

# Utjecaj antioksidanasa na stabilizaciju mješavine lješnjakovog ulja i lanenog ulja

---

**Kovačić, Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:543059>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-24**

REPOZITORIJ

**PTF**

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

**dabar**  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Marija Kovačić**

**UTJECAJ ANTIOKSIDANASA NA STABILIZACIJU MJEŠAVINE  
LJEŠNJAKOVOG ULJA I LANENOG ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, veljača, 2019.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za prehrambeno inženjerstvo  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo****Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Tehnologija ulja i masti**Tema rada** je prihvaćena na I. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj dana 30. listopada 2018.**Mentor:** prof. dr. sc. Tihomir Moslavac**Pomoć pri izradi:** *Daniela Paulik, tehnički suradnik***Utjecaj antioksidanasa na stabilizaciju mješavine lješnjakovog ulja i lanenog ulja***Marija Kovačić, 423- DI*

**Sažetak:** U ovom istraživanju određivana je oksidacijska stabilnost mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja u omjeru 50 : 50 sa i bez dodataka prirodnih i sintetskih antioksidanasa te sinergista. Primjenom standardnih metoda, određeni su parametri kvalitete ulja (peroksidni broj, slobodne masne kiseline). Antioksidansi koji su korišteni u ovom radu su ekstrakti nara, ružmarina i kadulje, eterično ulje konopljike, lavande, slatkog pelina, divlje mrkve, smilja, propil galat i mješavina tokoferola te sinergist limunska kiselina. Oksidacijska stabilnost ulja ispitivana je primjenom Oven testa. Rezultati ispitivanja prikazani su vrijednostima peroksidnog broja tijekom 4 dana trajanja testa. Primjena ekstrakta ružmarina pokazala je bolju zaštitu mješavine ulja od oksidacije u odnosu na ekstrakt kadulje i nara. Dodatkom eteričnog ulja smilja i lavande postignuta je veća zaštita mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja prema oksidacijskom kvarenju. Dodatkom sinergista limunske kiseline, prirodnom antioksidansu ekstraktu ružmarina ostvarena je najveća zaštita mješavine ulja od oksidacijskog kvarenja.

**Ključne riječi:** Biljna ulja, oksidacijska stabilnost, antioksidansi, sinergist, Oven test**Rad sadrži:** 55 stranica  
15 slika  
10 tablica  
0 priloga  
57 literaturnih referenci**Jezik izvornika:** hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Vedran Slačanac</i>  | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i> | član-mentor   |
| 3. doc. dr. sc. <i>Antun Jozinović</i>   | član          |
| 4. izv. prof. dr. sc. <i>Stela Jokić</i> | zamjena člana |

**Datum obrane:** 15. veljače 2019.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food Technologies**  
**Subdepartment of Food Engineering**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Technology of Oils and Fats

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no I. held on October 30, 2018.

**Mentor:** *Tihomir Moslavac*, PhD, full prof.

**Technical assistance:** *Daniela Paulik*, technical associate

### The Effect of Antioxidants on the Stabilization of the Mixture of Hazelnut Oil and Linseed Oil

*Marija Kovačić, 423-DI*

**Summary:** In this research was determined oxidation stability of mixture consisted of cold-pressed oil of hazelnut and linseed oil in ratio 50 : 50, with and without natural and synthetic antioxidants and synergists. Using standard methods it was defined oil quality parameter (peroxide number, free fatty acids). Antioxidants that were used in this research are: pomegranate extract, rosemary and sage extract, essential oils of hemp, lavender, sweet wormwood, wild carrot, immortelle, propyl galate, tocopherol mix and synergistic citric acid. Oil oxidation stability was tested using Oven test. The results of testing are shown in peroxide number value during the 4 days of testing. Use of rosemary extract showed better protection of oil mixture from oxidation in comparison with pomegranate and sage extract. By adding essential oil of immortelle and lavender it was achieved greater protection of mixture consisted of cold-pressed oil of hazelnut and linseed to oxidation degradation. With the addition of synergistic citric acid to natural antioxidant rosemary extract, has been proven the highest protection against oil oxidation.

**Key words:** Vegetable oil, oxidation stability, antioxidants, synergists, Oven test

**Thesis contains:** 55 pages  
15 figures  
10 tables  
0 supplements  
57 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Vedran Slačanac</i> , PhD, full prof.  | chair person |
| 2. <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, full prof. | supervisor   |
| 3. <i>Antun Jozinović</i> , assistant prof.  | member       |
| 4. <i>Stela Jokić</i> , associate prof.      | stand-in     |

**Defense date:** February 15, 2019

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

*Veliko hvala prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na mentorstvu u ovom diplomskom radu.*

*Hvala Vam na svim savjetima te izdvojenom trudu i vremenu.*

*Također, hvala i tehničarki Danieli Paulik na strpljenju i pomoći kod izvođenja eksperimentalnog dijela rada.*

*Zahvaljujem se "Cimericama i Doseljenicima" na svim riječima ohrabrenja i podrške te na druženjima tijekom studentskih dana. Bez Vas studiranje ne bi bilo tako lijepo razdoblje života!*

*Renato, hvala Ti što si bio uz mene u svim dobrim i lošim trenucima, vjerovanju i ljubavi. Bez tvojih ohrabrenja bilo bi teško ostvariti snove!*

*I na kraju, najveća hvala mojim roditeljima i sestrama Petri i Valentini koji su mi omogućili školovanje. Bez Vaše podrške bilo bi teško podnijeti neuspjehe, a bez Vaše ljubavi bilo bi teško postati ono što jesam!*

## SADRŽAJ

|  |           |
|--|-----------|
| 1. UVOD.....   | 1         |
| 2. TEORIJSKI DIO .....   | 3         |
| <b>2.1. JESTIVA BILJNA ULJA.....</b>                               | <b>4</b>  |
| <b>2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA.....</b>                   | <b>9</b>  |
| 2.2.1. Lješnjak .....  | 11        |
| 2.2.2. Lan .....   | 12        |
| <b>2.3. VRSTA KVARENJA BILJNIH ULJA.....</b>                       | <b>14</b> |
| 2.3.1. Kemijski procesi .....                                      | 15        |
| 2.3.2. Enzimski i mikrobiološki procesi.....                       | 18        |
| <b>2.4. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA.....</b>              | <b>19</b> |
| 2.4.1. Antioksidansi .....   | 19        |
| 2.4.2. Sinergisti .....  | 21        |
| 2.4.3. Prooksidansi.....   | 22        |
| <b>2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA .....</b>       | <b>23</b> |
| <b>2.6. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA .....</b> | <b>25</b> |
| 2.6.1. Schaal-Oven test.....                                       | 26        |
| 2.6.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) .....        | 26        |
| 2.6.3. Rancimat test.....  | 27        |
| 2.6.4. Test održivosti na 98 °C .....                              | 27        |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....                                       | 29        |
| <b>3.1. ZADATAK .....</b>  | <b>30</b> |
| <b>3.2. MATERIJALI I METODE.....</b>                               | <b>30</b> |
| 3.2.1. Materijali .....  | 30        |
| 3.2.2. Metode .....  | 32        |

|         |  |    |
|---------|--|----|
| 3.2.2.1 | Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja ..... | 32 |
| 3.2.2.2 | Priprema uzorka ulja za analizu .....                | 35 |
| 3.2.2.3 | Određivanje oksidacijske stabilnosti .....           | 37 |
| 4.      | REZULTATI.....                                       | 39 |
| 5.      | RASPRAVA.....  | 45 |
| 6.      | ZAKLJUČCI.....                                       | 49 |
| 7.      | LITERATURA .....                                     | 51 |

## Popis oznaka, kratica i simbola

Abr - anisidinski broj

AH - antioksidans

AOM - Active Oxygen Method

DDP - dobra proizvođačka praksa

DHA - dokosaheksaenska kiselina

EMK - esencijalne masne kiseline

EPA - eikosapentaenska kiselina

HOO• - radikal vodikovog peroksida

LK - limunska kiselina

Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – natrijev tiosulfat

NMK - nezasićene masne kiseline

NMR - nuklearna magnetska rezonanca

NN - netopljive nečistoće

Pbr - peroksidni broj

R •, RO• - slobodni radikal

RH - masne kiseline

ROO• - radikal peroksida

ROOH - hidroperoksid

RR, ROOR - polimeri

SMK - slobodne masne kiseline

ST - suha tvar

ZMK - zasićene masne kiseline



## **1. UVOD**

Lješnjak, *Corylus avellana* L. običan europski lješnjak iz porodice *Betulaceae*, daje plod sa visokim sadržajem ulja. Ljuska se koristi kao gorivo, za bojanje vina i za proizvodnju drvenog ugljena. Jezgra lješnjaka je veoma dobar izvor makro- i mikronutrijenata: proteina, ulja, vitamina, minerala itd. Preporučuje se u prehrani jer doprinosi boljem zdravstvenom statusu organizma, štiti organizam od različitih bolesti te poboljšava imunološki sustav (Wetherilt i Pala, 2018.).

Ulje lješnjaka je zlatnožute boje, veoma ugodnog mirisa i "slatkastog" okusa. Ima veliku primjenu u prehrambenoj industriji, ali isto tako i u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Karleskind, 1996.; Vaughan, 1977.)

Lan, *Linum usitatissimum* L. najstarija je i nekad glavna tekstilna biljka na područjima umjerene i hladne klime. Lan se uzgaja zbog različitih primjena; samo za vlakno- tekstilni lan, za sjeme-uljani lan i kombinirano- za vlakno i sjeme (Stanković; Petrović, 1998.). Sjeme lana bogato je uljem i proteinima. Laneno ulje pripada sušivim uljima zbog visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina. Sirovo laneno ulje ima tamnožutu boju i jak, specifičan miris i okus. Zbog visokog jodnog broja i velike količine linolenske kiseline ulje se uglavnom koristi za proizvodnju boja, lakova, mekih sapuna i tiskarskih boja. Laneno ulje je najbolji biljni izvor omega-3 masnih kiselina (Rac, 1964.).

Zadatak diplomskog rada je ispitati utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i hladno prešanog lanenog ulja u omjeru 50 : 50. Od prirodnih antioksidanasa koristi će se ekstrakt kadulje, ekstrakt ružmarina (OxyLess CS), ekstrakt nara, mješavina tokoferola, eterična ulja konopljike, lavande slatkog pelina, divlje mrkve i smilja te sintetski antioksidans propil galat. Određivanje oksidacijske stabilnosti mješavine ulja, s i bez dodatka antioksidansa, provest će se primjenom Schaal oven testa na temperaturi 63 °C. Rezultati testa prikazat će se vrijednostima peroksidnog broja tijekom određenog vremenskog perioda provedbe testa.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Masti i ulja su organski spojevi životinjskog i biljnog podrijetla, netopljivi su u vodi, ali izuzetno topljivi u organskim otapalima poput etera, alkohola, heksana, dietil etera, benzena, kloroforma i sl. (Sikorski, 2003.). Prema kemijskom sastavu masti i ulja su triacilgliceroli, odnosno esteri alkohola glicerola i masnih kiselina.

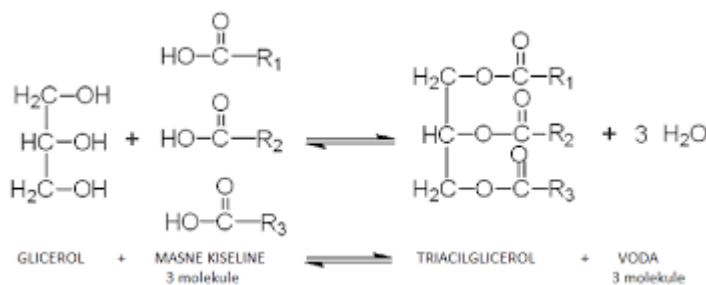
Ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina od animalnih masti, te se na sobnoj temperaturi nalaze u tekućem agregatnom stanju, za razliku od masti koje sadrže više zasićenih masnih kiselina i pri sobnoj temperaturi su u čvrstom stanju.

S obzirom na sastav biljnih ulja i njihovu strukturu, lipidi se dijele na:

- jednostavni lipidi;
- složeni lipidi;
- derivati lipida.

### Jednostavni lipidi

Jednostavni se lipidi sastoje od masnih kiselina i alkohola glicerola, mogu se hidrolizirati na dvije komponente, obično na alkohol i kiselinu, a u tu se skupinu ubrajaju acilgliceroli, eteri acilglicerola, steroli i njihovi esteri te voskovi. Na **Slici 1** prikazana je reakcija nastajanja triacilglicerola iz masnih kiselina i alkohola glicerola. Ulja i masti (triacilgliceroli) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina. Masne kiseline su reaktivni dio molekule triacilglicerola pa imaju veliki utjecaj na njegova kemijska i fizikalna svojstva (Swern, 1972.).



**Slika 1** Reakcija nastajanja triacilglicerola (web 1)

### **Složeni lipidi**

Složeni lipidi hidrolizom daju tri ili više komponenti, a uključuju derivate fosforne kiseline, tj. fosfolipide, lipide koji sadrže ostatke ugljikohidrata, tj. glikolipide, aminolipide, sulfolipide. Udio negliceridnih sastojaka u prirodnim biljnim uljima iznosi najčešće 1 – 2 %, u nekima i do 3,5 %, a čine ih fosfatidi (fosfolipidi), karoteni, voskovi, steroli, vitamini A, D i E, tokoferoli, pigmenti klorofil i gosipol, aldehidi, ketoni, glikozidi, masni alkoholi i tragovi metala. Određeni negliceridni sastojci u prirodnim uljima izrazito su poželjni, poput primjerice liposolubilnih vitamina i karotena, jer poboljšavaju kvalitetu ulja, dok voskovi, fosfatidi i tragovi metala mogu uvelike pogoršati kvalitetu ulja prilikom rafinacije, pa ih je potrebno ukloniti iz sirovog ulja tijekom procesa rafinacije.

### **Derivati lipida**

Derivati lipida su spojevi dobiveni hidrolizom jednostavnih i složenih lipida. U derivate lipida ubrajaju se masne kiseline, alkoholi (steroli), vitamin D, vitamin E, vitamin K, ugljikovodici (karoteni). U ostale vrste lipida spadaju pigmenti, sapuni, oksidacijski polimeri, termalni polimeri i lipoproteini (Odak, 2013.).

Lipidi, svojim sastavom, kristalnom strukturom, temperaturom topljenja i sposobnošću vezanja vode i drugih ne lipidnih molekula su od velikog značaja za funkcionalna svojstva većine namirnica.

Osnovna svojstva po kojima razlikujemo masne kiseline su broj atoma ugljika u molekuli, broj dvostrukih veza, zasićenost te prostorni raspored kiselinskih ostataka oko nezasićene veze.

S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikujemo:

- masne kiseline kratkog lanca (broj ugljikovih atoma do 8);
- masne kiseline srednjeg lanca (broj ugljikovih atoma od 8 do 12);
- masne kiseline dugačkog lanca (broj ugljikovih atoma iznad 12).

Što je lanac masnih kiselina kraći, talište masnoće je niže, to jest, masnoća je više u tekućem obliku.

Podjela masnih kiselina prema stupnju nezasićenosti:

- zasićene masne kiseline
- nezasićene masne kiseline (Swern, 1972.).

**Zasićene masne kiseline (ZMK)** su masne kiseline koje u molekuli ne sadrže dvostruke veze između C atoma, a opća formula im je:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{COOH}$ . Kod zasićenih masnih kiselina radikal (R-) je jednostavan parafinski lanac u kojem je svaki C atom zasićen. Najvažnije svojstvo zasićenih masnih kiselina je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu. U prirodnim uljima i mastima dolaze zasićene masne kiseline sa 4 do 22 ugljikova atoma. U **Tablici 1** navedene su važnije zasićene masne kiseline. U biljnim i životinjskim mastima najzastupljenije su laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska masna kiselina.

**Tablica 1** Važnije zasićene masne kiseline (Moslavac, 2013.)

| Broj C atoma | Naziv masne kiseline   | Formula                                    |
|--------------|------------------------|--|
| 4            | Maslačna kiselina      | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$    |
| 6            | Kaprnska kiselina      | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$    |
| 8            | Kaprilna kiselina      | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$    |
| 10           | Kaprinska kiselina     | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$    |
| 12           | Laurinska kiselina     | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ |
| 14           | Miristinska kiselina   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ |
| 16           | Palmitinska kiselina   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ |
| 18           | Stearinska kiselina    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ |
| 20           | Arahidonska kiselina   | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$ |
| 22           | Behenijska kiselina    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$ |
| 24           | Lignocerinska kiselina | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$ |

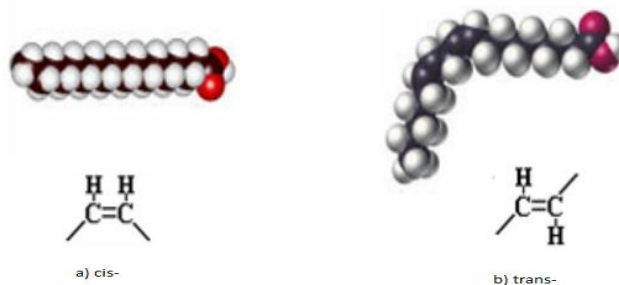
**Nezasićene masne kiseline (NMK)** su masne kiseline koje u molekuli sadrže jednu ili više dvostrukih veza. U biljnim uljima i životinjskim mastima najčešće se pojavljuju sa 18 ugljikovih atoma, te s jednom, dvije ili tri dvostruke veze. Dijelimo ih na mononezasićene i polinezasićene, ovisno o broju dvostrukih veza koje sadrže. Mononezasićene masne kiseline sadrže samo jednu, a polinezasićene sadrže dvije ili više dvostrukih veza u molekuli. Mononezasićene masne kiseline (**Tablica 2**) imaju takav kemijski sastav koji im omogućuje

vezanje još dva atoma vodika u molekuli masne kiseline. Reaktivnost nezasićenih masnih kiselina ovisi o broju i položaju dvostrukih veza, stoga je važno poznavanje stupnja nezasićenosti i položaja dvostrukih veza u molekuli masne kiseline.

Dvostruke veze mogu biti:

- izolirane: dvostruke veze razdvojene s jednom ili više metilenskih grupa;
- konjugirane: dvostruke veze u susjednom položaju.

U prirodi se nezasićene masne kiseline (**Slika 2**) pojavljuju samo u cis obliku. Trans oblik isključivo nastaje tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije biljnih ulja (O'Brien, 2004.)



**Slika 2** a) cis- i b) trans- oblik nezasićene dvostruke veze (Jašić, 2009.)

**Tablica 2** Važnije mononezasićene kiseline (Moslavac, 2013.)

| Naziv                   | Formula  | Nalazište                           |
|-------------------------|--|-------------------------------------|
| Oleinska kiselina       | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$    | sva ulja i masti                    |
| Palmitoleinska kiselina | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$    | prirodne masti                      |
| Vakceinska kiselina     | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$    | maslac i loj                        |
| Gadoleinska kiselina    | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$    | ulje repice, gorušice i riblja ulja |
| Petroselinska kiselina  | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ | ulje peršina                        |
| Eruka kiselina          | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$ | ulje krstašica (repica, gorušica)   |

**Tablica 3** Važnije polinezasićene masne kiseline (Moslavac, 2013.)

| Naziv                  | Formula  | Nalazište  |
|------------------------|--|--|
| Linolna kiselina       | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$                                       | sva ulja i masti (0,5-81 %), veći broj jestivih biljnih ulja (40-60 %) |
| Linolenska kiselina    | $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$                    | ulja visokog jednog broja (>150), tzv. sušiva ulja                     |
| Klupanodonska kiselina | $\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}_2\text{COOH}$ | riblja ulja  |

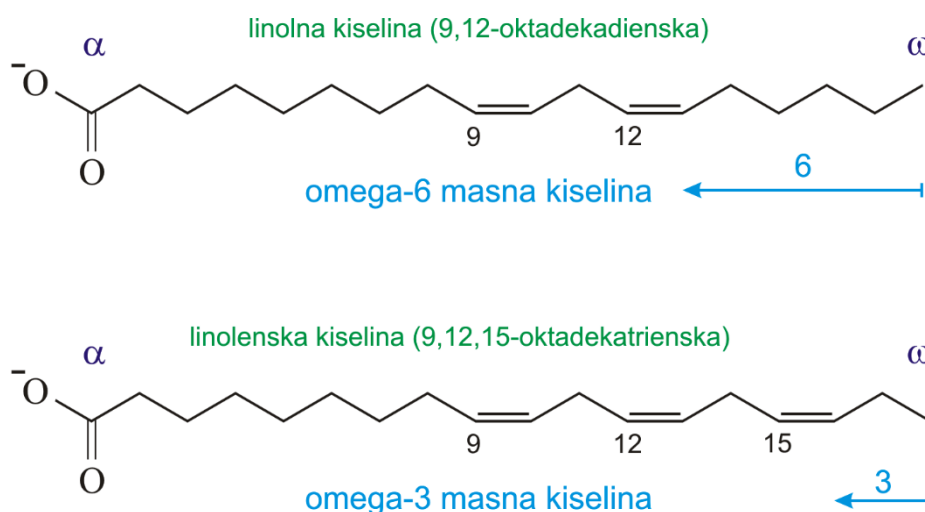
**Esencijalne masne kiseline (EMK)** su polinezasićene masne kiseline (**Tablica 3**) sa 18, 20 ili 22 ugljikova atoma i sa dvije do šest dvostrukih veza u cis konfiguraciji u lancu masne kiseline. Masne kiseline sa više dvostrukih veza ubrajaju se u esencijalne sastojke hrane. Esencijalne



masne kiseline naš organizam ne može sintetizirati, već se moraju u dovoljnoj količini unositi prehranom.

S obzirom na dvostruku vezu od metilnog kraja lanca masne kiseline, višestruko nezasićene masne kiseline dijelimo na omega-3 i omega-6 skupinu. Omega-3 skupini pripada linolenska kiselina (**Slika 3**) i njezini derivati ikosapentaenska (C 20:5 ili IPA), eikosapentaenska (EPA) i dokosaheksaenska (C 22:6 ili DHA). Omega-6 skupini pripada i arahidonska kiselina koju organizam može sam sintetizirati iz linolne.

Alfa-linolenska kiselina je tip omega-3 masnih kiselina koja se nalazi u biljkama. Slična je eikosapentaenskoj (EPA) i dokosaheksaenskoj (DHA) omega-3 masnoj kiselini koje se nalaze u ribljem ulju i u njih se u tijelu može konvertirati. Za omega-3 masne kiseline dokazano je da smanjuju upale i mogu pomoći u prevenciji kroničnih bolesti.



**Slika 3** Strukturna formula esencijalnih omega-3 i omega-6 masnih kiselina (web 2)

## 2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

Uljarice su biljke koje se uzgajaju isključivo radi proizvodnje ulja, većina biljaka u plodu ili sjemenu sadrži ulja i masti. U nekim biljkama udio ulja može iznositi i do 70% dok se u nekima nalazi samo u tragovima. Sirovine koje se koriste za dobivanje ulja moraju imati minimalan udio ulja koji omogućava njegovo ekonomski prihvatljivo izdvajanje i biljka mora biti pogodna za masovnu proizvodnju (Dimić, 2005.).

U svijetu se oko 20 vrsta biljaka koristi za proizvodnju biljnih ulja. Osnovna podjela ulja prema porijeklu može biti na ulja iz mesnatog djela ploda i na ulja iz sjemena. Također imamo i podjelu na osnovu većinskog udjela masnih kiselina, te na osnovi porijekla sjemena.

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmino ulje, avokado...
2. Ulja i masti iz sjemena i ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:
  - laurinske masti i ulja (kokos, palmine koštice...)
  - masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao maslac, shea maslac...)
  - ulje pamitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje...)
  - ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buče, repica...)
  - ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, *Camelina sativa* L.)
3. Ulja prema porijeklu biljke:
  - ulja iz leguminoza (kikiriki, soja...)
  - ulja krstašica (repica, slačica-senf) (Volmut, 2010.).

Ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji, ulja se razvrstavaju u sljedeće kategorije:

1. Rafinirana ulja;
2. Hladno prešana ulja;
3. Nerafinirana ulja.

Nerafinirana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, uz upotrebu topline. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Hladno prešana i nerafinirana ulja, moraju udovoljavati i sljedećim zahtjevima:

1. da su karakteristične boje;
2. da su miris i okus karakteristični za vrstu sjemena ili ploda, bez stranog i/ili užeglog mirisa i okusa;
3. da ne sadrže više od 2 % slobodnih masnih kiselina (izraženih kao oleinska kiselina);
4. da peroksidni broj nije veći od 7 mmola O<sub>2</sub>/kg;

5. da sadrže najviše 0,4 % vode i tvari hlapljivih na temperaturi od 105 °C;
6. da sadrže najviše 0,1 % netopljivih nečistoća;
7. da hladno prešana ulja ne sadrže više od 0,15 mg/kg stigmastadiena.

Mješavine rafiniranih ulja, hladno prešanih ulja i nerafiniranih ulja stavljaju se na tržište pod nazivom koji uključuje nazive ulja od kojih je mješavina sastavljena (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

### 2.2.1. Lješnjak

*Corylus avellana* L., drvo običnog europskog lješnjaka, daje plodove (**Slika 4**) sa visokim udjelom ulja. Plodovi lješnjaka skupljaju se ručno, a ljuska se uklanja mehanički te se koristi za bojanje vina, za proizvodnju drvenog ugljena, furfurala te kao gorivo. Preporučuje se u prehrani zbog svog nutritivnog sastava, doprinosi boljem zdravstvenom statusu organizma, štiti organizam od raznih bolesti te poboljšava imunološki sustav organizma. Ulje lješnjaka je zlatnožute boje, veoma ugodnog mirisa i "slatkastog" okusa. Ima veliku primjenu u prehrambenoj industriji, ali isto tako i u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Karleskind, 1996.; Vaughan, 1977.).

U **Tablici 4** prikazan je kemijski sastav lješnjaka. U sastavu ima više od 90 % prisutnih nezasićenih masnih kiselina pri čemu je najzastupljenija oleinska sa 80 % i linolna sa 6-12 %. (Jokić i sur., 2016.). Lješnjak je dobar izvor  $\alpha$ - tokoferola koji ima antioksidacijsko djelovanje te su iz tog razloga proizvodi od lješnjaka visoke oksidacijske stabilnosti. Lješnjak ima pozitivan utjecaj na zdravlje organizma zbog aminokiselinskog sastava te prisutnosti komponenata kao što su  $\beta$ - sitosterol, vitamin E, vitamin B<sub>6</sub>, magnezij, željezo, bakar, selen, itd. (Wetherilt i Pala, 2018).

**Tablica 4** Osnovni kemijski sastav lješnjaka (Jokić i sur., 2016.)

| Komponenta     | Udio (%) |
|----------------|----------|
| Ulje           | 65       |
| Proteini       | 14       |
| Ugljikohidrati | 16       |

**Slika 4** Plod lješnjaka(web 3)

### 2.2.2. Lan

Lan, *Linum usitatissimum* L. (najstarija je i glavna tekstilna biljka na područjima umjerene i hladne klime. Glavni proizvođači sjemena lana su Argentina, SAD, Kanada, Indija i Rusija (Rac, 1964.).

Uzgaja se u tri svhe:

- samo za vlakno- tekstilni lan;
- za sjeme- uljani lan;
- kombinirano- za vlakno i sjeme (Stanković i Petrović, 1998.).

Stabljika lana je zeljasta, uspravna, okrugla, glatka i presvučena voštanom prevlakom visine 20 - 120 cm i debljine 1,5 - 2 mm. Korijen je vretenast, a list nema peteljku, pa je sjedeći, uzak i izdužen, na vrhu zašiljen, presvučen voštanom prevlakom. Cvjetovi su samooplodni s

mogućom stranooplodnjom na vrhu stabljike na dugačkim drškama, nalaze se u cimoznim cvatima. Čašica i krunica su od po pet listića, krunični svijetloplavi, ružičasti ili ljubičasti, na vrhu zaobljeni, a prema osnovi klinasto suženi i žučkasti (**Slika 5**). Plod je tobolac okruglastog oblika, a na vrhu zašiljen. Ima pet pregrada podijeljenih u pet dijelova, a svaki je dio podijeljen na dva dijela u kojima se nalazi po jedna sjemenka, što znači da u tobolcu može biti 10 sjemenki. Masa 1 000 sjemenki iznosi 3 – 15 g, a hektolitarska težina iznosi oko 70 kg (web 4).



**Slika 5** Lan (web 5)

U **Tablici 5** je prikazan sastav sjemenki lana koje su najbogatije uljem i proteinima.

Tablica 5 Sastav sjemenke lana

| Komponenta                             | Karlović i Andrić,<br>1996. | Karlenskind, 1996. | Wiley, 1996. * |
|--|-----------------------------|--------------------|----------------|
| <b>Ulje (%ST)</b>                      |                             |                    |                |
| – tekstilni lan                        | 32-35                       | <40                | -              |
| – uljni lan                            | 38-45                       | 35-45              | 34             |
| <b>Sirovi proteini (%)</b>             | -                           | -                  | 23             |
| <b>Proteini (% na ST sačme)</b>        | 32-40                       | 36-40              | -              |
| <b>Nedušične tvari (%)</b>             | -                           | -                  | 24             |
| <b>Sirova celuloza (% na ST sačme)</b> | 9-11                        | -                  | 7**            |
| <b>Pepeo (%)</b>                       | -                           | -                  | 5              |

\*podaci pri sadržaju vlage u sjemenu od 9%, \*\*sirova vlakna

Laneno ulje spada u skupinu sušivih ulja zbog visokog udjela nezasićenih masnih kiselina. Sadrži veliku količinu linolenske kiseline i visoki jodni broj te se zbog toga koristi u tehničke svrhe, u industriji boja i lakova, u proizvodnji linuleuma i dr. (Rac, 1964.).

Laneno ulje je vrlo osjetljivo na oksidaciju i ima slabu održivost zbog sastava masnih kiselina.

U lanenom ulju, najzastupljeniji je  $\gamma$ - tokoferol koji čini 90-97% od ukupnih tokoferola (Valasco, 2000.).

### 2.3. VRSTA KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja sadrže tvari koje usporavaju oksidacijske promjene i otporna su kraće ili duže vrijeme na proces autooksidacije. Pod određenim uvjetima: sunčeve svjetlosti, vode, povišene temperature, tragova metala i dr. javljaju se nepoželjne promjene izazvane

kemijskim reakcijama (autooksidacija, termooksidacija, reverzija), enzimskim i mikrobiološkim promjenama (ketooksidacija i hidrolitička razgradnja) (Cvejanov, 1997.).

Posljedica ovih reakcija je kvarenje masti i ulja prilikom čega dolazi do promjene organoleptičkih svojstva te se mijenja njihova prehrambena vrijednost. Dolazi i do gubitka ili mijenjanja jednog dijela biološki aktivnih tvari: esencijalne aminokiseline, vitamini, provitamini i drugo. Posljedica kvarenja su razgradni produkti (peroksidi, polimeri, malondialdehidi) koji daju neugodan miris i okus ulja i masti i mogu biti štetni za zdravlje pa se koriste u tehničke svrhe (Čorbo, 2008.).

### 2.3.1. Kemijski procesi

U kemijske procese kvarenja biljnih ulja ubrajamo:

- autooksidaciju
- termooksidacijske promjene i
- reverziju.

#### Autooksidacija

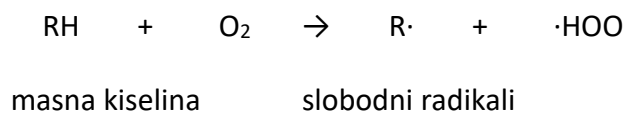
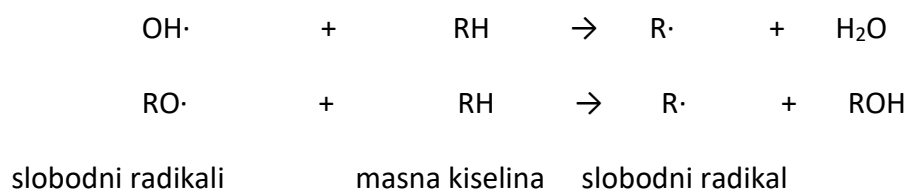
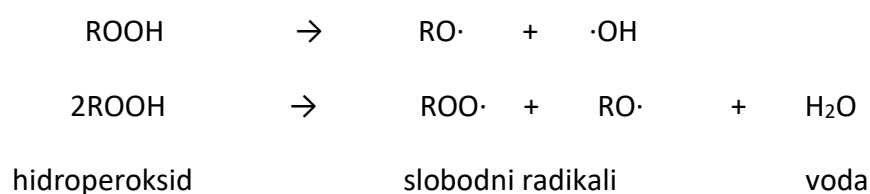
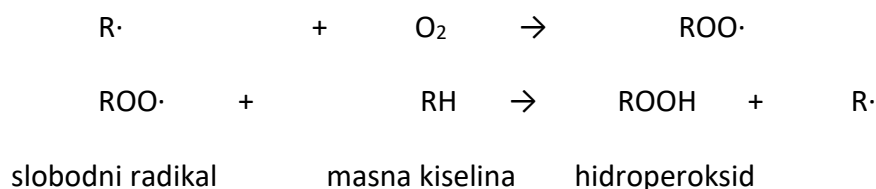
Autooksidacija, preventstveno polinezasićenih masnih kiselina, odvija se kod izlaganja ulja svjetlu, kisiku i ionima metala. Oksidaciju kataliziraju i enzimi poput lipoksigenaze.

Tri glavne faze procesa autooksidacije:

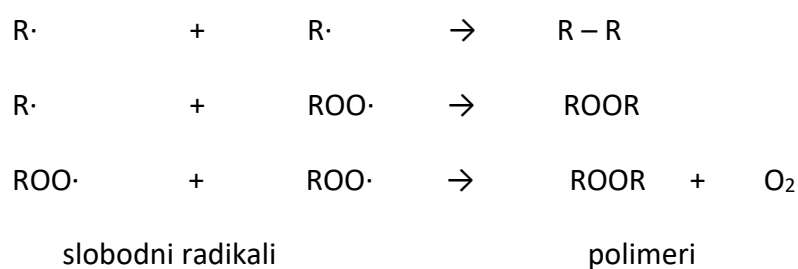
- inicijacija
- propagacija
- terminacija

#### Inicijacija

U prvoj fazi autooksidacije ulja dolazi do homolitičkog cijepanja na metilnim skupinama nezasićenih masnih kiselina djelovanjem topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog svjetla ili uz katalitičko djelovanje iona metala pri čemu dolazi do izdvajanja vodika i nastajanja slobodnih radikala.

**Propagacija**

Masnokiselinski radikal reagira s molekularnim kisikom i nastaje peroksidni radikal masne kiseline koji drugoj molekuli masne kiseline "otima" atom vodika- time započinje lančana reakcija. Također, nastali hidroperoksidi se mogu fragmentirati u slobodne radikale, npr. u prisustvu iona metala.

**Terminacija**



Nastanak neradikalnih produkata međusobnom reakcijom slobodnih radikala ili djelovanjem antioksidanasa (Klapec, 2018.). Hidroperoksidi su primarni produkti autooksidacije, a sekundarni nastaju razgradnjom hidroperoksida. To su aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i drugi spojevi (Odak, 2013.).

Primarni produkti procesa autooksidacije su hidroperoksidi, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom spomenutih hidroperoksida (aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i dr.) i daju neugodan užegnut miris i okus uljima čak i u vrlo malim koncentracijama. Mnogi od njih su vrlo reaktivni spojevi i mogu pokrenuti lančanu reakciju oksidacije in vivo (Shahidi, 1997.).

Polinezasićene masne kiseline reaktivnije su od mononezasićenih i zasićenih masnih kiselina, stoga su i podložnije oksidaciji brže nego mononezasićene i zasićene masne kiseline. U procesu autooksidacije ulja i masti polinezasićene masne kiseline smatramo ključnim komponentama.

### **Termooksidacijske promjene ulja i masti**

Oksidacija se naglo ubrzava na temperaturama višim od 100 °C. Zagrijavanjem ulja osim produkata oksidacije, dolazi i do nastanka produkata termooksidacije; cikličke masne kiseline, dimeri, polimeri masnih kiselina i triglicerida, oksipolimeri i ostali hlapljivi i nehlapljivi spojevi (Odak, 2013.).

Prženjem hrane na visokim temperaturama dolazi do fizikalnih i kemijskih promjena. Zagrijavanjem ulja dolazi do porasta viskoznosti, indeksa refrakcije i specifične težine, porasta udjela SMK, broja osapunjenja, porasta peroksidnog broja i smanjenja jodnog broja.

Jodni broj se preporučuje za utvrđivanje kvalitete ulja tijekom prženja. Snižanjem jodnog broja za 5 %, znak je da se biljno ulje više ne može koristiti za prženje hrane (Odak, 2013.).

### **Reverzija**

Čuvanjem ulja nakon kraćeg vremena dolazi do pojave neugodnog mirisa i okusa po sirovini ili ribi i tu pojavu nazivamo reverzija.

Djelomična hidrogenacija ulja primjenjuje se da bi se usporila reverzija te kako bi se uklonila linolenska kiselina, a mogu se i dodati aditivi koji povećavaju održivost ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### 2.3.2. Enzimski i mikrobiološki procesi

#### Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja biljnih ulja je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida, uz prisutnost vode i enzima lipaze.

Procesom nastaju jedna, dvije ili tri molekule masnih kiselina i glicerola, a posljedica je povećanje udjela slobodnih masnih kiselina (SMK) te porast kiselosti ulja (Rade i sur., 2001.).

Na temperaturama nižim od 20 °C i višim od 80 °C inaktiviraju se lipolitički enzimi te se tako zaustavlja hidrolitička razgradnja ulja i masti.

#### B-ketooksidacija

$\beta$ -ketooksidacija spada u mikrobiološke procese kvarenja masti i ulja uzrokovana djelovanjem plijesni (*Aspergillus* i *Penicillium*), te bakterija (*Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*).

Kod  $\beta$ -ketooksidacije mikroorganizmi u prisutnosti kisika iz zraka napadaju zasićene masne kiseline (ZMK) i to metilnu skupinu u  $\beta$  položaju prema karboksilnoj skupini. Posljedica ovog djelovanja mikroorganizama je stvaranje  $\beta$ -keto kiselina kao primarnih produkata te metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije (Rade i sur., 2001.).

Masti kod kojih je došlo do  $\beta$ -ketooksidacije imaju izrazito naglašen neugodan miris i okus poznat kao užeglost, karakterističan za ovu vrstu kvarenja. Djelovanjem nekih vrsta mikroorganizama koji uzrokuju ovu vrstu kvarenja stvaraju se i pigmenti (žuti, crveni, plavo-zeleni) što za posljedicu ima obojenje masti (Čorbo, 2008.).

Sprječavanje  $\beta$ -ketooksidacije postiže se odgovarajućim načinima koji onemogućuju razvoj mikroorganizama:

- pasterizacija;

- sterilizacija;
- podešavanje pH (<5) i
- dodatak aditiva i konzervansa.

### 2.4. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA

Dodatkom antioksidansa i sinergista možemo poboljšati oksidacijsku stabilnost ili održivost biljnih ulja i animalnih masti.

#### 2.4.1. Antioksidansi

Antioksidans se može definirati kao bilo koja tvar koja prisutna u niskim koncentracijama, značajno odgađa ili inhibira oksidaciju supstrata (Antolovich i sur., 2001.). Antioksidansi su tvari koje priječe promijene u hrani, produljuju trajnost hrane štiteći je od kvarenja uzrokovanog oksidacijom, kao što je ranjetljivost masti i promjene boje.

Antioksidansi moraju zadovoljavati slijedeće uvjete:

- dobro se otapati u uljima i mastima,
- aktivno djelovanje prilikom dodavanja mora biti u vrlo malim koncentracijama (0,001 do 0,02 %),
- ne smiju prouzrokovati strani okus i miris ni nakon duljeg skladištenja,
- moraju djelovati na proizvod u kojem se mast nalazi, a ne samo na mast,
- identifikacija i određivanje antioksidansa mora biti jednostavno,
- ne smiju biti previše skupi (Čorbo, 2008.).

Dodaju se kao aditivi u hranu i dodijeljeni su im E brojevi od 300 do 340, zakonskim propisima određuje se u kojoj količini se smiju dodavati prehrambenim proizvodima. Antioksidansi usporavaju oksidaciju ulja i masti, a ukoliko su dodani nakon završetka perioda indukcije, nemaju utjecaja. Da bi antioksidansi mogli djelovati, moraju biti dodani u svježu mast čiji je peroksidni broj manji od 1 mmol O<sub>2</sub>/kg masti (Sadadinović i sur., 2005.).

Smatra se da antioksidansi sprječavaju, odnosno usporavaju oksidacijsko kvarenje ulja i masti preko dvije reakcije:

1. Antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili slobodni radikal masne kiseline (R•)



2. Slobodni radikal antioksidansa (A•) veže se na slobodni radikal (R•) i na (ROO•)



Antioksidans veže slobodne radikale iz masnih kiselina i peroksida pa tako sprječava autooksidacijsko kvarenje ulja i masti. Povećanjem eksperimentalnih, kliničkih i epidemioloških podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidanasa, njihova važnost i uloga poprimaju novu pozornost (Shi i sur., 2001.). Osim nutritivnih i senzorskih svojstava, hrana, a posebno neki njezini sastojci imaju zaštitnu ulogu. Posebno je to slučaj s hranom koja sadrži prirodne antioksidanse (Thomas, 1995.). Za oksidacijsku stabilizaciju biljnih ulja primjenjuju se razni sintetski i prirodni antioksidansi (Yanishlieva i Marinova, 2001.). Sintetski antioksidans je jeftiniji od prirodnog, ali je generalno prihvaćeno da prirodni antioksidansi imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje nego sintetski (Bera i sur., 2006.). Antioksidacijska aktivnost ovisi ne samo o strukturnim svojstvima antioksidanasa već i o mnogim drugim čimbenicima kao što su temperatura, svjetlost, tip supstrata, fizikalno stanje sistema, kao i o brojnim mikrokomponentama koje djeluju kao prooksidansi ili sinergisti (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001.).

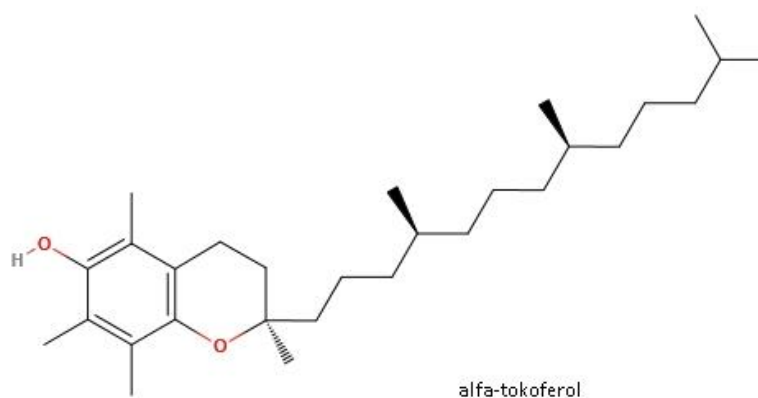
Istražuju se različiti biljni materijali koji sadrže fenolne spojeve te pokazuju efikasna antioksidacijska svojstva u jestivim biljnim uljima. Tako se koriste razni ekstrakti začinskih biljaka (klinčića, cimeta, origana, kadulje, ružmarina, crni biber i dr.) za uspješnu zaštitu od oksidacijskog kvarenja ulja kikirikija, visokooleinskog suncokretovog ulja kao i drugih ulja (Pan i sur.; 2007.; Ahn i sur.; 2008.; Gramza i sur., 2006.).

U prirodne antioksidanse ubrajamo karotenoide, likopen i lutein, flavonoide i izoflavone, tokole (tokoferole i tokotrienole), vitamine A, C i E, minerale selen i cink, te mnoge druge začinske biljke koje sadrže spojeve koji djeluju kao antioksidansi (Odak, 2013.). Nalaze se u

jestivim i nejestivim dijelovima biljaka. Sve više se koriste prirodni antioksidansi jer se kod potrošača probudila želja za zdravijom hranom i prirodno obogaćenim proizvodima. Prirodni antioksidansi koriste se za stabilizaciju ulja i masti u koncentracijama dobre proizvođačke prakse (DDP).

### Tokoferoli

Tokoferoli se nalaze u svim biljnim uljima, kao neosapunjivi sastojci. Po svom kemijskom sastavu oni su visokomolekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Poznato je osam tokoferola, a najvažniji su  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ . Najbolje antioksidacijsko djelovanje pokazuju  $\gamma$ -tokoferol i  $\delta$ -tokoferol.  $\alpha$ - tokoferol (**Slika 6**), poznat je još i kao vitamin E, ima najbolje vitaminsko djelovanje, koji je antioksidans in vivo, štiti nezasićene masne kiseline (NMKI) od procesa oksidacije u našem organizmu te sprječava nastajanje slobodnih radikala.



**Slika 6** Strukturna formula  $\alpha$ - tokoferola (web 6)

### 2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali u kombinaciji s nekim od antioksidanasa produžuju njegovo djelovanje. S obzirom na to svojstvo nazivamo ih još i sekundarnim antioksidansima, a mogu djelovati na nekoliko načina:

- vežu ione metala, inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
- daju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju vrijeme njegovog trajanja,

- sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida – sinergist se veže s radikalom antioksidanasa i zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

Najčešće korišteni sinergisti su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropil citrat, askorbil palmitat i lecitin. Valja istaknuti kako svi sinergisti ne djeluju sa svakim antioksidansom odnosno, određeni sinergisti s antioksidansima mogu dovesti do ubrzanja procesa autooksidacije.

### 2.4.3. Prooksidansi

Prooksidansi su tvari koje potiču oksidaciju biljnih ulja. Uključuju prethodno formirane hidroperokside i tragove metala (posebno Cu i Fe) od kojih svi potiču lančanu reakciju autooksidacije (Frankel, 1998.). Najčešći prooksidansi su svjetlost, kisik, temperatura i pojedini pigmenti. Kod povišene temperature se ubrzava proces autooksidacije ulja i razgradnja hidroperoksida, a kod nižih temperatura skladištenja, sporiji je nastanak produkata autooksidacije. Svjetlost nižih valnih duljina (UV) ima štetniji učinak od svjetlosti viših valnih duljina (vidljivo svjetlo). Zbog utjecaja svjetlosti važna je ambalaža u koju se ulje pakira. Prozirna plastika ubrzava autooksidaciju ulja. Da bi se to spriječilo može se u takvu plastiku dodati UV apsorber, koji onda poboljšava oksidacijsku stabilnost tako pakiranog ulja. Oksidacijska stabilnost ulja također je ovisna o koncentraciji otopljenog kisika u ulju. Da bi se spriječilo otapanje kisika u ulju, treba paziti da je zračni prostor iznad ulja što manji. Jestiva biljna ulja u sebi sadrže u tragovima SMK koje su podložnije autooksidaciji od esterificiranih masnih kiselina, pa one djeluju kao prooksidansi u jestivim uljima. Ioni tranzicijskih metala (Fe, Cu, Mn, Cr, Ni) se također nalaze u uljima, a imaju snažno prooksidacijsko djelovanje. Klorofil i njegovi razgradni produkti uz prisutnost svjetla djeluju prooksidativno, dok u mraku djeluju kao antioksidansi (Klapec, 2018.).

## 2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Metode koje se koriste za određivanje stupnja oksidacije biljnih ulja podijeljene su u tri osnovne grupe:

- senzorske metode,
- fizikalne metode,
- kemijske metode.

Bitno je napomenuti da se nikada ne primjenjuje samo jedna metoda za određivanje ukupne slike stupnja nastale oksidacijske promjene.

### Senzorke metode

Zasnivaju se na određivanju prisutnosti neugodnog užeglog mirisa i okusa nastalog reakcijom oksidacije. Senzorske metode su subjektivne i nedovoljne za donošenje konačne ocjene nekog proizvoda, ali su bitne kod ispitivanja kvalitete ulja.

### Fizikalne metode

UV spektrofotometrija je fizikalna metoda koja radi na principu zavisnosti apsorbance od valne dužine zračenja koje je prošlo kroz analizirani uzorak. Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u ultraljubičastom području. Primarni produkti oksidacije pokazuju maksimum apsorpcije na 232 nm, a sekundarni produkti na 270 nm, njihov odnos je izražen kao R vrijednost:

$$R - \text{vrijednost} = A_{232 \text{ nm}} / A_{270 \text{ nm}}$$

$A_{232 \text{ nm}}$  – apsorbancija na 232 nm

$A_{270 \text{ nm}}$  – apsorbancija na 270 nm

Što je vrijednost R niža, to je ulje lošije kvalitete. Ova metoda se primjenjuje za određivanje oksidacijskog stupnja kod sirovih ulja, a ostale fizikalne metode, koje se primjenjuju za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja, prikazane su u **Tablici 6**. Jedna od fizikalnih metoda je i plinska kromatografija koja se primjenjuje za određivanje oksidacijskih promjena kod čistih

ulja i masti, jer je otežano praćenje kompleksnih lipidnih spojeva te se u većini slučajeva koristi za određivanje hlapljivih spojeva.

**Tablica 6** Fizikalne metode za procjenu stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

| Fizikalne metode                    | Ispitivani parametri                      |
|-------------------------------------|---|
| UV- spektrofotometrija              | Konjugirani dieni/trieni                  |
| IR- spektrofotometrija              | Primarni i sekundarni produkti oksidacije |
| NMR (nuklearna magnetska rezonanca) | Hidroperoksidi i alkoholi                 |
| Fluorescencija                      | Karbonilni spojevi i ketoni               |
| Plinska kromatografija              | Hlapljivi spojevi                         |
| HPLC                                | Malonaldehidi i sekundarni produkti       |
| Indeks refrakcije                   | Primarni i sekundarni produkti oksidacije |
| Polarografija                       | Hidroperoksidi                            |
| Kulometrija                         | Hidroperoksidi                            |
| Kromatografija u koloni             | Polimeri, polarni spojevi                 |

### Kemijske metode

Za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja najčešće se koriste kemijske metode (**Tablica 7**). Određivanje peroksidnog broja, jedna je od najstarijih i najprimjenjivijih kemijskih metoda određivanja oksidacijske stabilnosti ulja. Primarni produkti oksidacije (peroksidi) određuju se peroksidnim brojem.

Najviše se primjenjuje metoda Lea i Wheeler-a koje su jodometrijske metode po kojima se određuje količina joda kojeg iz kalij-jodida oslobode peroksidi sadržani u ulju (Gunstone,



2004.). Osim toga, primjenjuju se i kolorimetrijske metode koje se temelje na oksidaciji željeza (II) soli u željezo (III) i mijenjanjem obojenja. Anisidinskim brojem (Abr) određuje se količina sekundarnih produkata, a temelji se na reakciji viših nezasićenih aldehida sa p-anisidinom u kiselom mediju. Nadalje, Totox brojem određuje se količina primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, na način da se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja.

$$OV \text{ (Totox broj)} = 2 \text{ Pbr} + \text{Abr}$$

- Pbr – peroksidni broj; Abr – anisidinski broj

**Tablica 7** Kemijske metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

| <b>Kemijske metode</b>                      | <b>Ispitivani parametar</b>                                 |
|---|---|
| Peroksidni broj (Pbr)                       | Peroksidi   |
| TBK test (broj)                             | Malonaldehidi   |
| Karbonilni broj                             | Svi spojevi sa karbonilnom grupom                           |
| Anisidinski broj (Abr)                      | Nehlapljivi karbonilni spojevi                              |
| Kreis test                                  | Epoksaldehidi i acetali                                     |
| Oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj | Ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije |

## **2.6. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA**

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Poznavanje održivosti veoma je važno, kako bi se unaprijed odredilo vrijeme tijekom kojeg se proizvodi mogu čuvati bez promjena kvalitete. Poznavanje

održivosti važno je i u definiranju roka trajanja ulja. Određivanje održivosti treba provesti oprezno i odgovorno zato što u uljima mogu biti prisutne komponente koje smanjuju održivost (slobodne masne kiseline, ioni metala i dr.) i komponente koje produžuju održivost (tokoferoli, karotenoidi, fenolne skupine i dr.). Održivost najviše ovisi o vrsti ulja, odnosno o sastavu masnih kiselina zato što se polinezasićene masne kiseline oksidiraju puno brže nego mononezasićene i zasićene masne kiseline.

Metode koje se primjenjuju za određivanje održivosti zasnivaju se na ubrzanoj oksidaciji ulja pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces. U praksi su najveću primjenu našle metode kod kojih se proces oksidacije ubrzava djelovanjem topline ili provjetravanjem. Ne postoji jedinstvena metoda pomoću koje bi se mogli dobiti ukupni podatci o oksidacijskim promjenama ulja. Zbog toga se koristi više metoda koje daju ukupne podatke, odnosno sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije. Za određivanje održivosti ulja najveću primjenu imaju sljedeće metode : Schaal-Oven test (Oven test), Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) i Rancimat test.

### 2.6.1. Schaal-Oven test

Jedan od najstarijih i najjednostavnijih testova za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja i masti je Oven test ili Schaal Oven test. Uzorci ulja se drže i zagrijavaju u sušioniku na konstantnoj temperaturi, 60 °C ili 63 °C, određeno vrijeme i svaka 24 sata se određuje vrijednost Pbr-a ili organoleptičke promjene uzorka (okus i miris). Za oksidacijsku stabilnost se uzima:

- vrijednost Pbr-a nakon određenog vremena trajanja testa (4 ili više dana);
- vrijeme u danima za koje Pbr ulja i masti dosegne određenu vrijednost;
- vrijeme u danima za koje se organoleptičkim ispitivanjima utvrdi pojava užeglosti (Dimić i Turkulov, 2000.).

### 2.6.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)

Metoda uključuje ravnomjerno upuhivanje zraka kroz uzorak ulja koji se održava na temperaturi 97,8 °C dok mu vrijednost Pbr-a ne dosegne razinu na kojoj počinje biti vidljivo

---

kvarenje. Ta razina je različita za svaku vrstu ulja. Održivost ulja poslije 8 sati AOM metode mora imati peroksidni broj manji od 5 mmol O<sub>2</sub>/kg.

### 2.6.3. Rancimat test

Rancimat test se temelji na ubrzanom kvarenju masti i ulja kod konstantne temperature 100 °C, 110 °C, 120 °C i konstantnog protoka zraka. Prva faza oksidacije se određuje prema povećanju udjela mravlje i drugih nižemolekularnih hlapljivih kiselina, koji su produkti oksidacije. One se uvode u destiliranu vodu kojoj se mijenjaju svojstva elektroprovodljivosti, što uređaj detektira i registrira, prateći tijek oksidacije. Vrijeme induksijske periode određeno na ovaj način označava se kao indeks održivosti ulja i masti pri određenoj temperaturi. Indukcijski period pokazuje koliko je ulje otporno prema oksidaciji, što je period duži (u satima), oksidacijska stabilnost odnosno održivost ulja je bolja (Čorbo, 2008.).

### 2.6.4. Test održivosti na 98 °C

Uzorci se drže u sušioniku na temperaturi 98 °C i svakih sat vremena se uzorci izvade i određuje se Pbr. Jedan sat provedbe testa održivosti na 98 °C odgovara 10 - 15 dana čuvanja ulja na sobnoj temperaturi. Test se može koristiti ukoliko nije originalna Swift aparatura, a postoji dobra korelacija između ovog testa i rezultata dobivenih AOM i Oven testa pri sobnoj temperaturi. Nedostatak ovog testa održivosti na 98 °C je zbog neodgovarajućih uvjeta procesa autooksidacije jer pri višim temperaturama proces oksidacije ulja nije isti kao što je na sobnoj temperaturi. Rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti ulja primjenom ovog testa pokazuju mogućnost korištenja za približno procjenjivanje održivosti ulja na sobnoj temperaturi (Moslavac, 2013.).



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### 3.1. ZADATAK

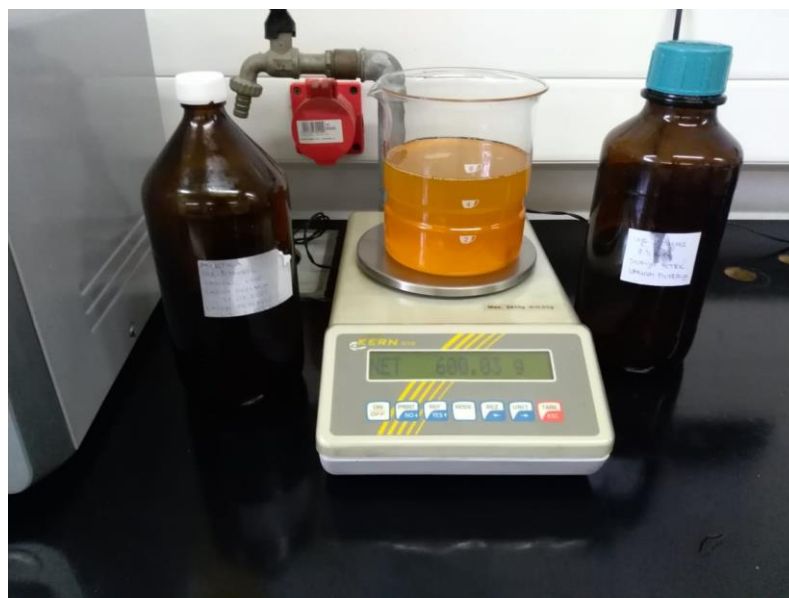
Zadatak diplomskog rada je ispitati utjecaj dodataka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i hladno prešanog lanenog ulja u omjeru 50 : 50. Od prirodnih antioksidanasa koristi će se ekstrakt kadulje, ekstrakt ružmarina (OxyLess CS), ekstrakt nara, mješavina tokoferola, eterično ulje konopljike, lavande, slatkog pelina, divlje mrkve i smilja te sintetski antioksidans propil galat. Određivanje oksidacijske stabilnosti mješavine ulja, s i bez dodatka antioksidansa, provest će se primjenom Schaal oven testa na temperaturi 63 °C. Rezultati testa prikazat će se vrijednostima peroksidnog broja tijekom određenog vremenskog perioda provedbe testa.

#### 3.2. MATERIJALI I METODE

##### 3.2.1. Materijali

###### Mješavina hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja

Mješavina hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja (**Slika 7**) u omjeru 50 : 50 dobivena je miješanjem ulja proizvedenih na kontinuiranoj pužnoj preši u studentskom laboratoriju za tehnologiju ulja i masti na PTF-u.



**Slika 7** Mješavina lješnjakovog ulja i lanenog ulja

#### **Antioksidansi**

Ispitivanje utjecaja dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost mješavine lješnjakovog ulja i lanenog ulja provedeno je primjenom prirodnih antioksidanasa (ekstrakt nara, ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less CS i ekstrakta kadulje, eterična ulja konopljike, lavande, slatkog pelina, divlje mrkve i smilja) te sintetskog antioksidansa propil galata (**Slika 8**)

#### **Ekstrakt ružmarina Oxy' Less CS**

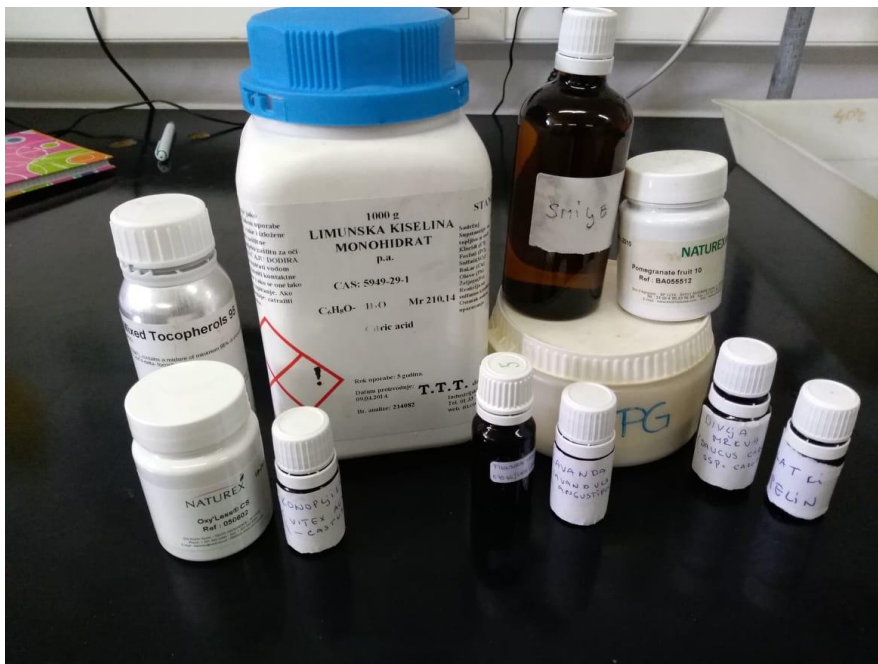
Oxyless CS je proizveden u Francuskoj, u firmi NATUREX. To je ekstrakt dobiven od listova ružmarina (*Romarinus officinalis* L.) i u praškastom je obliku. Udio karnosolne kiseline je 18 do 22 %, zaštitni faktor (PF) je veći od 12 %. Suha tvar ekstrakta je od 92 do 98%.

#### **Ekstrakt nara**

Ekstrakt nara dobiven je iz voća nara (*Punica granatum* L.). Sastav: prirodni ekstrakt, maltodekstrin. Nalazi se u praškastom obliku i topljiv je u vodi. Sadrži više od 10 % elagične kiseline, a udio suhog ekstrakta je veći od 95 %.

#### **Sinergisti**

Prirodnom antioksidansu ekstraktu ružmarina tip Oxy' Less CS dodan je i synergist limunska kiselina (**Slika 8**).



Slika 8 Prirodni i sintetski antioksidansi i sinergist limunska kiselina

### 3.2.2. Metode

#### 3.2.2.1 Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja

##### Peroksidni broj (Pbr) po Wheeleru

Peroksidni broj predstavlja indikator svježine odnosno užeglosti neke masti ili ulja. Čuvanjem masti i ulja pod utjecajem prooksidanasa (kisik iz zraka, toplina, svjetlost, tragovi metala) dolazi do vezivanja kisika na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina, te na taj način nastaju peroksidi. Nastaju u prvoj fazi kvarenja masti, tzv. indukcionom periodu, kada se još ne primjećuju organoleptičke promjene na mastima. Tijekom daljnje faze kvarenja – period aktivne oksidacije – peroksidi, tj. hidroperoksidi se razgrađuju i nastaju oksii i ketomasne kiseline, aldehidi i ketoni koji su nosioci neugodnog mirisa užeglih masti i ulja. Metoda određivanja se osniva na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalij jodida, koji se zatim određuje titracijom s otopinom Na tiosulfata. Peroksidni broj su mL 0,002M otopine natrij tiosulfata potrebnog za redukciju one količine joda koju oslobodi 1 g masti ili ulja iz kalij jodida.

Pbr se računa prema formuli:

$$\text{Pbr (mmol O}_2\text{/kg)} = (V_1 - V_0) * 5 / m$$



gdje su:

$V_1$  – volumen otopine 0,001 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utrošeno za uzorak ulja (mL);

$V_0$  – volumen otopine 0,001 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utrošeni za slijepu probu (mL);

m - masa uzorka ulja (g)



**Slika 9** Titracija uzorka sa  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

#### **Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)**

Masti i ulja osim masnih kiselina vezanih u triacilglicerole sadrže uvijek i određenu količinu slobodnih masnih kiselina. Udio slobodnih masnih kiselina u ulju ili masti ovisi o upotrijebljenoj sirovini, načinu dobivanja i uvjetima skladištenja te se može izraziti kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj,
- postotak oleinske kiseline.

Sve navedene vrijednosti mogu se dobiti istim postupkom određivanja, pa se mogu preračunati jedna u drugu.

KISELINSKI STUPANJ – mL 1M KOH (ili NaOH) potrebnog za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina u 100 g masti ili ulja, na isti način se određuje i postotak oleinske kiseline

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m$$

V- volumen utrošene otopine NaOH za titraciju uzorka (mL);

c- koncentracija otopine NaOH utrošenog za titraciju (0,1 mol/L);

M- molekularna masa oleinske kiseline (282 g/L);

m- masa uzorka (g).

#### **Udio vlage u ulju**

U prethodno osušenu, ohlađenu (u eksikatoru) i izvaganu posudicu s poklopcem izvagano je 5-10 g uzorka ulja. Uzorak je zatim stavljen u sušionik na temperaturu 103 °C pri čemu je posudica tijekom boravka u sušioniku bila otvorena. Nakon 2 h uzorak je u zatvorenoj posudici ohlađen u eksikatoru te izvagan. Navedeni postupak sušenja, hlađenja i vaganja je ponovljen sve dok gubitak mase između dva vaganja nije bio manji od 0,002 g.

Izračun:

$$\% \text{ vlage i isparljivih tvari} = m_1 - m_2 / m_1 - m_0 \cdot 100$$

$m_0$  – masa staklene posudice (g),

$m_1$  – masa staklene posudice i uzorka prije sušenja (g),

$m_2$  – masa staklene posudice i uzorka nakon sušenja (g).

#### Udio netopljivih nečistoća (NN)

U Erlenmyerovu tikvicu s brušenim grlom izvagano je 20 g uzorka te mu je dodano 100 mL n-heksana. Nakon toga je uzorak homogeniziran u začepljenoj Erlenmeyerovoj tikvici te ostavljen da stoji 30 minuta. Uzorak je potom filtriran vakuum filtracijom primjenom prethodno osušenog lijevka sa sinteriranim dnom na temperaturi 103 °C. Lijevak je poslije sušenja ohlađen u eksikatoru, a potom izvagan. Uzorak je filtriran na način da je ispran nekoliko puta sa otapalom do potrošnje 200 mL. Stakleni lijevak, na kojem je zaostao netopljivi talog, je potom osušen u sušioniku na temperaturi 103 °C te ohlađen i izvagan. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja ponovljen je nekoliko puta do pojave konstantne mase.

Izračun:

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

$m_0$  – masa uzorka (g),

$m_1$  – masa osušenog filter-lijevka (g),

$m_2$  – masa filter lijevka nakon sušenja s nečistoćama (g).

#### 3.2.2.2 Priprema uzorka ulja za analizu

Prije početka ispitivanja oksidacijske stabilnosti mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja u omjeru 50 : 50 odredi se osnovni parametar kvalitete kao što je vrijednost peroksidnog broja. Uzorci se pripremaju na način da se izvaže po 30 g ulja u svaku staklenu čašu i dodaju pojedinačno antioksidansi u točno određenim koncentracijama, te se pomiješa staklenim štapićem. Uzorci se zatim zagriju na temperaturu 70 °C do 80 °C (**Slika 10**) i na toj temperaturi se miješaju 30 minuta kako bi se antioksidans otopio, a zatim se uzorci ohlade na sobnu temperaturu. Uzorci u čašama prekriju se satnim stakalcem i stavljaju u sušionik (**Slika 11**) čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa i bez dodanih antioksidanasa.



Slika 10 Priprema uzorka ulja s dodatkom antioksidanasa



Slika 11 Uzorci u sušioniku

#### 3.2.2.3 Određivanje oksidacijske stabilnosti

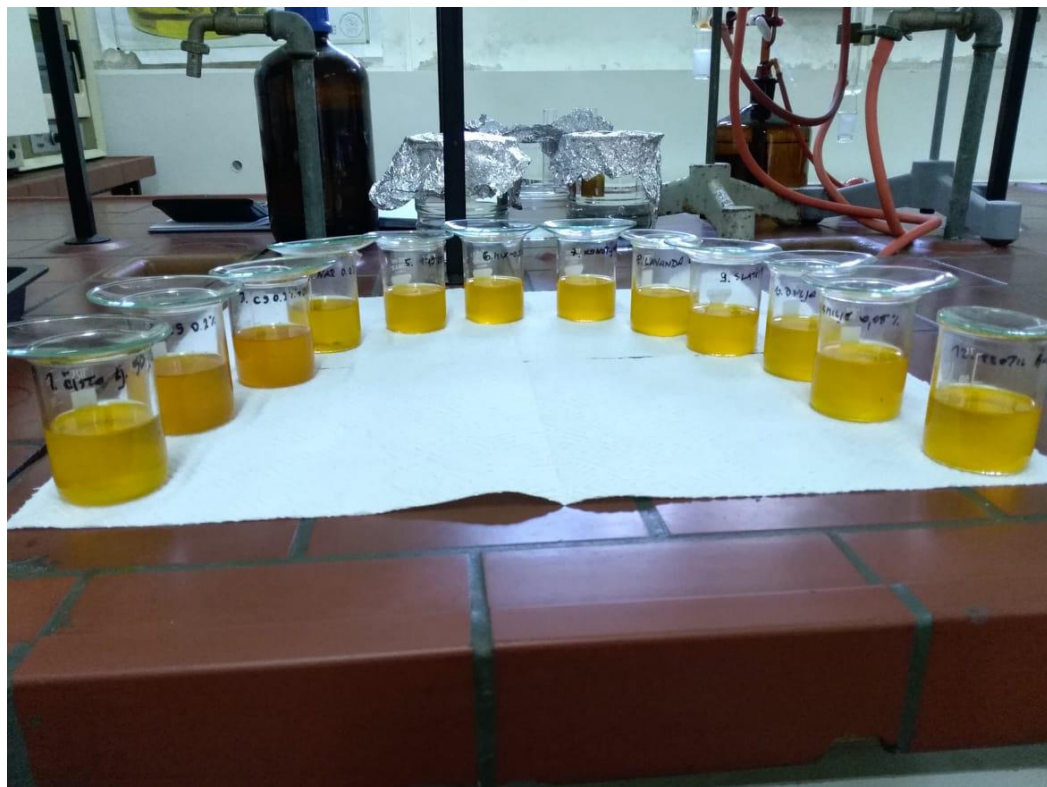
##### Oven test

Oven test proveden je na uzorku mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja u omjeru 50 : 50, te na uzorcima mješavine ulja kojima su dodani pojedini antioksidansi (prirodni i sintetski) te synergisti. Pripremljeni uzorci ulja zagrijavani su u sušioniku (Binder pri konstantnoj temperaturi 63 °C uz praćenje peroksidnog broja tijekom 4 dana. Uzokovanje ulja provodi se svakih 24 sata kako bi se odredio peroksidni broj. Prije uzorkovanja uzorci se moraju dobro homogenizirati staklenim štapićem. Nakon homogeniziranja se u pripremljene čašice odlije 3 do 5 g ulja, a uzorci s uljem se vrata u sušionik (**Slika 12**). Kada se temperatura izuzetog ulja spusti na sobnu temperaturu određuje se peroksidni broj. Rezultati Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O<sub>2</sub>/kg) nakon određenog vremena stajanja u termostatu pri temperaturi 63 °C odnosno tijekom 4 dana trajanja testa.



**Slika 12** Termostat (sušionik) za provedbu Oven testa zagrijavanje na 63 °C

Na **Slici 13** prikazani su uzorci ulja na kraju provedbe testa, nakon 4 dana. Uzorci sa ekstraktom ružmarina dobili su smečkastu nijansu boje i poprimili lagani miris ružmarina. Ostali uzorci su lagano zamućeni.



Slika 13 Uzorci ulja nakon provedbe Oven testa

## **4. REZULTATI**

Tablica 8 Osnovni parametri kvalitete ulja

| Uzorak                                   | Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg) | SMK (% oleinske kiseline) | Vlaga (%) | NN (%) |
|--|-------------------------------|---------------------------|-----------|--------|
| Hladno prešano lješnjakovo ulje          | 0                             | 0,34                      | 0,069     | 0,16   |
| Hladno prešano laneno ulje               | 0                             | 0,34                      | 0,069     | 0,099  |
| Mješavina ulja (50 % lješnjak: 50 % lan) | 0                             | 0,32                      | 0,069     | 0,13   |

Pbr – peroksidni broj, mmol O<sub>2</sub>/kg

SMK- slobodne masne kiseline (%)

NN- netopljive nečistoće (%)



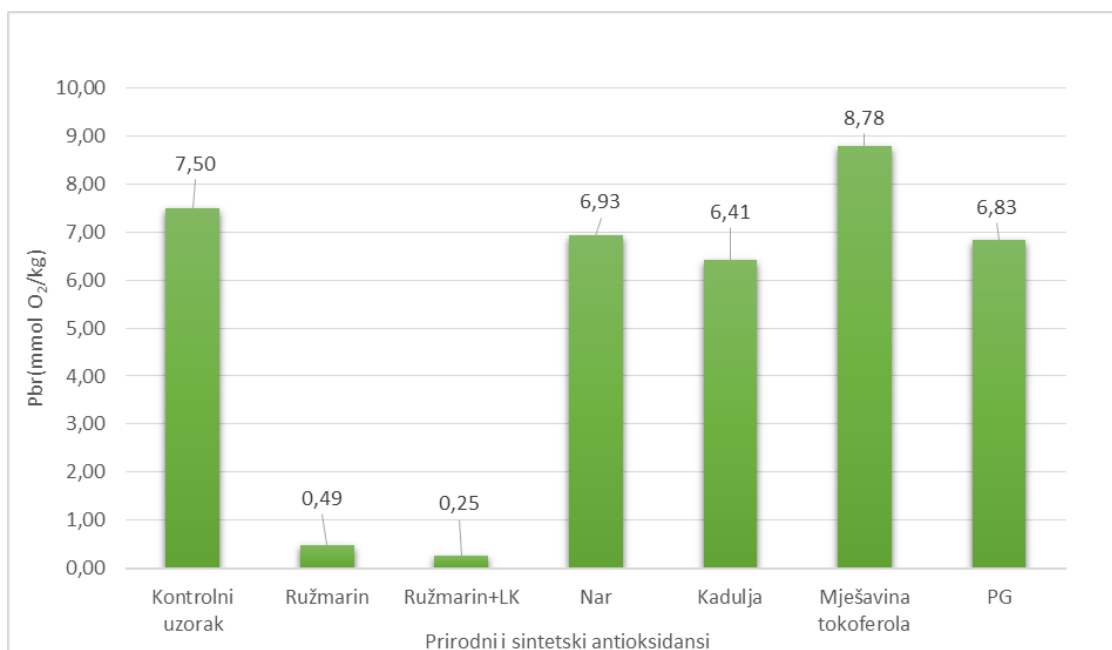
**Tablica 9** Oksidacijska stabilnost mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja, sa i bez dodanih antioksidanasa i sinergista, praćena Schaal Oven testom tijekom 4 dana

| Uzorak                                    | Udio antioksidanasa (%) | Udio sinergista (%) | Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg) |        |        |        |        |
|---|-------------------------|---------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|   |                         |                     | 0. dan                        | 1. dan | 2. dan | 3. dan | 4. dan |
| Mješavina ulja 50 : 50 (kontrolni uzorak) | 0                       | 0                   | 0                             | 1,23   | 2,44   | 4,95   | 7,50   |
| Ekstrakt ružmarina ( Oxy'Less CS)         | 0,2                     | 0                   |                               | 0      | 0,25   | 0,25   | 0,49   |
| Ekstrakt ružmarina ( Oxy'Less CS) + LK    | 0,2                     | 0,01                |                               | 0      | 0      | 0      | 0,25   |
| Ekstrakt nara                             | 0,2                     | 0                   |                               | 1,25   | 2,47   | 3,98   | 6,93   |
| Ekstrakt kadulje                          | 0,2                     | 0                   |                               | 0,99   | 3,43   | 4,48   | 6,41   |
| Mješavina tokoferola                      | 0,2                     | 0                   |                               | 1,49   | 4,46   | 6,37   | 8,78   |
| Propil galat                              | 0,01                    | 0                   |                               | 1,44   | 3,48   | 4,31   | 6,83   |

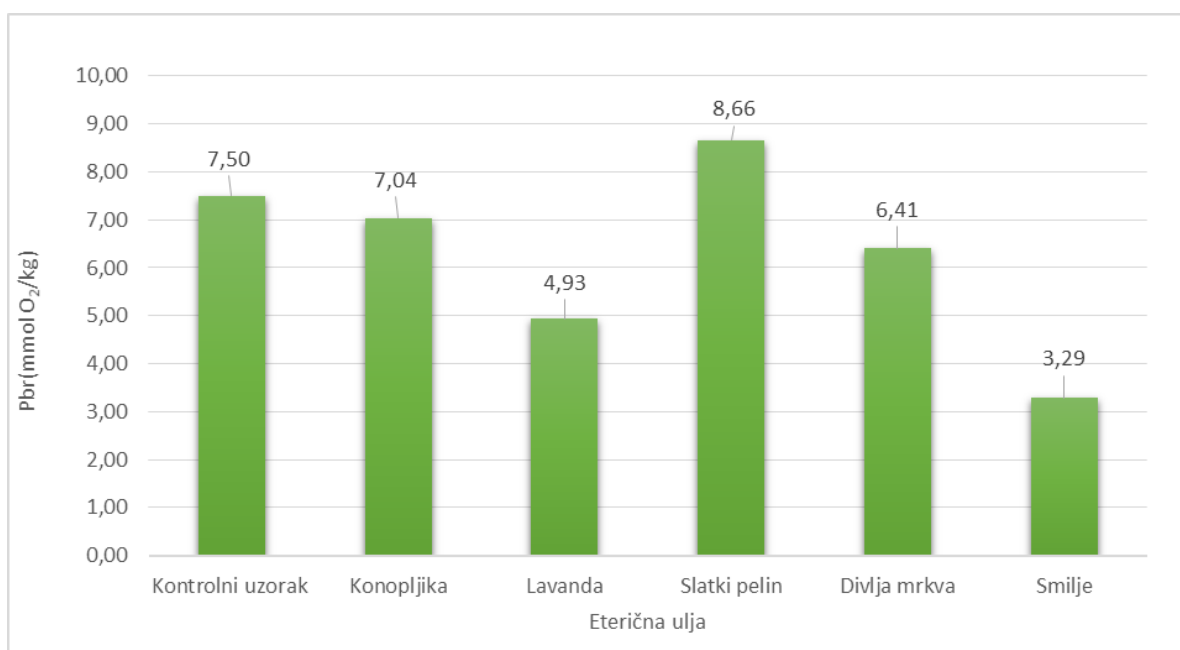
LK- limunska kiselina (sinergist)

**Tablica 10** Oksidacijska stabilnost mješavine hladno prešanog lješnjakovog ulja i lanenog ulja, sa dodanim eteričnim uljima, praćena Schaal Oven testom tijekom 4 dana

| Uzorak                                    | Udio antioksidanasa (%) | Udio sinergista (%) | Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg) |        |        |        |        |
|---|-------------------------|---------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|   |                         |                     | 0. dan                        | 1. dan | 2. dan | 3. dan | 4. dan |
| Mješavina ulja 50 : 50 (kontrolni uzorak) | 0                       | 0                   | 0                             | 1,23   | 2,44   | 4,95   | 7,50   |
| Eterično ulje konopljike                  | 0,05                    | 0                   |                               | 0,97   | 2,96   | 4,95   | 7,04   |
| Eterično ulje lavande                     | 0,05                    | 0                   |                               | 0,98   | 1,94   | 3,45   | 4,93   |
| Eterično ulje slatkog pelina              | 0,05                    | 0                   |                               | 0,98   | 2,96   | 5,42   | 8,66   |
| Eterično ulje divlje mrkve                | 0,05                    | 0                   |                               | 1,23   | 2,86   | 4,83   | 6,41   |
| Eterično ulje smilja                      | 0,05                    | 0                   |                               | 0,98   | 3,47   | 5,00   | 3,29   |



**Slika 14** Utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa te sinergista na stabilizaciju mješavine ulja nakon 4 dana Oven testa



**Slika 15** Utjecaj dodatka eteričnih ulja na stabilizaciju mješavine ulja nakon 4 dana Oven testa



## **5. RASPRAVA**

Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog lješnjakovog i lanenog ulja te njihove mješavine u omjeru 50 : 50 prikazani su u Tablici 8. Iz rezultata analiza peroksidnog broja (Pbr) i slobodnih masnih kiselina (SMK) vidljivo je da su ova ulja dobre kvalitete, vrijednosti parametara su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12).

U **Tablicama 9 i 10** i na **Slikama 14 i 15** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja dodataka prirodnih i sintetskih antioksidanasa te sinergista na promjenu oksidacijske stabilnosti mješavine lješnjakovog i lanenog ulja.

Mješavina ulja bez dodanog antioksidansa tijekom 4 dana Oven testa, na 63 °C, pokazuje određenu stabilnost tj. otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Tijekom testa dolazi postepeno do porasta peroksidnog broja (Pbr) ulja te je nakon 4 dana dobivena vrijednost 7,50 mmol O<sub>2</sub>/kg.

Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (tip Oxy'Less CS) u koncentraciji 0,2% u mješavinu ulja postignuta je najveća zaštita ulja od oksidacijskog kvarenja, nakon 4 dana testa vrijednost Pbr je najviša 0,49 mmol O<sub>2</sub>/kg. Ekstrakt kadulje pokazuje veću efikasnost zaštite mješavine ulja od oksidacijskog kvarenja (Pbr je nakon 4 dana 6,41 mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na primjenu ekstrakta nara gdje je Pbr 6,93 mmol O<sub>2</sub>/kg.

Korištenjem prirodnog antioksidansa mješavine tokoferola u mješavinu lješnjakovog i lanenog ulja nije se postigla zaštita ulja od oksidacijskog kvarenja. Nakon 4 dana testa dobivena je veća vrijednost Pbr (8,78 mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na mješavinu ulja bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak) što je vidljivo u **Tablici 9** i na **Slici 14**.

Primjenom sintetskog antioksidansa propil galata ostvarena je veća zaštita mješavine ulja od oksidacije u odnosu na ekstrakt nara, a manja zaštita od ekstrakta kadulje.

Dodatkom sinergista limunske kiseline (0,01 %) u kombinaciji sa ekstraktom ružmarina (0,2%) u mješavinu ulja dodatno je postignuta veća stabilizacija ulja od oksidacije nego primjena samo ekstrakta ružmarina.

Nakon testa je dobivena najniža vrijednost Pbr, a iznosila je 0,25 mmol O<sub>2</sub>/kg. U ovom slučaju ostvarena je duplo veća zaštita mješavine ulja s dodatkom limunske kiseline koji pokazuje efikasno sinergističko djelovanje s ekstraktom ružmarina.

Dodatkom ispitivanih eteričnih ulja (0,05 %) (**Tablica 10**) u funkciji stabilizacije mješavine lješnjakovog i lanenog ulja postignuta je zaštita ulja od oksidacijskog kvarenja osim kod primjene eteričnog ulja slatkog pelina.

Eterično ulje smilja u koncentraciji (0,05%) pokazuje veću razinu zaštite mješavine ulja od oksidacije u odnosu na druga eterična ulja. Nakon 4 dana testa dobivena je vrijednost Pbr 3,29 mmol O<sub>2</sub>/kg.

Primjena eteričnog ulja lavande dovodi do veće stabilizacije mješavine ulja u odnosu na eterično ulje divlje mrkve i konopljike (**Slika 15**).

Eterično ulje slatkog pelina pokazuje da nema antioksidacijsku aktivnost kod ove mješavine ulja, nakon 4 dana testa dobivena je veća vrijednost Pbr u odnosu na kontrolni uzorak.





## **6. ZAKLJUČCI**

Na temelju provedenog istraživanja utjecaja dodataka prirodnih i sintetskih antioksidanasa te sinergista na promjenu oksidacijske stabilnosti mješavine hladno prešanog lješnjakovog i lanenog ulja mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. Mješavina lješnjakovog i lanenog ulja je dobre kvalitete, osnovni parametri kvalitete Pbr i SMK su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima.
2. Dodatkom ekstrakta ružmarina (tip Oxy'Less CS) postignuta je najveća zaštita mješavine lješnjakovog i lanenog ulja od oksidacijskog kvarenja.
3. Ekstrakt kadulje pokazuje veću antioksidacijsku aktivnost u mješavini ovih ulja u odnosu na ekstrakt nara.
4. Primjenom limunske kiseline u kombinaciji s ekstraktom ružmarina ostvarena je dodatna stabilizacija mješavine ulja, nakon testa dobivena je najniža vrijednost Pbr.
5. Dodatkom eteričnog ulja smilja postignuta je veća razina zaštite mješavine ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na druga ispitivana ulja.
6. Eterično ulje lavande dovodi do veće stabilizacije mješavine ulja u odnosu na eterično ulje divlje mrkve i konopljike.
7. Eterično ulje slatkog pelina ne pokazuje utjecaj na stabilizaciju mješavine ulja.
8. Sintetski antioksidans propil galat ne pokazuje značajnu efikasnost zaštite ove mješavine ulja od oksidacijskog kvarenja.

## **7. LITERATURA**

Ahn JH, Kim YP, Seo EM, Choi YK, Kim HS: Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering* 84, 2008.

Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, McDonald S, Robards K: Methods for testing antioxidant activity. School of Science and Technology, Charles Sturt University, Wagga, 2001.

Bera D, Lahiri, D, Nag A: *Studies on a natural antioxidant for stabilisation of edible oil and comparasion with synthetic antioxidants*, Journal of Food Engineering, 2006.

Cvejanov S: *Prehrambena tehnologija*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 1997.

Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Univerzitetski udžbenik. Sarajevo, 2008.

Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2000.

Dimić, E: *Hladno ceđena ulja*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 88-91, 2005.

Frankel EN: *Lipid Oxidation*. The Oily Press, Dundee, 1998.

Gramza A, Khokhar S, Yoko S, Gliszczynska-Swiglo A, Hes M, Korczak J: Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *European Journal of Lipid Science and Technology* 108, 2006.

Gunstone FD: *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK, 2004.

Jašić M: *Kemija hrane – Lipidi*. Tehnološki fakultet, Tuzla, 2009. [21.12.2018.]

<https://www.tehnologijahrane.com/hemijahrane/lipidi>

Jokić S, Moslavac T, Aladić K, Bilić M, Ačkar Đ, Šubarić D: Hazelnut oil production using pressing and supercritical CO<sub>2</sub> extraction. *Hemijska Industrija* 70 (4):359-366, 2016.

Karleskind A: *Oils and fats Manual*, Intercept Ltd, Andover, Hampshire, UK, 1996.

Karlović, Đ., N.Andrić, *Kontrola kvaliteta semena uljarica*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Savezni zavod za standardizaciju- Beograd, 1996.

Klapec T: *Opasnosti vezane uz hranu, kemijske i fizikalne opasnosti*. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2018.

Mandić M: *Znanost o prehrani*, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Moslavac T: *Tehnologija ulja i masti*. Interna skripta. Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2013.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 41/12, 2012.

O'Brien RD: *Fats and Oils: Formulating and processing for Application*. CRC Press, Washington, 2004.

Odak I: *Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja konoplje*, diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, listopad, 2013.

Oštrić – Matijašević, B, Turkulov, J: *Tehnologija ulja i masti*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1980.

Pan Y, Zhang X, Wang H, Liang Y, Zhu J, Li H, Zhang Z, Wu Q: *Antioxidant potential of ethanolic extract of Polygonum cuspidatum and application in peanut oil*. Food Chemistry 105, 2007.

Rac, M: *Ulja i masti*, Privredni pregled, Beograd, 1964.

Rade D, Mokrovčak Ž, Štrucelj D: *Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida*. Durieux, Zagreb, 2001.

Rade D., Škevin D: *Maslinovo ulje i zdravlje – važnost maslinovog ulja u prehrani*. *Popularni stručni članci iz područja PBN-a*, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, 2004.

Sadadinović J, Mičević S, Đonlagić N, Topčagić R, Berbić Z: *Praćenje oksidacione stabilnosti masti, maslaca i kravljeg masla diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC)*. Mljekarstvo 55 (3), 2005.

Shahidi F: *Natural antioxidants: an overview*. In *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*. Ed. Shahidi F, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1997.

Shi H, Noguchi N, Niki E: Introducing naturale antioxidants. U Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 147-158, 2001.

Sikorski ZE: Chemical and functional properties of food componensts. CRC Press, USA, 2003.

Stanković, V., Petrović, R: *Biološka i produktivna svojstva perspektivnih linija konzumnog i uljanog lana*, 39. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Zbornik radova, pp. 279-282, Budva, 1998.

Swern, D: *Industrijski proizvodi ulja i masti po Baileyu*, Znanje, Zagreb, 1972.

Thomas MJ: *The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working?* Critical Reviewers in Food Science and Nutrition 35 (1/2), 1995.

Valasco, L., Goffman, F.D: *Tocopherol and fatty acid patterns in the genus Linum Plant*, Syst. Evol. 221: 77-88, 2000.

Vaughan JG: *The Structure and utilization of oil seeds*. Champanand Hall Ltd, London, 1977.

Volmut K: *Utjecaj propil galata i ekstrakta ružmarina na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja*. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, svibanj, 2010.

Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. U Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.

Web 1: <http://zir.nsk.hr> [21.12.2018.]

Web 2: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega-3+masne+kiseline> [21.12.2018.]

Web 3: <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/lijeska-13/> [21.12.2018.]

Web 4: <https://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/lan-85/> [21.12.2018.]

Web 5. [https://hr.wikipedia.org/wiki/Pravi\\_lan](https://hr.wikipedia.org/wiki/Pravi_lan) [21.12.2018.]

Web 6. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Tocopherol> [21.12.2018.]

Wetherilt H, Pala M: *Compositions of hazelnuts and possible implications on health*, paper in press.

Wiley, J. & Sons: Baileys industrial oil & fat products, Edited by Y. H. Hui, Volume 2, *Edible oils and fat products: Oils and oil seeds*, Fifth Edition, Inc., New York, 1996.

Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. U *Antioxidants in food*. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.

Yanishlieva NV, Marinova, EM: *Stabilisation of edible oils with natural antioxidants*, European Journal of Lipid Science and Technology 103, 2001.