi.org/10.17221/174/2016-CJFS>

Wang XC, Zhang HJ, Wu SG, Yue HY, Wang J, Li J, Qi GH (2015) Dietary protein sources affect internal quality of raw and cooked shell eggs under refrigerated conditions. *Asian Australas. J Anim Sci* **28**,1641–1648. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0181>

Wen C, Gu Y, Tao Z, Cheng Z, Wang T, Zhou Y (2019) Effects of Ginger Extract on Laying Performance, Egg Quality, and Antioxidant Status of Laying Hens. *Animals* **9**(11), 857. <https://doi.org/10.3390/ani9110857>

Zotte AD , Cullere M, Erika Pellattiero E , Sartori A, Marangon A, Bondesan V (2021) Is the farming method (cage, barn, organic) a relevant factor for marketed egg quality traits? *Livest Sci* **246** <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104453>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Ivona Jukić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis