

# Utjecaj dodatka antioksidansa na održivost ulja noćurka

---

**Dundović, Silvija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*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:109:631099>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-04-03**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

*Repository / Repozitorij:*

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



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

Silvija Dundović

**UTJECAJ DODATKA ANTIOKSIDANSA NA ODRŽIVOST ULJA NOĆURKA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2020.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za prehrambeno inženjerstvo  
Franje Kuhača 18, 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 VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 25. lipnja. 2020.

**Mentor:** prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*

**Pomoć pri izradi:** *Daniela Paulik*, tehnički suradnik

### Utjecaj dodatka antioksidansa na održivost ulja noćurka

*Silvija Dundović, 0113137778*

#### Sažetak:

Ulje noćurka se proizvodi iz sjemenki biljke *Oenothera biennis L.*, u kojima je sadržaj ulja oko 24 %. Bogato je polinezasićenim masnim kiselinama koje imaju protuupalni učinak, pa se ulje noćurka koristi pri liječenju bolesti poput psorijaze, alergija i dr. U ovom ispitivanju određena je oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja noćurka sa i bez dodatka antioksidanasa. Procesi oksidacije ulja se ne mogu spriječiti, ali se mogu usporiti primjenom antioksidanasa koji su reducirajuće tvari, a mogu biti prirodni i sintetski. Održivost ulja noćurka prikazana je kroz peroksidni broj tijekom četiri dana provedbe Schaal Oven testa. Korišteni su prirodni antioksidansi: ekstrakt ružmarina, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka, ružmarinska kiselina, kofeinska kiselina,  $\alpha$ -tokoferol i mješavina tokoferola te sintetski antioksidans tercijarni butilhidrokinon. Također, određeni su osnovni parametri kvalitete ulja noćurka: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, udio vlage i netopljive nečistoće. Rezultati pokazuju da je najveći učinak zaštite ulja noćurka od oksidacijskog kvarenja postignut dodatkom mješavine prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina i kofeinske kiseline.

**Ključne riječi:** ulje noćurka, oksidacijska stabilnost, Schaal Oven test, antioksidansi

**Rad sadrži:** 47 stranica  
10 slika  
10 tablica  
44 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

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

**Datum obrane:** 11. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Food Technology**  
**Subdepartment of Food Engineering**  
Franje Kuhača 18, 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. VIII. held on June 25, 2020

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

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

### The influence of antioxidants on the shelf life of evening primrose seed oil

*Silvija Dundović*, 0113137778

#### Summary:

Evening primrose oil is produced from the seeds of the plant *Oenothera biennis* L. and the oil content is about 24%. Polyunsaturated fatty acids contained in *Oenothera biennis* oil have anti-inflammatory effects, so evening primrose oil is used in the treatment of diseases such as psoriasis, allergies, etc. In this study, the oxidative stability of cold pressed evening primrose oil was determined with and without the addition of antioxidants. The oil oxidation processes cannot be prevented, but may be slowed down by an antioxidant, which can be natural and synthetic. The viability of evening primrose oil is presented through peroxide value in the four days of the Schaal Oven test. Natural antioxidants that were used: rosemary extract, green tea extract, extract of winter savory, Frankovka grape seed extract, rosemary acid, caffeic acid,  $\alpha$ -tocopherol and a mixture of tocopherols and the synthetic antioxidant tertiary butylhydroquinone. Also, the basic parameters of evening primrose oil quality were determined: peroxide value, free fatty acids, moisture content and insoluble impurities. The results showed that the best effect of protection from oxidative spoilage of evening primrose oil has been achieved by the adding a mixture of natural antioxidants rosemary extract and caffeic acid.

**Key words:** evening primrose oil, oxidative stability, Schaal Oven test, antioxidants

**Thesis contains:** 47 pages  
10 figures  
10 tables  
44 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

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

**Defense date:** September 11, 2020

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. SASTAV MASTI I ULJA .....	4
2.1.1. Triacilgliceroli .....	5
2.1.2. Masne kiseline .....	6
2.1.3. Negliceridni sastojci .....	9
2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA .....	10
2.2.1. Ulje noćurka .....	12
2.3. VRSTE KVARENJA ULJA I MASTI .....	14
2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi .....	14
2.3.2. Kemijski procesi .....	15
2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA .....	17
2.4.1. Antioksidansi .....	18
2.4.1.1. Mehanizam djelovanja .....	18
2.4.1.2. Vrste antioksidanasa .....	19
2.4.2. Sinergisti .....	22
2.4.3. Prooksidansi .....	22
2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA .....	23
2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA .....	26
2.6.1. Schaal Oven test .....	26
2.6.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) .....	27
2.6.3. Rancimat test .....	27
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	28
3.1. ZADATAK .....	29
3.2. MATERIJALI I METODE .....	29
3.2.1. Materijali .....	29
3.2.2. Metode .....	31
3.2.2.1. Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja .....	31
3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal Oven testom .....	33
4. REZULTATI .....	35
5. RASPRAVA .....	38
6. ZAKLJUČCI .....	41
7. LITERATURA .....	43

## Popis oznaka, kratica i simbola

EMK	Esencijalne masne kiseline
NMK	Nezasićene masne kiseline
ZMK	Zasićene masne kiseline
SMK	Slobodne masne kiseline
R°	Slobodni radikal masne kiseline
ROO°	Slobodni radikal peroksida
BHA	Butil hidroksianisol
BHT	Butil hidroksitoluen
PG	Propil galat
OG	Oktil galat
TBHQ	Tercijrani butilhidrokinon
Pbr	Peroksidni broj
OV	Oksidacijska vrijednost
Abr	Anisidinski broj
TB	Tiobarbiturni broj
KI	Kalij jodid
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Natrijev tiosulfat

## **1. UVOD**

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja je važno svojstvo biljnih ulja, a predstavlja vrijeme kroz koje se ulje može sačuvati od autooksidacije. Proces oksidacije ulja i masti rezultira pojavom užeglosti, smanjenjem kvalitete i senzorskih svojstava biljnih ulja. Autooksidacijski procesi se mogu usporiti dodatkom antioksidanasa, koji mogu biti prirodni i sintetski. Održivost ulja se najčešće određuje pomoću Schaal Oven testa, Swift testa i Rancimat testa. Ove metode se zasnivaju na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja.

Ulje noćurka je prirodni izvor  $\gamma$ -linolenske kiseline. Ovo ulje se najčešće koristi kao dodatak prehrani pri liječenju raznih bolesti, kao što je hipertenzija i psorijaza.

Zadatak ovog rada je bio ispitati utjecaj dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja noćurka. Prirodni antioksidansi korišteni prilikom ovog ispitivanja su: ekstrakt ružmarina (StabilEnhance®OSR), ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka, ružmarinska kiselina, kofeinska kiselina,  $\alpha$ -tokoferol i mješavina tokoferola. Od sintetskih antioksidansa korišten je samo TBHQ (tercijarni butilhidrokinon). Oksidacijska stabilnost ulja je praćena tijekom četiri dana Schaal Oven testom.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. SASTAV MASTI I ULJA

Masti i ulja su organski spojevi, koji mogu biti biljnog i životinjskog podrijetla, netopljivi su u vodi, dok su topljivi u organskim otapalima: alkoholu, eteru, heksanu, kloroformu i dr. (Sikorski, 2003).

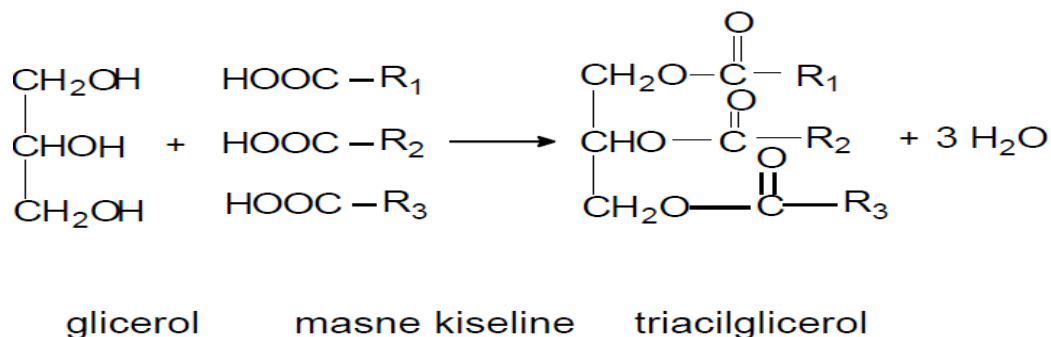
Premda su masti i ulja po kemijskom sastavu slični, imaju različita fizikalna svojstva. Ulja su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju zbog većeg sadržaja nezasićenih masnih kiselina (NMK), dok su masti na sobnoj temperaturi u čvrstom agregatnom stanju i sadrže više zasićenih masnih kiselina (ZMK) (Grün, 2004).

Masti i ulja pripadaju skupini spojeva pod zajedničkim nazivom lipidi (grč. lipos-masti). Lipidi se dijele na jednostavne lipide, složene lipide i derivate lipida (Birdi, 1989).

Kemijski sastav masti i ulja čine: triacilgliceroli, masne kiseline i negliceridni sastojci (Čorbo, 2008).

### Jednostavni lipidi

Sastav jednostavnih lipida čine masne kiseline i alkohol glicerol, te se mogu hidrolizirati na dvije sastavne jedinice, većinom su to alkohol i kiselina. Među jednostavne lipide ubrajaju se acilgliceroli, eteri acilglicerola, steroli i njihovi esteri te voskovi. **Slika 1** prikazuje reakciju između masnih kiselina i glicerola prilikom čega nastaje triacilglicerol. Triacilgliceroli produkti su jedne molekule alkohola glicerola i tri molekule masnih kiselina. Masne kiseline predstavljaju reaktivni dio molekule triacilglicerola i pritom imaju značajan utjecaj na kemijska i fizikalna svojstva triacilglicerida (Swern, 1972).

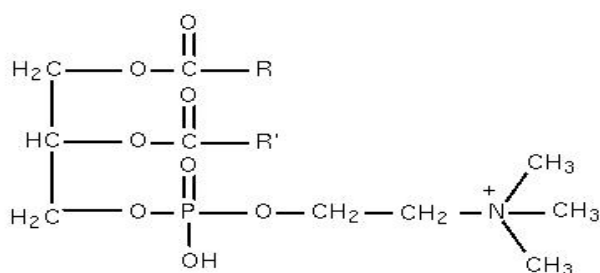


**Slika 1** Reakcija nastajanja triacilglicerola (Web 1.)

## Složeni lipidi

Hidrolizom složenih lipida nastaju tri ili više produkata, kao što su derivati fosforne kiseline, tj. fosfolipidi, potom glikolipidi, aminolipidi i sulfolipidi (Odak, 2013).

Najviše su zastupljeni fosfolipidi, a definiraju se kao esteri alkohola glicerola, gdje su prve dvije hidroksilne skupine esterificirane s masnom kiselinom, a treća hidroksilna skupina fosforom kiselinom. Na reaktivnu grupu fosforne kiseline vezana je neka organska skupina, amino-alkohol ili šećerna komponenta (Hoffmann, 1989). **Slika 2** prikazuje strukturu lecitina, kao jednog od značajnijih fosfolipida.



**Slika 2** Struktura fosfolipida (lecitin) (Jašić, 2009).

## Derivati lipida

Derivati lipida predstavljaju spojeve koji nastaju hidrolizom jednostavnih i složenih lipida. U ovu skupinu lipida ubrajaju se masne kiseline, alkoholi (steroli), vitamini D, E i K te ugljikovodici (karoteni). Dok se pigmenti, sapuni, oksidacijski polimeri, termalni polimeri i lipoproteini svrstavaju u ostale vrste lipida (Odak, 2013).

### 2.1.1. Triacilgliceroli

Alkohol glicerol sastoji se od tri hidroksilne (-OH) skupine. Jednostavni triacilgliceroli nastaju vezanjem tri iste masne kiseline na glicerol u mastima i uljima, a vezanjem tri različite masne kiseline na glicerol nastaju mješoviti triacilgliceroli. Kada je riječ o prirodnim mastima i uljima, to označava smjesu estera glicerola u čijem su sastavu prisutne jedna, dvije ili tri masne kiseline (Pine, 1994).

Veći udio mase u molekuli triacilglicerola zauzimaju masne kiseline i predstavljaju reaktivni dio molekule, zbog čega imaju veliki utjecaj na svojstva triacilglicerola. S obzirom na to, kemijska i fizikalna svojstva triacilglicerola ovise o kemijskim i fizikalnim svojstvima masnih kiselina (Volmut, 2010).

### 2.1.2. Masne kiseline

Masne kiseline su obično nerazgranate molekule, u čijem sastavu mogu biti 14 - 22 atoma ugljika (Pine, 1994).

Opća formula masnih kiselina je R-COOH, gdje je R ugljikovodični lanac, a COOH je karboksilna skupina (Swern, 1972).

Podjela masnih kiselina:

a) Prema broju ugljikovih atoma

- masne kiseline kratkog lanca (do 8 ugljikovih atoma),
- masne kiseline srednjeg lanca (8 – 12 ugljikovih atoma),
- masne kiseline dugačkog lanca (više od 12 ugljikovih atoma).

b) Prema stupnju nezasićenosti

- zasićene,
- nezasićene (mononezasićene imaju jednu dvostruku vezu, dok polinezasićene imaju od 2 do 6 dvostrukih veza).

c) Prema prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko dvostruke veze

- *cis* –oblik,
- *trans* – oblik (Čorbo, 2008).

#### Zasićene masne kiseline (ZMK)

Zasićene masne kiseline karakterizira ravan lanac, gdje su ugljikovi atomi povezani jednostrukim vezama, a na svakom ugljikovom atomu se nalazi povezan atom vodika (Scrimgeour, 2005). Najznačajnije zasićene masne kiseline prikazane su u **Tablici 1**.

Zasićene masne kiseline s većim brojem ugljikovih atoma, odnosno dužim ugljikovodičnim lancem, na sobnoj temperaturi imaju teksturu koja je slična voskovima, dok zasićene masne kiseline s manjim brojem ugljikovih atoma imaju rjeđu konzistenciju, pa čak i tekuću. Povećanjem broja ugljikovih atoma povećava se točka topljenja, vrelište i refrakcijski indeks.

Nasuprot tome, povećavanjem dužine lanca gustoća se smanjuje. Također, topljivost u vodi se smanjuje povećanjem broja ugljikovih atoma (Hoffmann, 1989).

**Tablica 1** Najvažnije zasićene masne kiseline (Čorbo, 2008).

Broj C atoma	Naziv masne kiseline
4	Maslačna
6	Karbonska
8	Kaprilna
10	Karpinska
12	Laurinska
14	Miristinska
16	Palmitinska
18	Stearinska
20	Arahinska
22	Behenska
24	Lignocerinska
26	Cerotinska

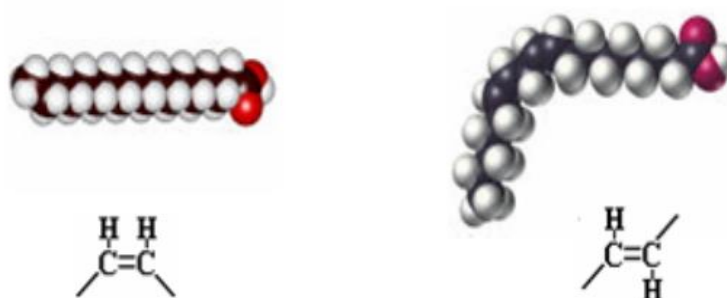
### **Nezasićene masne kiseline (NMK)**

Nezasićene masne kiseline prevladavaju u uljima, te imaju 18 ugljikovih atoma s jednom, dvije ili tri dvostruke veze. Zbog dvostrukih veza koje su prisutne u lancima masnih kiselina, biljna ulja kao što su maslinovo, sojino, suncokretovo, repičino i druga su na sobnoj temperaturi u tekućem stanju, a poznato je da prisutnost dvostrukih veza smanjuje točku topljenja (Rade i Škevin, 2004). Najznačajnije nezasićene masne kiseline prikazane su u

**Tablici 2.**

Dva su geometrijska izomerna oblika u kojima se mogu pojaviti nezasićene masne kiseline, što ovisi o poziciji vodikovih atoma koji su povezani za dvostruku vezu. Navedeni izomerni oblici su *cis* i *trans* (Slika 3). Karakterizira ih isti kemijski sastav, a različita fizikalna svojstva zbog razlike u konfiguraciji. *Trans* masne kiseline topljive su pri višim temperaturama, dok su *cis* masne kiseline pri sobnoj temperaturi u tekućem stanju (Hoffmann, 1989).

U *cis* obliku se nalaze prirodne nezasićene masne kiseline, a tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije ulja nastaju *trans* nezasićene masne kiseline (O'Brien, 2004).



Slika 3 Oblici *cis* i *trans* dvostruke veze (Jašić, 2009).

Tablica 2 Najvažnije nezasićene masne kiseline prisutne u uljima i mastima (Čorbo, 2008).

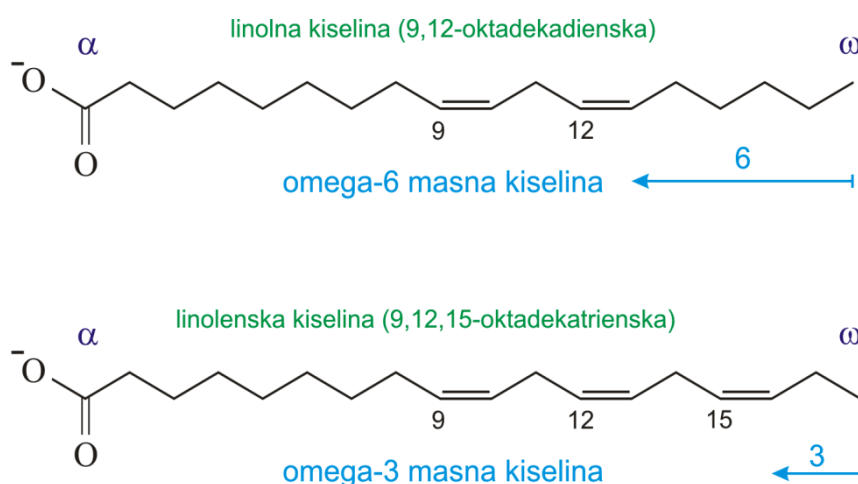
Naziv masne kiseline	Broj C atoma:broj dvostrukih veza	Formula	Izvor
Palmitoleinska	16:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Maslac biljne masti
Oleinska	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Biljne i životinjske masti
Eladinska	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Hidrogenirane masti
Eruka	22:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	Ulja sjemenki krstašica
Linolna	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Biljne i životinjske masti
Linolenska	18:3	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ulje lana, soje, konoplje i oraha
Arahidonska	20:4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\cdot\text{COOH}$	Mozak, riblja jetra i drugi životinjski organi
Klupandonska	22:5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}_2\text{COOH}$	Riblja ulja

### Esencijalne masne kiseline (EMK)

Esencijalne masne kiseline pripadaju skupini polinezasićenih masnih kiselina, a sastoje se od 18, 20 i 22 ugljikovih atoma te imaju dvije do šest dvostrukih veza u *cis* obliku u lancu masne kiseline. Masne kiseline sa više dvostrukih veza, kao što su linolna i linolenska ne mogu se sintetizirati u organizmu pa se nazivaju esencijalnim sastojcima hrane (Odak, 2013).

Esencijalne masne kiseline (linolna, linolenska i arahidonska) od iznimnog su značaja za pravilan rast i razvoj svih živućih organizama. Linolna kiselina se još naziva i omega-6 masnom kiselinom, jer ima prvu dvostruku vezu između 6. i 7. ugljikovog atoma. Dok linolenska ima dvostruku vezu između 3. i 4. ugljikovog atoma i pripada omega-3 masnim kiselinama (Čorbo, 2008). Struktura ovih dviju esencijalnih masnih kiselina prikazana je na

Slici 4.



Slika 4 Strukturna formula linolne i linolenske masne kiseline (Web 2.)

#### 2.1.3. Negliceridni sastojci

Negliceridni sastojci su vrlo važne komponente biljnih ulja i životinjskih masti, a prisutni su u koncentraciji od 1 do 3,5 %. Svaki negliceridni sastojak nema jednaku važnost u uljima i mastima. Pojedini sastojci su od iznimne važnosti i potrebno ih je sačuvati prilikom prerade. Naime, neki negliceridni sastojci loše utječu na kvalitetu ulja i masti, pa ih je potrebno ukloniti u pojedinim fazama rafinacije (Čorbo 2008).

Negliceridni sastojci ulja i masti su:

- karotenoidi,

- liposolubilni vitamini A,D,E i K,
- steroli,
- fosfolipidi,
- pigmenti,
- voskovi,
- glikozidi,
- ugljikovodici,
- masni alkoholi,
- aldehidi i ketoni,
- tragovi metala (Čorbo, 2008).

## **2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA**

Za proizvodnju ulja isključivo se uzgajaju biljke uljarice. Veliki broj biljaka sadrži masti i ulja u plodu ili sjemenu, gdje sadržaj ulja može biti do 70 %, dok se u nekim biljkama ulje nalazi u tragovima (Dimić, 2005).

Više od 20 vrsta biljaka koristi se za proizvodnju biljnih ulja, naime samo njih 12 ima veći ekonomski značaj. Ulja se mogu podijeliti u skupine prema dijelu biljke koji se preša i prema podrijetlu:

a) Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda:

- palmino ulje,
- maslinovo ulje,
- ulje avokada i sl.

b) Ulja i masti iz sjemena i ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:

- laurinske masti i ulja (kokos, palmine koštice,...),
- masti palmitinske i stearinske kiseline (kakaov maslac, shea maslac,...),
- ulje palmitinske kiseline (palmino i pamukovo ulje),



- ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranike, kukuruzne klice, bučine koštice, repice,...) i
- ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, *Camelina sativa* L., ...).

c) Ulja prema podrijetlu biljke:

- ulja iz leguminoza (ulje kikirikija i soje) i
- ulja krstašica (repica, gorušica) (Bockish, 1998).

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19), ovisno o primijenjenom tehnološkom postupku u proizvodnji, biljna ulja se dijele na sljedeće skupine:

- rafinirana ulja,
- hladno prešana ulja i
- djevičanska ulja.

Rafinirana ulja predstavljaju proizvode koji su dobiveni rafinacijom jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja, a stavljaju se na tržište pod nazivima:

- "ulje" uz koje stoji naziv biljne vrste za ulja dobivena rafinacijom samo jedne vrste sirovih biljnih ulja,
- "biljno ulje" za ulje koje je proizvedeno rafinacijom jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja.

Hladno prešana ulja se proizvode mehaničkim postupcima, bez primjene topline, kao što je prešanje. Također se mogu primijeniti postupci čišćenja, odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Djevičanska ulja kao i hladno prešana ulja proizvode se mehaničkim postupcima, poput prešanja, ali uz primjenu topline. Postupak čišćenja, tj. bistrenja može se provesti pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

### 2.2.1. Ulje noćurka

Noćurak (*Oenothera biennis* L.) je biljka iz porodice pupoljki (*Onagraceae*). Rod *Oenothera* L. ima oko 145 vrsta, a rastu u umjerenim i suptropskim područjima Sjeverne i Južne Amerike. Neke vrste su se prilagodile novim područjima, tako da je sada u Europi prisutno oko 70 vrsta (Timoszuk i sur., 2018).

Noćurak je dvogodišnja biljka uspravne stabljike koja može narasti do visine 2 m, ima korijen koji je mesnat, čvrst i dug. Sjemenke klijaju ljeti ili u jesen i daju listove koji su ružičaste boje, dok se u drugoj godini razvija uspravna stabljika. Cvjetovi su žute boje (**Slika 5**) i otvaraju se u sumrak, gdje ostaju otvoreni do jutra, a ponekad i duže ako je oblačan dan. Sjemenke su dugačke od 1,3 do 1,6 mm, nepravilnog oblika, crvenkasto-smeđe boje i nalaze se u plodu (Steckel i sur., 2019).



**Slika 5** Noćurak (Web 3.)

Sjemenke noćurka (**Slika 6**) u svom sastavu imaju oko 15 % proteina, 24 % masti i 43 % celuloze, uključujući i lignin. Od masnih kiselina su najviše zastupljene linolna kiselina (65-80 %) i linolenska kiselina (7-14 %, ne uključujući  $\alpha$ - linolensku) (Hudson, 1984).



**Slika 6** Sjemenke noćurka

Ulje noćurka karakterizira visoki udio polinezasićenih masnih kiselina, a također je jedan od rijetkih prirodnih izvora  $\gamma$ -linolenske kisline. Polinezasićene masne kiseline u ulju noćurka imaju antioksidativno i protuuplano djelovanje. Zato se koristi u prehrambenoj industriji kao dodatak prehrani, koji pomaže u liječenju bolesti poput hipertenzije, alergija, psorijaze ili raka. Također se koristi u kozmetičkoj industriji, kao sastojak sapuna i losiona za tijelo (Paciorek-Sadowska i sur., 2018). Najznačajnije masne kiseline prisutne u ulju noćurka prikazane su u **Tablici 3**.

**Tablica 3** Masne kiseline u ulju noćurka (Timoszuk i sur., 2018)

Masna kiselina	Udio u ulju (%)
linolna kiselina	73,88 $\pm$ 0,09
$\gamma$ - linolenska kiselina	9,24 $\pm$ 0,05
oleinska kiselina	6,93 $\pm$ 0,02
palmitinska kiselina	6,31 $\pm$ 0,14
stearinska kiselina	1,88 $\pm$ 0,02
vakcenska kiselina	0,81 $\pm$ 0,03
eikosenska kiselina	0,55 $\pm$ 0,01
eikozanska kiselina	0,31 $\pm$ 0,03
behenska kiselina	0,10 $\pm$ 0,01

## 2.3. VRSTE KVARENJA ULJA I MASTI

Ulja i masti karakterizira ograničena trajnost, nakon koje nastupaju promjene koje nisu poželjne, to se odnosi na masnoće koje mogu biti sastavni dio sirovine ili nekog prehrambenog proizvoda. Stupanj kvarenja masti ovisi o vrsti sirovine, kemijskom sastavu, uvjetima prerade i skladištenju. Uslijed kvarenja dolazi do promjene organoleptičkih svojstava i nutritivne vrijednosti masti. Kvarenjem masti dolazi do gubitka biološki aktivnih komponenti, primjerice esencijalnih masnih kiselina, provitamina, vitamina i drugih sastojaka, također nastaju razgradni produkti koji daju neugodan okus i miris masti (Čorbo, 2008).

Prema utjecaju koji uzrokuje kvarenje ulja i masti, procesi kvarenja mogu se podijeliti na:

a) Enzimske i mikrobiološke procese:

- hidrolitička razgradnja,
- $\beta$ -ketooksidacija.

b) Kemijske procese:

- autooksidacija,
- termooksidacijske promjene i
- reverzija (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

### 2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Da bi došlo do procesa kvarenja ulja potrebni su odgovarajući uvjeti, kao što su voda, određena pH sredina i dr., također potrebna je prisutnost enzima ili mikroorganizama. Enzimski procesi su tipični za ulja i masti u sirovinama. Tijekom disanja sjemena dolazi do oslobađanja topline, što dovodi do povišenja temperature i povećanja aktivnost autohtonih enzima, zbog toga je nužno pravilno skladištenje sjemenki i plodova uljarica (Rade i sur., 2001).

#### Hidrolitička razgradnja

Lipolitički enzimi u prisutnosti vode dovode do hidrolitičke razgradnje triacilglicerola, prilikom čega dolazi do oslobađanja molekula masnih kiselina i glicerola, što dovodi do

povećanja udjela slobodnih masnih kiselina (SMK) u ulju. Za aktivnost enzima lipaze optimalna je temperatura od 45 °C. Temperatura do 55 °C dovodi do ubrzanja enzimskog procesa, dok temperature iznad 80 °C i ispod -20 °C inaktiviraju enzim. Hidrolitička razgradnja je tipična za ulja i masti u sirovinama, maslacu, margarinu, masnom tkivu životinja te u mesnim i mliječnim proizvodima s većim udjelom vode. Produkti ovog tipa kvarenja su ketoni i zaslužni su za neugodan miris i okus masti, odnosno kisel i sapunast (Čorbo, 2008).

### **β-ketooksidacija**

Ovoj vrsti kvarenja podliježu masti koje sadrže masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca. Za β-ketooksidaciju zaslužne su gljivice roda *Aspergillus* i *Penicillium*, te bakterije *Bacillus subtilis*. Neugodan miris i okus, tzv. „miris užglosti“ karakterističan je za ovu vrstu kvarenja, također dolazi do mijenjanja boje masti, zbog nekih vrsta mikroorganizama koji djeluju na stvaranje pigmenata (žutog, crvenog, plavo-zelenog). Suzbijanjem uvjeta za razvoj mikroorganizama može se spriječiti β-ketooksidacija, a to se postiže primjenom pasterizacije, sterilizacije, povećanjem pH vrijednosti do 5 te dodatkom aditiva, tj. konzervansa (Čorbo, 2008).

## **2.3.2. Kemijski procesi**

### **Autooksidacija masti**

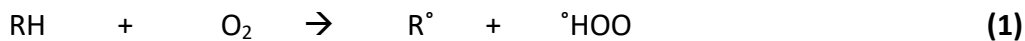
Autooksidacija je vrsta kvarenja kojoj podliježu biljna ulja i prehrambeni proizvodi koji ih sadrže. Proces oksidacije se odvija pod utjecajem kisika iz zraka na dvostruke veze u lancu nezasićene masne kiseline. Brzina oksidacije ovisi o sastavu ulja, uvjetima čuvanja ulja i prisutnosti sastojaka koji utječu na ubrzavanje ili usporavanje oksidacije (Shahidi, 1997).

Autooksidacija masti je lančana reakcija u kojoj dolazi do stvaranja slobodnih radikala kroz više faza:

- tijekom inicijacije (prva faza) dolazi do djelovanje kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline (RH) i nastanka slobodnih radikala ( $R^\bullet$ ),
- u propagaciji (druga faza) kisik se veže na slobodne radikale masne kiseline ( $R^\bullet$ ) i pri tome nastaju hidroperoksidi (ROOH) i slobodni radikali peroksida ( $ROO^\bullet$ ). Hidroperoksidi su primarni produkti oksidacije te podliježu reakcijama razgradnje pod utjecajem temperature na slobodne radikale i razgradne produkte oksidacije (Čorbo, 2008).

Tijek autooksidacije ulja kroz tri faze **(1)** (Čorbo, 2008):

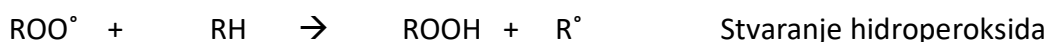
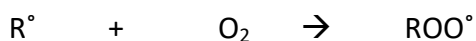
Početak reakcije:



masna kiselina

slobodni radikali

Tijek reakcije:



slobodni  
radikal

masna  
kiselina

hidroperoksid



hidroperoksid

slobodni radikal



Razgradnja hidroperoksida

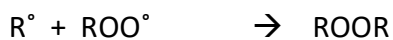


slobodni  
radikal

masna  
kiselina

slobodni radikal

Završetak reakcije:



Finalni produkt oksidacije



međusobne reakcije  
slobodnih radikala

polimeri

Razgradnjom hidroperoksida nastaju brojni sekundarni produkti oksidacije, kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, epoksidi i dr. te daju neugodan okus i miris masti

već pri vrlo malim količinama. Mast koja je oksidirala može biti toksična, jer prilikom oksidacije gubi esencijalne masne kiseline, vitamine i provitamine (Čorbo, 2008).

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

Prilikom zagrijavanja masti na temperaturama iznad 150 °C uz prisutnost zraka i vodene pare dolazi do termooksidacijskih promjena, a nastali spojevi mogu biti štetni za zdravlje potrošača. Produkti termooksidacije masti su polimeri triacilglicerola, oksipolimeri, cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina. Termooksidacija je vrlo brza kod ulja koja sadrže veći udio nezasićenih masnih kiselina, pogotovo linolne, više od 50 %, također takva ulja više nisu prikladna za korištenje tijekom prženja nakon 10 do 20 sati zagrijavanja na temperaturama od 170 °C do 180 °C (Chang i sur., 1978).

Termooksidacija utječe na promjenu izgleda i sastava ulja, kao što su tamna boja i porast viskoznosti. Neka od fizikalnih svojstva se mijenjaju tijekom prženja, primjerice indeks refrakcije, specifična težina, viskoznost i boja po Lovibondu, također dolazi do porasta udjela SMK, broja osapunjenja i peroksidnog broja (Tyagi i Vasistha, 1996).

### **Reverzija**

Reverzija se javlja kod nekih biljnih ulja nakon kraćeg vremena čuvanja, karakterizira ju neugodan miris na sirovinu ribu, koji postaje izraženiji prilikom zagrijavanja ulja. Kako bi došlo do usporavanja reverzije ulja primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja, tj. uklanjanje linolenske kiseline ili dodatak aditiva, tj. povećavanje održivosti ulja (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980).

## **2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA**

Vrijeme kroz koje se biljno ulje može očuvati od autooksidacije definira se kao oksidacijska stabilnost. Poznavanje održivosti ulja je ključno u definiranju vremena za koje se ulje može očuvati od veće oksidacije te za utvrđivanje roka trajanja ulja. Oksidacijska stabilnost biljnih ulja zavisi o vrsti ulja (sastavu masnih kiselina) i već prisutnim prirodnim antioksidansima u ulju (Moslavac i Vuković, 2013).

### 2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi kao reducirajuće tvari već u vrlo malim koncentracijama sprječavaju ili usporavaju proces oksidacije i povećavaju održivost ulja za tri do šest puta (Yanishlieva i Marinova, 2001).

Antioksidansi koji se primjenjuju u prehrani moraju ispuniti određene kriterije:

- otapanje u mastima i uljima,
- djelovanje u vrlo malim koncentracijama (0,001 – 0,02 %),
- ne smiju uzrokovati stran okus, miris i boju ulja,
- djeluju antioksidacijski i na proizvod u čijem sastavu je mast, a ne samo na mast,
- moraju biti cjenovno prihvatljivi,
- mogućnost jednostavne identifikacije i određivanja u proizvodu (Čorbo, 2008).

Antioksidansi povećavaju oksidacijsku stabilnost ne samo masti i ulja nego i proizvodima koji ih sadrže. Iznimno je važno dodati antioksidans svježoj masti niskog peroksidnog broja, jer ako je mast već oksidirala ne može se regenerirati dodatkom antioksidansa (Čorbo, 2008).

#### 2.4.1.1. Mehanizam djelovanja

Reakcije sprječavanja oksidacije ulja uz pomoć antioksidanta (Koprinjak, 2006):

##### 1. reakcija - Inaktivacija slobodnih radikala **(2)**

Antioksidans daje vodik koji se veže na slobodni radikal peroksida ( $\text{ROO}^\circ$ ) ili radikal masne kiseline ( $\text{R}^\circ$ ):



##### 2. reakcija – Hvatanje slobodnih radikala **(3)**

Slobodni radikal antioksidansa ( $\text{A}^\circ$ ) veže se na slobodni radikal ( $\text{R}^\circ$ ):



Zaštitnim faktorom (PF) prikazuje se učinkovitost antioksidansa, odnosno koliko se puta povećala oksidacijska stabilnost ulja dodatkom određenog tipa antioksidansa, prema izrazu **(4)** (Yanishlieva i Marinova, 2001):



$$PF = IP_{inh}/IP_0 \quad (4)$$

$IP_{inh}$  = induksijskih period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa [h],

$IP_0$  = induksijski period uzorka ulja bez dodatka antioksidansa [h].

Indukcijski period (IP) predstavlja broj sati koji je potreban da ulje dostigne peroksidni broj od 5 mmol  $O_2$ /kg. Povećanjem koncentracije antioksidansa dolazi do povećanja održivosti ulja. Naime, određeni antioksidansi u većoj količini djeluju suprotno, prooksidativno, te dovode do ubrzane oksidacije ulja (Volumut, 2010).

#### 2.4.1.2. Vrste antioksidanasa

Danas je poznat veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa. Najpoznatiji prirodni antioksidansi su tokoferoli, potom vrste antioksidanasa koje su dobivene iz začina (ekstrakti), kao što je kadulja, a izrazito ružmarin, koji se primjenjuje kod biljnih ulja i životinjskih masti. Prirodne antioksidanse karakterizira jako antioksidacijsko djelovanje i održavanje na višim temperatura (98 – 194 °C). Danas korišteni sintetski antioksidansi su butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propil galat (PG), butil galat (BG), oktil galat (OG) te dodecil galat (DG). Najčešće se dodaju u koncentraciji od 0,01 do 0,02 % (Čorbo, 2008).

##### a) Prirodni antioksidansi

Prirodni antioksidansi pripadaju različitim skupinama spojeva kao što su aminokiseline i dipeptidi, hidrolizati proteina, proteini topljivi u vodi, fosolipidi, anorganske soli, tokoferoli i njihovi derivati, karotenoidi te askorbinska kiselina (Wijerante i sur., 2006).

##### Tokoferoli

Tokoferoli su prirodni antioksidansi, visoko molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola koji se pojavljuju kao neosapunjivi sastojci u prirodnim uljima i mastima, posebice biljnog podrijetla. U prirodi postoji osam tokoferola koji se razlikuju po svojem biološkom i antioksidacijskom učinku. Najznačajniji tokoferoli su:  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol i  $\delta$ -tokoferol (Volmut, 2010).

$\alpha$  – tokoferol se ističe svojim vitaminskim djelovanjem, poznat je pod nazivom vitamin E te se razgrađuje pri višim temperaturama i pod utjecajem UV svjetlosti, dok najbolje antioksidacijsko djelovanje pokazuju  $\gamma$ -tokoferol i  $\delta$ -tokoferol (Shahidi, 2000).

Biljna ulja predstavljaju prirodan izvor tokoferola, naime njihov udio ovisi o vrsti i uvjetima uzgoja sirovine te uvjetima procesiranja i skladištenja ulja (Schuler, 1990). U **Tablici 4** prikazan je udio određenih tokoferola u različitim vrstama ulja.

**Tablica 4** Udio određenih tokoferola u različitim vrstama ulja izražen u ppm (Gunstone, 2008).

Vrsta ulja	$\alpha$ (ppm)	$\beta$ (ppm)	$\gamma$ (ppm)	$\delta$ (ppm)
Repičino ulje	179	0	415	10
Palmino ulje	190	0	0	0
Sojino ulje	120	10	160	190
Suncokretovo ulje	610	10	30	10

### Lecitin

Prvi prirodni spoj koji je bio predložen kao antioksidans je lecitin, a definira se kao smjesa različiti fosfolipida. Biljni lecitin čine fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin i fosfatidilinozitol. Fosfolipidi povećavaju gubitke i otežavaju proces rafinacije, pa se izdvajaju iz ulja prije rafinacije. Upravo zbog navedenoga su sirova ulja znatno stabilnija od rafiniranih ulja. Lecitin s drugim vrstama antioksidanasa ima sinergističko djelovanje. Najbolje sinergističko djelovanje pokazuje sa askrotil palmitatom i tokoferolom (Rade i sur., 2001).

### Ekstrakt ružmarina

Ekstrakt ružmarina ima izraženo antioksidacijsko djelovanje i često se koristi kao antioksidans u prehrambenoj industriji. U njegovom sastavu su najznačajnije karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina. Ovi spojevi prekidaju oksidaciju tako da doniraju vodik slobodnim radikalima (Škevin, 2003).

U odnosu na druge antioksidanse, kao što su  $\alpha$ -tokoferol, askrotil palmitat i limunska kiselina, ekstrakt ružmarina pokazuje znatno bolji antioksidacijski učinak. Do povećanja antioksidacijskog djelovanja dolazi kombinacijom ružmarina sa askrotil palmitatom i limunskom kiselinom, dok sa  $\alpha$ -tokoferolom ima negativano sinergističko djelovanje (Hraš i sur., 2000).

### Ekstrakt zelenog čaja

Ovaj prirodni antioksidans ima veliku učinkovitost u uljima i mastima. Za antioksidacijsko djelovanje su zaslužni katehini, koji se nalaze u sastavu polifenola prisutnih u zelenom čaju. Među najistaknutijim katehinima su: (-)-epigalokatehin-3-galat, (-)-epigalokatehin, (-)-epikatehin-3-galat, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin i (+)-katehin (Madhavi i sur., 1995).

### b) Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi se primjenjuju za oksidacijsku stabilizaciju masti, ulja i proizvoda koji ih sadrže. Kategoriziraju se pod aditive, jer nisu prirodan sastojak hrane, nego su proizvedeni kemijskim putem (Volmut, 2010). Prikaz fizikalnih svojstava određenih sintetskih antioksidanasa nalazi se u **Tablici 5**.

BHA (E320) ima bolje antioksidacijsko djelovanje u mastima životinjskog podrijetla nego biljnim uljima. BHT (E321) učinkovit je pri usporavanju oksidacije životinjskih masti. Ova dva sintetska antioksidansa imaju i sinergističko djelovanje te se njihova kombinacija upotrebljava za neke vrste komercijalnih antioksidanasa. BHT je stabilniji pri povišenoj temperaturi od BHA. PG (E310) se razgrađuje na visokim temperatura pa nije prikladan za upotrebu kod prženja ulja. Tercijarni butilhidrokinon (TBHQ, E319) preporučuje se za stabilizaciju sirovih i jestivih biljnih ulja, pogotovo suncokretovog (Volmut, 2010).

**Tablica 5** Fizikalna svojstva određenih sintetskih antioksidanasa (Wanasundara i Shahidi, 2005).

Svojstva	BHA	BHT	DG	PG	TBHQ
Izgled	Čvrst kao vosak	Bijeli kristal	Bijeli kristal	Bijeli kristal	Bjelkasto-žučkasto-smeđi kristali
Vrelište (°C)	264-270	265	-	Razgrađuje se iznad 148	300
Talište (°C)	50-52	69-70	146-148	146-148	126-128
Kukuruzno ulje	30	30	0	0	5-10
Glicerol	1	0	-	25	<1
Svinjska mast	30-40	50	-	1	5-10
Voda	0	0	<1	<1	<1
Sinergizam	BHT, galati	BHA	BHA	BHA	-

### 2.4.2. Sinergisti

Sinergisti se opisuju kao kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko svojstvo, ali produžuju djelovanje antioksidanasa do tri puta. Kiseline (limunska, askorbinska, vinska, octena) i lecitin su najčešći sinergisti koji se dodaju antioksidansima u koncentraciji od 0,005 do 0,02 % (Čorbo, 2008).

Sinergisti djeluju na nekoliko načina:

- vežu ione metala i inaktiviraju ih te sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
- povežu se s radikalom antioksidansa i zaustavljaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida,
- radikalu antioksidansa daju atom vodika, regeneriraju ga i produžuju njegovu trajnost (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

### 2.4.3. Prooksidansi

Faktori koji ubrzavaju autooksidativne procese nazivaju se prooksidansi, to su temperatura, svjetlost i tragovi metala (Cu, Fe, Ni i dr.) (Čorbo, 2008).

#### Temperatura

Autooksidativni procesi se ubrzavaju porastom temperature, dok njezinim sniženjem dolazi do usporavanja. Autooksidacija se ubrzava do 300 puta na temperaturi od 100 °C, što ovisi o količini prisutnog kisika. Oksidacijsko kvarenje se ne može spriječiti, ali se može usporiti skladištenjem na niskoj temperaturi. Masti i ulja se preporučuje skladištiti u tamnim i hladnim prostorima na temperaturi od 0 do 4 °C, gdje se mogu čuvati duže vrijeme bez da se pokvare (Čorbo, 2008).

#### Svjetlost

Pod utjecajem svjetlosti reakcije oksidacije su ubrzane, bez obzira na valnu duljinu svjetlosti. Naime, kraće valne duljine svjetlosti (<380 nm) dovode do znatno većeg ubrzavanja oksidacije, jer pogoduju autooksidaciju i razgradnju hidroperoksida (Volumut, 2010).

Stoga se čuvanje masti i ulja preporučuju u tamnoj ambalaži, kako ne bi bilo izloženo dnevnoj svjetlosti (Čorbo, 2008).

### **Tragovi metala**

Ioni metala prisutni u malim količinama imaju prooksidacijski učinak, ali samo kod već nastalih hidroperoksida, prilikom čega dolazi do oksidacije iona metala i stvaranja slobodnog radikala. Naime, prooksidacijski učinak pojedinih metala nije isti, što se može vidjeti po intenzitetu djelovanja navedenih metala:  $Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al$  (Volmut, 2010).

### **2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA**

Stupnjem oksidacije određuje se kvaliteta, upotrebljivost u prehrani i previđeni rok trajanja masti i ulja. Za određivanje stupnja oksidacije koristi se veći broj metoda, ali niti jedna metoda nije sveobuhvatna, pa se obično upotrebljava više metoda, kako bi se dobio što precizniji uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena (Čorbo, 2008).

Metode pomoću kojih se određuje stupanj oksidacijskih promjena masti i ulja dijele se u sljedeće grupe:

1. Senzorske metode,
2. Kemijske metode,
3. Fizikalne metode (Volmut, 2010).

#### **Senzorske metode**

Ova metoda ispitivanja stupnja oksidacijskih promjena temelji se na utvrđivanju užeglog mirisa i okusa ulja koji je nastao uslijed prisutnosti razgradnih, sekundarnih produkata oksidacije. Razna istraživanja su ukazivala na zamjenu senzorske metode s plinskom kromatografijom zbog brzine i jednostavnosti, iako je senzorska metoda dobar pokazatelj oksidacijskog stupnja ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

#### **Kemijske metode**

Prikaz najčešćih kemijskih metoda za određivanje stupnja oksidacije ulja nalazi se u **Tablici 6**.

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

Kemijska metoda	Ispitivani parametar
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	$OV=2Pbr + Abr$ , ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije

Količina primarnih produkata oksidacije ulja, hidroperoksida i peroksida, određuje se peroksidnim brojem. Za određivanje se najčešće primjenjuju jodometrijske metode Lea i Weeler-a. Ovim metodama se utvrđuje količina joda iz kalij-jodida kojega oslobode peroksidi sadržani u uljima i mastima (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Dimić i Turkulov, 2000; Rade i sur., 2001).

Peroksidni broj se može određivati i pomoću kolorimetrijske metode, koja se zasniva na oksidaciji željezo (II) soli u željezo (III), tj. fero oblika soli u feri oblik, međutim oksidacija dovodi do obojenja čiji se intenzitet onda mjeri (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Rade i sur., 2001).

Pomoću tiobarbiturnog broja (TB) određuje se stupanj oksidacije ulja s obzirom na količinu sekundarnih produkata koji su nastali oksidacijom. Tiobarbiturni broj je kolorimetrijska metoda gdje dolazi do mjerenja intenziteta ružičaste boje pri 532 nm. Reakcijom između tiobarbiturne kiseline i malonaldehida, sekundarnog produkta oksidacija dolazi do nastanka ružičaste boje (Rade i sur., 2001).

Ansidinski broj (Abr) se najviše primjenjuje za određivanje kvalitete sirovih i jestivih ulja, a njegovo ispitivanje se zasniva na reakciji *p*-anisidina s višim nezasićenim aldehydima kao što su 2,4-dienal i 2-enal u kiseloj sredini. Iz vrijednosti za Pbr i Abr izračunava se oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj, koja daje dobar pregled količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Rade i sur., 2001).

### Fizikalne metode

U **Tablici 7** nalazi se prikaz najznačajnijih fizikalnih metoda za određivanje stupnja oksidacije ulja.

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

Fizikalna metoda	Ispitivani parametar
UV – spektrofotometrija	Konjugirani dieni/trieni
IR spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nukl. magn. rezonanca)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi) 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

Primarni produkti oksidacije, konjugirani dieni i konjugirani hidroperoksidi pokazuju apsorpcijski maksimum na 232 nm, dok sekundarni (konjugirani trieni, aldehidi i ketoni) na 270 nm. Ulja imaju veći stupnja oksidacije što su vrijednosti pri 232 i 270 nm veće. Odnos ove dvije vrijednosti apsorpcije je R-vrijednost **(5)** i predstavlja dobar izvor podataka za procjenjivanje oksidacijske kvalitete ulja. Ulje je lošije kvalitete što je R-vrijednost niža (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

$$R\text{-vrijednost} = A_{232\text{ nm}}/A_{270\text{ nm}} \quad (5)$$

$A_{232\text{ nm}}$  – apsorpcija pri 232 nm,

$A_{270\text{ nm}}$  – apsorpcija pri 270 nm.

Plinska kromatografija se najviše primjenjuje za određivanje oksidacijskih promjena na nezasićenim masnim kiselinama. Ova se metoda pokazala dobra za praćenje oksidacije čistih ulja i masti, dok u kompleksnim lipidnim sustavima nije toliko uspješna. Primjenjuje se za određivanje hlapljivih spojeva koji nastaju oksidacijskim procesima u ulju, primjerice aldehida (Rade i sur., 2001).

Promjena indeksa refrakcije također se koristi za praćenje promjena koje su nastale oksidacijom, jer konjugirani dieni hidroperoksida i polimeri dovode do povećanja indeksa refrakcije (Rade i sur., 2001).

## 2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost predstavlja vrijeme za koje se ulja i masti mogu očuvati od oksidacije. Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja je važno kako bi se unaprijed odredilo vrijeme tijekom kojeg se ulje može skladištiti bez značajnih promjena kvalitete. Metode za određivanje održivosti ulja (**Tablica 8**) temelje se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja (Volmut, 2010).

**Tablica 8** Analitičke metode za određivanje oksidacijske stabilnosti masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000).

Analitička metoda	Ispitivani parametar
Oven test	Peroksidi, promjene senzorskih svojstava (okus i miris)
AOM test (Active Oxygen Method) ili Swift test	Peroksidi
Rancimat test	Niže molekularne kiseline, provodljivost
Metoda apsorpcije kisika	Apsorbirani kisik
Test na bazi fluorescentnog svjetla	Peroksidi, senzorske promjene

### 2.6.1. Schaal Oven test

Schal Oven test ili Oven test je jedna od starijih metoda koja se koristi za određivanje održivosti ulja, a zasniva se na ubrzanoj oksidaciji pod utjecajem povišene temperature. Metoda se provodi zagrijavanjem uzoraka ulja u sušioniku pri temperaturi 63 °C i praćenjem porasta peroksidnog broja ili senzorskih promjena uslijed oksidacije u određenom vremenskom rasponu (Moslavac i Vuković, 2013).

Rezultati Oven testa mogu se prikazati kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena (jestiva ulja se obično drže 4 dana pri temperaturi od 63 °C),
- broj dana za koji se postiže određena vrijednost peroksidnog broja,
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užeglosti pomoću senzorskog ispitivanja (Dimić i Turkulov, 2000).



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

Ova analitička metoda se temelji na zagrijavanju uzorka ulja zrakom u Swift aparatu na temperaturu od 98 °C. U jednakim vremenskim intervalima uzimaju se uzorci ulja i određuje se peroksidni broj. U većini slučajeva oksidacijska stabilnost ulja se određuje do vrijednosti peroksidnog broja od 5 mmol O<sub>2</sub>/kg. Pod pojmom kvalitetno ulje se smatraju ulja koja imaju dobru stabilnost nakon 8 sati provedbe ovog testa i peroksidni broj manji od 5 mmol O<sub>2</sub>/kg (Rade i sur., 2001).

U slučaju nedostatka Swift aparature može se primijeniti test održivosti na 98 °C, jer pokazuje dobru korelaciju sa Swift testom. Kod testa održivosti na 98 °C, uzorak ulja se zagrijava u sušioniku na 98°C te se potom određuje peroksidni broj (Volmut, 2010).

### **2.6.3. Rancimat test**

Rancimat test se zasniva na zagrijavanju i propuhivanju zraka u uzorak ulja. Pod tim uvjetima nastale kratkolančane hlapljive organske kiseline uvode se u deioniziranu vodu i konduktometrijski se prati porast vodljivosti. Vrijeme potrebno za postizanje naglog porasta vodljivosti u ovisnosti o nastalim hlapljivim kiselinama definira se vremenom indukcije, a koje se označava kao mjera stabilnosti masti ili ulja (Mendez i sur., 1996).

Ulje pokazuje bolju oksidacijsku stabilnost što je vrijeme indukcije, izraženo u satima duže (Läubli i Bruttel, 1986).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada je bio ispitati oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja noćurka i utjecaj dodatka antioksidanasa (prirodnih, sintetskih) na promjenu održivosti ulja. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja noćurka određena je Oven testom na temperaturi od 63 °C kroz četiri dana. Pomoću ove metode praćena je vrijednost Pbr, te promjene senzorskih svojstava ispitivanih uzoraka ulja noćurka s i bez dodanog pojedinog antioksidansa. Prije određivanja oksidacijske stabilnosti ispitivanog ulja noćurka pomoću standardnih metoda određeni su osnovni parametri kvalitete biljnih ulja: Pbr, SMK, udio vlage i udio netopljivih nečistoća.

### 3.2. MATERIJALI I METODE

#### 3.2.1. Materijali

##### Ulje noćurka

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti korišteno je hladno prešano ulje noćurka, koje je dobiveno prešanjem sjemenki noćurka na laboratorijskoj kontinuiranoj preši prikazanoj na **Slici 7**. Na proizvedenom sirovom ulju provedeno je prirodno taloženje (sedimentacija) te vakuum filtracija, da bi se uklonile netopljive, krute čestice zaostale iz sjemenke.



**Slika 7** Laboratorijska pužna preša

## Antioksidansi

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja noćurka korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi. Od prirodnih antioksidanasa korišteni su: ekstrakt ružmarina (StabilEnhance®OSR), ružmarinska kiselina, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, kofeinska kiselina,  $\alpha$ -tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt koštica grožđa sorte Frankovke, a od sintetskih antioksidans TBHQ.

### 1. Ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance®OSR

StabilEnhance®OSR je prirodni ekstrakt ružmarina u tekućoj formulaciji, udjela karnosolne kiseline 5 %. Proizvođač je firma NATUREX, Francuska. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,25 % računato na masu ulja.

### 2. Ružmarinska kiselina

Ružmarinska kiselina je prirodni antioksidans, u praškastom obliku, proizvođača Alfa Aesar. U ispitivanju je upotrijebljena u udjelu od 0,1 % računato na masu ulja.

### 3. Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenoga čaja dobiven je iz listova zelenog čaja (*Camellia sinensis L.*). Udjel kofeina je manji od 0,5 %, a udjel ukupnih polifenola je veći od 98 %. U sastavu polifenola se nalaze katehini čiji je udjel veći od 80 %, od kojih epigalokatehin galat (EGCG) ima udjel veći od 45 %. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,25 % računato na masu ulja.

### 4. Ekstrakt rtanjskog čaja

Ekstrakt rtanjskog čaja je dobiven destilacijom cvjetnih vrhova rtanjskog čaja *Satureja Montana L.* U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,25 % računato na masu ulja.

### 5. Kofeinska kiselina

Kofeinska kiselina je prirodni antioksidans u praškastom obliku, proizvođača Sigma. U ispitivanju je upotrijebljena u udjelu od 0,1 i 0,01 % računato na masu ulja.

### 6. $\alpha$ -tokoferol

$\alpha$ -tokoferol, poznat i pod nazivom vitamin E, prirodni je antioksidans i stabilizator ulja. Dolazi u obliku viskozne žućkaste tekućine, proizvođača KEMIG d.o.o., Donja Zelina. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,1 % računato na masu ulja.

## 7. Mješavina tokoferola

Mješavinu tokoferola čine  $\alpha$ -tokoferol (do 15 %),  $\beta$ -tokoferol (< 5 %),  $\gamma$ -tokoferol (55-75 %) i  $\delta$ -tokoferol (20-30 %). Dolazi u obliku viskozne tekućine žute do crveno-smeđe boje, proizvođača DMS, Sjedinjene Američke Države. U ispitivanju je upotrijebljena u udjelu od 0,1 % računato na masu ulja.

## 8. Ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka

Ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovke je snažan prirodni antioksidans. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,25 % računato na masu ulja.

## 9. TBHQ (tercijarni butilhidrokinon)

TBHQ je sintetski antioksidans, u obliku kristalnog praha, proizvođača Acros Organics. U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu od 0,01 % računato na masu ulja.

### 3.2.2. Metode

#### 3.2.2.1. Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja

##### Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je pokazatelj stupnja oksidacije masti i ulja. Princip određivanja je da se uzorak ulja otopi u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma, te se doda otopina kalijevog jodida (KI). Iz otopine KI oslobađa se jod, koji se zatim određuje titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) uz škrob kao indikator. Rezultat se izražava kao broj mmol aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1 kg ulja ( $\text{mmol O}_2/\text{kg}$ ).

Peroksidni broj se izračunava prema formuli (6):

$$\text{Pbr} = (V_1 - V_2) \cdot 5/m \text{ [mmol O}_2/\text{kg]} \quad (6)$$

gdje je:

$V_1$  - volumen otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka [mL],

$V_0$  - volumen otopine  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepa probe [mL],

$m$  - masa uzorka ulja [g].

### Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Jestiva biljna ulja, uz masne kiseline vezane u triacilglicerole sadrže i određenu količinu slobodnih masnih kiselina, koje nastaju hidrolitičkom razgradnjom triacilglicerola djelovanjem lipaza na estersku vezu u molekuli. Udio slobodnih masnih kiselina zavisi o načinu dobivanja ulja, o kvaliteti sirovine i o uvjetima čuvanja, te se može izraziti kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj ili
- % SMK (izražen na oleinsku kiselinu).

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

Princip metode je titracija ulja otopljenog u neutralnoj smjesi etera i etanola, sa 0,1 M otopinom NaOH uz dodatak indikatora, 1 %-tne otopine fenolftaleina u 96 %-tnom etanolu. Udio slobodnih masnih kiselina je izražen je kao % oleinske kiseline, a izračunava se po formuli (7):

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m \quad (7)$$

gdje je:

V – utrošak vodene otopine NaOH za titraciju uzorka [mL],

c – koncentracija NaOH za titraciju,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$ ,

M – molekulska masa oleinske kiseline,  $M = 282 \text{ g/mol}$ ,

m – masa uzorka za ispitivanje [g].

### Određivanje udjela vode

Značajan indikator kvalitete sirovih i jestivih biljnih ulja je količina vode i hlapljivih tvari. Prisutnost vode u ulju može dovesti do hidrolitičkih promjena, odnosno povećanja udjela slobodnih masnih kiselina. Također, veća količina vode u ulju može dovesti do zamućenja ulja i time smanjenjem kvalitete ulja. Princip metode za određivanje vode temelji se na isparavanju vode i hlapljivih tvari iz ulja zagrijavanjem uzorka u sušioniku pri  $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , dok se ne postigne konstantna masa.

Udio vode izračunava se prema formuli **(8)**:

$$\% \text{ vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (8)$$

gdje je:

$m_0$  – masa prazne posudice [g],

$m_1$  – masa posudice s uzorkom prije sušenja [g],

$m_2$  – masa posudice s uzorkom nakon sušenja [g].

#### **Određivanje količine netopljivih nečistoća**

Netopljive nečistoće u ulju su mehaničke, krute čestice koje mogu biti mineralne tvari ili organski sastojci (dijelovi uljarice).

Princip određivanja netopljivih čestica zasniva se na tretiranju uzorka ulja organskim otapalom, *n*-heksanom ili petrol-eterom, nakon čega se uzorak filtrira uz istovremeno ispiranje taloga otapalom. Zaostali talog se suši do konstantne mase i potom važe.

Udio netopljivih nečistoća u ulju izražava se kao % netopljive nečistoće, a računa se prema formuli **(9)**:

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \cdot 100 \quad (9)$$

gdje je:

$m_0$  – masa uzorka [g],

$m_1$  – masa osušenog filter lijevka [g],

$m_2$  – masa filter lijevka s nečistoćama nakon sušenja [g].

#### **3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal Oven testom**

Schaal Oven test je proveden na hladno prešanom ulju noćurka bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak) i s dodanim antioksidansima u različitim koncentracijama. Prethodno pripremljeni uzorci, zagrijavani su u sušioniku na temperaturi od 63 °C, koji je prikazan na **Slici 8**. Provedeno je praćenje peroksidnog broja tijekom 4 dana s ciljem utvrđivanja efikasnosti djelovanja dodanog antioksidansa na stabilnost ispitivanog ulja noćurka. Nakon svakih 24 sata zagrijavanja kroz 4 dana uzorci bi se vadili iz sušionika, hladili na sobnu temperaturu i homogenizirali. Za određivanje peroksidnog broj uzimale su se odvage uzorka

od 1 g, a potom bi se uzorci vratili u sušionik. Rezultati Schaal Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O<sub>2</sub>/kg) tijekom 4 dana držanja uzorka ulja pri temperaturi 63 °C.



**Slika 8** Sušionik za određivanje oksidacijske stabilnosti Schaal Oven testom na 63°C



**Slika 9** Priprema uzoraka ulja za provedbu testa



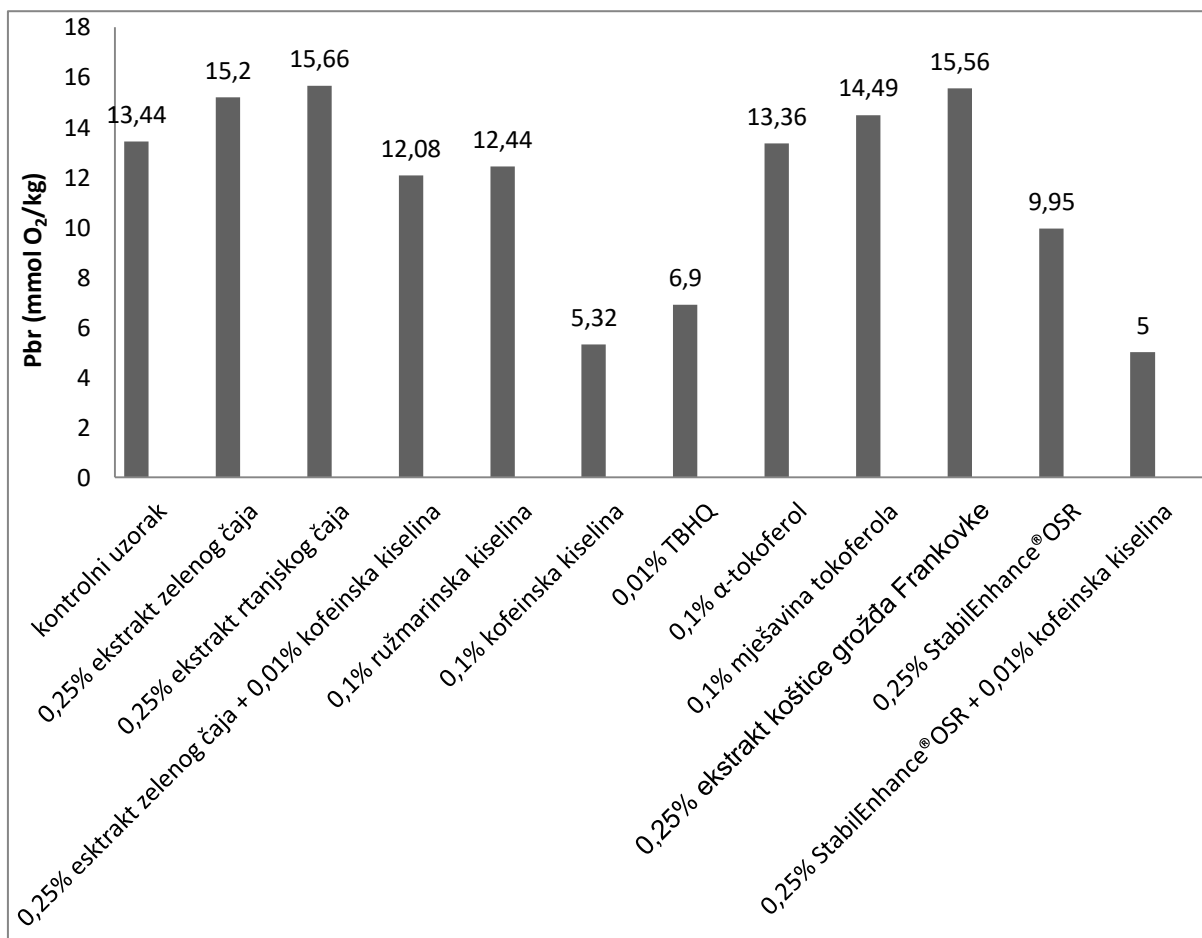
## **4. REZULTATI**

**Tablica 9** Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja noćurka usporedno s maksimalnim dopuštenim vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19)

Parametar kvalitete	Vrijednost	Maksimalne vrijednosti (Pravilnik o jestivim uljima i mastima)
Peroksidni broj, Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)	3,40	7
Slobodne masne kiseline, SMK (%)	2,03	2
Udio vode (%)	0,074	0,4
Udio netopljivih nečistoća (%)	0,54	0,05

**Tablica 10** Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja noćurka sa i bez dodanih antioksidanasa, određena Oven testom na 63 °C tijekom 4 dana

Uzorak	Udio antioksidansa (%)	Peroksidni broj (mmol O <sub>2</sub> /kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Hladno prešano ulje noćurka (kontrolni uzorak)	-	3,40	7,28	8,29	11,63	13,44
Ekstrakt zelenog čaja	0,25		6,93	9,85	12,87	15,20
Ekstrakt rtanjskog čaja	0,25		6,92	9,71	12,32	15,66
Ekstrakt zelenog čaja + kofeinska kiselina	0,25 + 0,01		6,34	8,50	9,19	12,08
Ružmarinska kiselina	0,1		7,36	9,13	11,28	12,44
Kofeinska kiselina	0,1		4,00	4,43	5,00	5,32
TBHQ	0,01		4,00	5,91	6,97	6,90
α-tokoferol	0,1		4,45	6,41	9,90	13,36
Mješavina tokoferola	0,1		6,50	8,42	12,32	14,49
Ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka	0,25		7,50	8,91	10,89	15,56
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance®OSR)	0,25		5,48	6,55	7,25	9,95
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance®OSR) + kofeinska kiselina	0,25 + 0,01		3,47	3,45	4,39	5,00



**Slika 10** Utjecaj dodatka različitih antioksidanasa na održivost ulja noćurka nakon 4 dana testa u odnosu na kontrolni uzorak (bez dodatka antioksidansa)

## **5. RASPRAVA**

Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja noćurka su prikazani u **Tablici 9**. Ispitivano ulje noćurka je dobre kvalitete, jer su dobivene vrijednosti parametara u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19), osim udjela netopljivih nečistoća. Udio netopljivih nečistoća ulja noćurka je iznosio 0,54 %, a maksimalno dopuštena vrijednost prema Pravilniku je 0,05 %, stoga se preporučuje produžiti vrijeme sedimentacije sirovog ulja. Vrijednosti parametara Pbr i SMK pokazuju da u sjemenkama noćurka nije došlo do značajnog procesa kvarenja ulja.

**Tablica 10** prikazuje oksidacijsku stabilnost ili održivost hladno prešanog ulja noćurka, sa i bez dodanih antioksidanasa, koja je određena Schaal Oven testom. Ispitivanje se provodilo 4 dana, pri čemu je praćena vrijednost Pbr i to svakih 24 sata. Dobiveni rezultati u **Tablici 10** pokazuju da je tijekom 4 dana provođenja testa došlo do porasta vrijednosti Pbr-a kod svih ispitivanih uzoraka ulja u odnosu na početnu vrijednost Pbr-a od 3,40 mmol O<sub>2</sub>/kg. Kod kontrolnog uzorka, čistog ulja noćurka, bez dodanih antioksidanasa uočen je porast vrijednosti Pbr-a te je nakon provedbe Oven testa iznosio 13,44 mmol O<sub>2</sub>/kg, što ukazuje na manju oksidacijsku stabilnost ovog ulja.

Provedba Oven testa je pokazala da određeni ispitivani antioksidansi u primijenjenim koncentracijama uspješno povećavaju održivost ulja noćurka, tj. povećavaju njegovu otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Najveći učinak zaštite od oksidacije je pokazao dodatak mješavine prirodnih antioksidanasa i to ekstrakta ružmarina tipa StabilEnhace®OSR (0,25 %) i kofeinske kiseline (0,01 %), te je nakon 4 dana dobivena vrijednost Pbr-a od 5,00 mmol O<sub>2</sub>/kg. Također, dobru stabilizaciju ulja pokazala je i samostalno kofeinska kiselina dodana u udjelu 0,1 % računato na masu uzorka ulja, gdje je nakon provedbe testa vrijednost Pbr-a iznosila 5,32 mmol O<sub>2</sub>/kg. Sintetski antioksidans TBHQ dodan u udjelu 0,01 % je pružio nešto slabiju zaštitu, a vrijednost Pbr-a je bila 6,90 mmol O<sub>2</sub>/kg nakon provedbe testa.

Na **Slici 10** je grafički prikazan utjecaj dodatka pojedinih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja noćurka nakon 4 dana provođenja ispitivanja te se može jasno vidjeti koji je antioksidans efikasan, a koji nije u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka i mješavina tokoferola su prirodni antioksidansi koji se nisu pokazali efikasni u stabilizaciji ulja noćurka, zbog dobivene veće vrijednosti Pbr-a u odnosu na kontrolni uzorak. Mješavina

antioksidanasa ekstrakta ružmarina tipa StabilEnhance®OSR (0,25 %) i kofeinske kiseline (0,01 %) je pokazala bolju efikasnost zaštite ovog ulja od oksidacije nego dodatak samo jednog od ova dva antioksidanasa. Ekstrakt zelenog čaja (0,25 %) nije pokazao funkciju zaštite od oksidacijskog kvarenja ulja, ali u kombinaciji s kofeinskom kiselinom (0,01 %), ostvarena je zaštita ulja, pri čemu je vrijednost Pbr-a nakon 4 dana testa iznosila 12,08 mmol O<sub>2</sub>/kg. Kofeinska kiselina je pokazala bolji učinak na održivost ulja noćurka u mješavini s ekstraktom ružmarina (StabilEnhance®OSR).

Dodatkom  $\alpha$ -tokoferola (0,1 %) neznatno je povećana stabilnost ulja noćurka (Pbr je 13,36 mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na kontrolni uzorak (13,44 mmol O<sub>2</sub>/kg). Primjenom ružmarinske kiseline (0,1 %) malo se povećala stabilnost ulja tj. otpornost prema oksidacijskom kvarenju.

U svojem istraživanju Youdim i sur. (1999) ispitivali su antioksidacijski učinak ulja timjana,  $\alpha$ -tokoferola i askorbil pamlitata na održivost ulja noćurka. Najbolju zaštitu od oksidacije ulja noćurka pokazali su ulje timjana i  $\alpha$ -tokoferol. Khan i Shahidi (2001) su u svojim studijama utvrdili kako su sintetski antioksidansi efikasniji u zaštiti ulja noćurka od oksidacijskog kvarenja u usporedbi s prirodnim antioksidansima, a najučinkovitiji se pokazao TBHQ.

Dodatak antioksidanasa u ulje ne bi trebao utjecati na senzorske karakteristike ulja, poput boje, mirisa i okusa. Naime, dodatak nekih antioksidanasa promijenio je neke karakteristike ulja. Uzorak ulja u kojemu je bila dodana mješavina antioksidanasa ekstrakta ružmarina tipa StabilEnhance® OSR i kofeinske kiseline je promijenio boju, tj. posmeđio u odnosu na kontrolni uzorak. Ekstrakt rtanjskog čaja je promijenio miris uzorka, a ružmarinska kiselina je promijenila boju, odnosno posvijetlila je i malo zamutila uzorak ulja noćurka.

## **6. ZAKLJUČCI**

Ispitivanjem utjecaja dodatka antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja noćurka mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Ispitivano hladno prešano ulje noćurka je dobre kvalitete, jer su osnovni parametri kvalitete u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19).
2. Nakon provođenja Oven testa na 63 °C tijekom 4 dana utvrđeno je da ispitivano ulje noćurka ima manju stabilnost prema oksidacijskom kvarenju.
3. Kofeinska kiselina je pokazala veću zaštitu ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na druge ispitivanje antioksidanse.
4. Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance®OSR) također značajno stabilizira ulje noćurka.
5. Primjenom mješavine prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina (StabilEnhance®OSR) i kofeinske kiseline postignuta je najveća stabilnost ulja noćurka prema oksidacijskom kvarenju.
6. Korištenjem ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta rtanjskog čaja, ekstrakta koštice grožđa sorte Frankovka i mješavine tokoferola nije postignuta dodatna otpornost ispitivanog ulja prema oksidacijskom kvarenju.
7. Dodatkom kofeinske kiseline (0,1 %) u kombinaciji s ekstraktom zelenog čaja (0,25 %) ostvarena je zaštita ulja noćurka od oksidacije.
8. Ružmarinska kiselina efikasnije štiti ulje noćurka od oksidacijskog kvarenja u odnosu na  $\alpha$ -tokoferol.
9. Sintetski antioksidans TBHQ malo slabije štiti ulje noćurka od oksidacijskog kvarenja u odnosu na kofeinsku kiselinu i mješavinu ekstrakta ružmarina i kofeinske kiseline.
10. Ekstrakt rtanjskog čaja, kofeinske kiseline i mješavina antioksidanasa ekstrakta ružmarina (StabilEnhance®OSR) i kofeinske kiseline doveli su do promjene senzorskih svojstava ulja noćurka.



## **7. LITERATURA**

- Birdi KS: *Lipid and Biopolymer Monolayers at Liquid Interfaces*. Plenum Press, New York, 1989.
- Bockish M: *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Chang, SS, Peterson, RJ, Ho C-T: Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 55:718-727, 1978.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.
- Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2005.
- Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2000.
- Grün IU: Fats: Edible Fat and Oil Processing. U *Food Processing: Principles and Applications*, str. 353-360. Blackwell Publishing, USA, 2004.
- Gunstone FD: *Oils and fats in the Food Industry*. Dundee, UK, 2008.
- Hoffmann G: The Chemistry of Edible Fats. U *The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their High Fat Products*, str. 1-28. Academic Press, London, 1989.
- Hraš AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D: Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemisrty* 71:229-233, 2000.
- Hudson BJB: Evening Primrose (*Oenothera* Spp.) Oil and Seed. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61:540-543, 1984.
- Jašić M: Kemija hrane-Lipidi. Tehnološki fakultet, Tuzla, 2009.  
<http://www.tehnologijahrane.com/hemijahrane/lipidi> [1.7.2020.]
- Khan AM, Shahidi F: Effects of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of borage and evening primrose triacylglycerols. *Food Chemisrty* 75:431-437, 2001.
- Koprivnjak O: *Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola*. MIH d.o.o., Poreč, 2006.
- Läubli MW, Bruttel PA: Determination of the oxidative stability of fats and oils: Comparison between the active oxygen method (AOCS cd 12-57) and the rancimat method. *Journal of the Americal Oil Chemists' Society* 63:792-795, 1986.

Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK: *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. CRC Press, USA, 1995.

Mendez E, Sanhueza J, Speisky H, Valenzuela A: Validation of the rancimat test for the assesment of the relative stability of fish oils. *Journal of the Americal Oil Chemists' Society* 73:1033-1037, 1996.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 11/19, 2019.

Moslavac T, Vuković D: Utjecaj antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost biljnih ulja u binarnoj smjesi sa sezamovim uljem. *Glasnik zaštite bilja* 36:32-41, 2013.

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

Odak I: Utjecaj antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost ulja konoplje. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2013.

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

Paciorek-Sadowska J, Borowicz M, Czupryński B, Tomaszewska E, Liszkowska J: Oenothera biennis seed oil as an alternative raw material for production of bio-polyol for rigid polyurethane-polyisocyanurate foams. *Industrial Crops and Products* 126: 208-217, 2018.

Pine SH: *Organska kemija*. Školska knjiga, Zagreb, 1994.

Rade D, Morkovčak Z, 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*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2004.  
<http://www.pbf.unizg.hr/edukacija/clanci6.htm> [1.7.2020.]

Schuler P: Natural Antioxidants Exploited Commercially. U *Food Antioxidants*, str.99-170. Springer, 1990.

Scrimgeour C: Chemistry of Fatty Acids. U *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, str 1-43. John Wiley & Sons Inc, Newfoundland, 2005.

Shahidi F: Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research* 44:158-163, 2000.

Shahidi F: Natural antioxidants: an overview. U *Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*, str. 1-11. AOCS Press, Champaign, 1997.

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

Steckel LE, Sosnoskie LM, Steckel SJ: Common evening-primrose (*Oenothera biennis* L.). *Weed Technology* 33:757-760, 2019.

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

Škevin D: Utjecaj prirodnih antioksidanasa na održivost i svojstva djevičanskog maslinovog ulja sorte Oblica i Buharica. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2003.

Timoszuk M, Bielawska K, Skrzydlewska E: Evening Primrose (*Oenothera biennis*) Biological Activity Dependent on Chemical Composition. *Antioxidants* 7:108, 2018.

Tyagi VK, Vasishtha AK: Changes in the Characteristics and Composition of Oils During Deep-Fat Frying. *Journal of American Oil Chemists' Society* 73:499-506, 1996.

Volmut K: Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom propil galata i ekstrakta ružmarina. *Specijalistički rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.

Wanasundara PKJPD, Shahidi F: Antioxidants: Science, Technology, and Applications. U *Bailey's industrial Oil and Fat products*. John Wiley & Sons Inc, Newfoundland, 2005.

Web 1. <http://gordanatdj.weebly.com/104110481054106110451052104810321040.htm> [27.6.2020.]

Web 2. <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega-3+masne+kiseline> [30.6.2020.]

Web 3. <https://www.plantagea.hr/prirodna-kozmetika/nocurak/> [30.6.2020.]

Wijerante SKS, Amarowicz R, Shahidi F: Antioxidant Activity of almonds and Their Byproducts in Food Model Systems. *Journal of American Oil Chemists' Society* 83:223-230, 2006.

Yanishlieva NV, Marinova EM: Stabilization of edible oils with nature antioxidants. *European Journal of Lipid Science an Technology* 103:752-767, 2001.

Youdim KA, Dorman HJD, Deans SG: The Antioxidant Effectiveness of Thyme Oil,  $\alpha$ -Tocopherol and Ascorbyl Palmitate on Evening Primrose Oil Oxidation. *Journal of Essential Oil Research* 11:643-648, 1999.