

# Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog ulja chie (*Salvia hispanica* L.)

---

Lijić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:795417>

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

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

REPOZITORIJ

PTF OS

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**

**Martina Lijić**

**PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA CHIE  
(*Salvia hispanica* L.)**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac 2014.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za tehnologiju ulja i masti  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnologija ulja i masti  
**Tema rada** je prihvaćena na VI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 25. Ožujka 2014.  
**Mentor** izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*  
**Komentor:** doc. dr. sc. *Stela Jokić*

### PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA CHIE (*Salvia hispanica* L.)

*Martina Lijić, 209-DI*

#### Sažetak:

*Salvia hispanica* L. (chia) je biljka iz porodice Labiatae, čije sjemenke sadrže 25-35 % ulja i imaju visok sadržaj omega-3 linolenske masne kiseline. Hladno prešano ulje chie proizvedeno je postupkom prešanja sjemenki chie na kontinuiranoj pužnoj preši, pri čemu su dobivena tri proizvoda: sirovo ulje, uljni talog i pogača. Nakon prešanja provedeno je prirodno taloženje dobivenog sirovog ulja i vakuum filtracija. U ovom radu ispitan je utjecaj procesnih parametara prešanja chie (temperatura zagrijavanja glave preše, veličina otvora glave preše i brzina pužnice - frekvencija elektromotora) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie. Također je određena i oksidacijska stabilnost ulja, sa i bez dodanih antioksidanasa. Ispitivan je utjecaj pojedinog prirodnog antioksidansa na održivost hladno prešanog ulja chie. Primjenom standardnih metoda, određeni su parametri kvalitete ulja: peroksidni broj, udio slobodnih masnih kiselina, netopljive nečistoće, udio vlage u ulju. Antioksidansi korišteni u ovom istraživanju su: ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt nara, ekstrakt maslinovog lista, eterična ulja origana, kadulje i rtanjskog čaja. Oksidacijska stabilnost ulja ispitana je primjenom Oven testa. Rezultati ispitivanja prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja tijekom 4 dana trajanja testa. Najveće iskorištenje ulja kod prešanja sjemenke chie dobiveno je primjenom sljedećih procesnih parametara: nastavak za izlaz pogače 8 mm, brzina pužnice 35 Hz i temperatura glave preše 100°C. Od ispitivanih prirodnih antioksidanasa značajni antioksidacijski učinak pokazao je samo ekstrakt ružmarina OxyLess®.CS i ekstrakt zelenog čaja u udjelima 0,1 % i 0,3 %.

**Ključne riječi:** ulje chie, pužna preša, procesni parametri, oksidacijska stabilnost, antioksidansi

**Rad sadrži:** 65 stranica  
11 slika  
14 tablica  
57 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

- |   |               |
|---|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Andrija Pozderović</i> | predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i>   | član-mentor   |
| 3. doc. dr. sc. <i>Stela Jokić</i>              | član-komentor |
| 4. izv. prof. dr. sc. <i>Jurislav Babić</i>     | zamjena člana |

**Datum obrane:** 12. prosinac 2014.

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 Technology of Oils and Fats  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Technology of Oils and Fats  
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. VI. held on March 25, 2014.  
**Mentor:** *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof.  
**Co – mentor:** *Stela Jokić*, PhD, assistant prof.

### THE PRODUCTION AND STABILIZATION OF COLD-PRESSED CHIA OIL (*Salvia hispanica* L.)

*Martina Lijić*, 209-DI

#### Summary:

*Salvia hispanica* L. ( chia ) is a plant of Labiatae family, whose seeds contain 25-35 % oil and have a high content of omega-3 linolenic fatty acid. The cold pressed chia oil was produced by pressing of chia seeds on a continued screw press, where three products are obtained: crude oil, oil sludge and cake. After the pressing, natural deposition of the produced crude oil and vacuum filtration was carried out. In this work, the influence of process parameters (temperature head presses, nozzle size and the screw speed - frequency) on oil yield and basic quality parameters of cold pressed chia oil was tested. The oxidation stability of oil was also examined, with and without added antioxidants. Influence of every individual natural antioxidant on the sustainability of the cold pressed chia oil was examined. With the application of standard methods, the oil quality parameters: peroxide number, free fat acids content, insoluble impurities, oil moisture content were determined. Antioxidants used in this research were as follows: rosemary extract (OxyLess®.CS), green tea extract, pomegranate extract, olive leaf extract, essential oils of oregano, sage and winter savory tea. The oxidation stability of oil was tested using the Oven test. Test results are shown as a peroxide number value over the 4 days duration of the test. The highest yield of chia oil was obtained by pressing at following process parameters: nozzle size 8 mm, frequency 35 Hz and the press head temperature 100°C. The most significant antioxidant effect shows only the rosemary extract OxyLess®.CS and the green tea extract in concentration of 0.1 % and 0.3 %.

**Key words:** chia oil, screw press, process parameters, oxidation stability, antioxidants

**Thesis contains:** 65 pages  
11 figures  
14 tables  
57 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |   |                     |
|---|---------------------|
| 1. <i>Andrija Pozderović</i> , PhD, associate prof. | chair person        |
| 2. <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, associate prof.   | supervisor          |
| 3. <i>Stela Jokić</i> , PhD, assistant prof.        | member-cosupervisor |
| 4. <i>Jurislav Babić</i> , PhD, associate prof.     | stand-in            |

**Defense date:** December 12, 2014.

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

*Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu i komentorici doc. dr. sc. Steli Jokić na pomoći pri odabiru teme i savjetima kod izvođenja eksperimentalnog dijela, te na uputama tijekom pisanja diplomskog rada.*

*Zahvaljujem tehničarki Danieli Paulik na pomoći i ugodnom ozračju tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.*

*Najveću zahvalu želim iskazati svojim roditeljima, kojima i posvećujem ovaj rad, te sestrama Andrei i Tamari. Zahvaljujem Vam na strpljenju, ljubavi i odricanjima.*

*Također se želim zahvaliti Dominiku što je uvijek bio uz mene, te na potpori, razumijevanju i ljubavi koje mi je pružio tijekom školovanja.*

*Zahvaljujem se svojim prijateljima i kolegama na pomoći, te na svim zabavnim trenucima zbog kojih je bilo lakše studirati.*

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA.....	4
2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA.....	9
2.2.1. Ulje chie .....	11
2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA .....	16
2.3.1. Priprema sirovina za izdvajanje ulja .....	17
2.3.2. Prešanje .....	18
2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća .....	19
2.3.4. Pakiranje i skladištenje biljnih ulja.....	20
2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA .....	20
2.4.1. Enzimski i mikrobiološki procesi.....	21
2.4.2. Kemijski procesi .....	22
2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA.....	25
2.5.1. Antioksidansi .....	25
2.5.2. Sinergisti.....	27
2.5.3. Prooksidansi .....	28
2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA.....	29
2.6.1. Schaal-Oven test.....	29
2.6.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) .....	29
2.6.3. Rancimat test .....	30
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	31
3.1. ZADATAK .....	32
3.2. MATERIJALI I METODE .....	32
3.2.1. Materijali.....	32
3.2.2. Metode .....	34
3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači.....	34
3.2.2.2. Određivanje stupnja djelovanja preše .....	35
3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja .....	35
3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja.....	40
3.2.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti prirodnih antioksidanasa .....	41
3.2.2.6. Određivanje oksidacijske stabilnosti.....	42
4. REZULTATI.....	45

5. RASPRAVA.....	51
5.1. ISPITIVANJE UTJECAJA PARAMETARA PREŠANJA NA ISKORIŠTENJE I OSNOVNE PARAMETRE KVALITETE ULJA CHIE .....	52
5.2. ODREĐIVANJE KARAKTERISTIKA ZA IDENTIFIKACIJU ULJA (JODNI I SAPONIFIKACIJSKI BROJ)....	54
5.3. ISPITIVANJE UTJECAJA DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA CHIE.....	54
6. ZAKLJUČCI .....	56
7. LITERATURA .....	59

## Popis oznaka, kratica i simbola

Abr – anisidinski broj

AI – antioksidacijski indeks

ALA – alfa - linolenska kiselina

AOM – Active Oxygen Method

DHA – dokosaheksaenska kiselina

DPPH - 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

EMK – esencijalne masne kiseline

EPA – eikosapentaenska kiselina

HCl – klorovodična kiselina

HDL – lipoproteini velike gustoće

HOO• - radikal vodikovog peroksida

KI – kalij jodid

KOH – kalijev hidroksid

LDL – lipoproteini male gustoće

MO – mikroorganizmi

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

NaOH – natrijev hidroksid

NMK – nezasićene masne kiseline

NN – netopljive nečistoće

Pbr – peroksidni broj

PF – zaštitni faktor

PUFA – polinezasićene masne kiseline

R•,RO• - slobodni radikali

RH – masne kiseline



ROO• - radikal peroksida

ROOH – hidroperoksid

RR, ROOR – polimeri

SMK – slobodne masne kiseline

TFA – trans masne kiseline

ZMK – zasićene masne kiseline

## **1. UVOD**

Hladno prešana ulja su ona biljna ulja koja se dobivaju postupkom prešanja određenih sirovina, na temperaturi do 50°C, pri čemu se dobiva sirovo ulje, uljni talog i pogača. Sirovo ulje nakon prešanja sadrži određeni udio mehaničkih nečistoća koje se mogu ukloniti spontanom taloženjem ili filtracijom. Pročišćeno ulje potrebno je pravilno skladištiti kako ne bi došlo do kvarenja.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja je jedno od najznačajnijih svojstava biljnih ulja. Ona predstavlja vrijeme kroz koje se biljna ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije, odnosno oksidacije nezasićenog lanca masne kiseline, što dovodi do užeglosti i kvarenja biljnog ulja i narušavanja njegovih organoleptičkih svojstava i kvalitete. Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja bitno je za određivanje roka uporabe.

Održivost ulja najčešće se određuje: Rancimat testom, AOM testom, Oven testom i testom održivosti pri 98°C.

Antioksidansi su tvari koje u malim koncentracijama inhibiraju oksidaciju biljnih ulja i na taj način poboljšavaju oksidacijsku stabilnost ulja, a mogu se koristiti prirodni i sintetski antioksidansi.

Zadatak ovog rada bio je proizvesti hladno prešano ulje čie i ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja (temperature zagrijavanja glave preše, veličine otvora glave preše i brzine pužnice - frekvencije elektromotora) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja. Također se ispitala i oksidacijska stabilnost ulja, sa i bez dodatka antioksidanasa i na taj način se utvrdio utjecaj pojedinog prirodnog antioksidansa na održivost hladno prešanog ulja čie.

U ovom istraživanju korišteni su samo prirodni antioksidansi: ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt nara, ekstrakt maslinovog lista, eterično ulje origana, eterično ulje kadulje i eterično ulje rtanjskog čaja.

## **2. TEORIJSKI DIO**

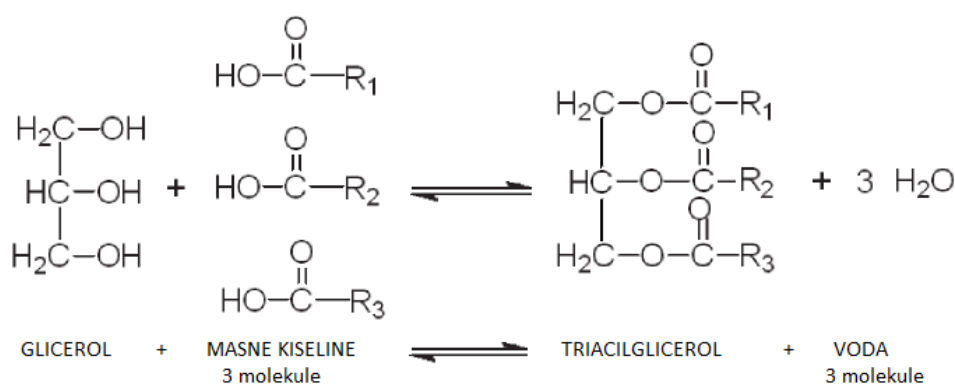
## 2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Jestiva biljna ulja su tvari biljnog porijekla koje pripadaju grupi spojeva lipida. Spadaju u tvari netopljive u vodi, a topljive u organskim otapalima. Predstavljaju estere alkohola glicerola i masnih kiselina te se najčešće nazivaju triacilgliceroli ili trigliceridi (**Slika1**). Biljna ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina i zbog toga su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju. Komponente koje daju boju biljnim uljima mogu biti prirodnog porijekla (npr. karoteni, klorofil) ili produkti razgradnje proteina i ugljikohidrata koji nastaju tijekom postupaka oplemenjivanja ulja. Komponente koje su zaslužne za miris i okus su aldehidi, ketoni, alkoholi, esteri, ugljikovodici, slobodne masne kiseline prirodnog porijekla ili komponente nastale tijekom tehnološkog procesa.

S obzirom na strukturu i sastav biljnog ulja prirodni lipidi dijele se na :

- jednostavne lipide,
- složene konjugirane lipide,
- derivate lipida.

**Jednostavni lipidi**, često nazivani neutralni lipidi, obuhvaćaju triacilglicerole masnih kiselina (ulja i masti), te voskove koji predstavljaju estere viših alkohola s višim masnim kiselinama. Najčešće se javljaju u prirodi, ali uvijek uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa. Ulja i masti (triacilgliceroli) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina (Swern, 1972.).



**Slika 1** Reakcija nastajanja triacilglicerola

**Složeni kojnugirani lipidi**, pored glicerola i masnih kiselina, sadrže još i negliceridne sastojke. Oni su pratitelji jednostavnih lipida, ali i lipidni sastojci u nekim dijelovima organizma. Često se nazivaju i polarni lipidi. U konjugirane lipide spadaju fosfolipidi (sadrže fosfatnu skupinu i molekulu masti), cerebrozidi (sadrže ugljikohidrat i molekulu masti), sulfolipidi (sadrže sulfatnu grupu), lipoproteini i dr. Negliceridne sastojke prirodnih ulja čine fosfatidi, karoteni, liposolubilni vitamini (A, D, E, K), tokoferoli, steroli, pigmenti, voskovi, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi, ketoni i tragovi metala. Poželjni negliceridni sastojci su vitamini topljivi u mastima i karoteni, dok su voskovi, tragovi metala i fosfatidi nepoželjni negliceridni sastojci u uljima jer smanjuju kvalitetu ulja i moraju se potpuno ukloniti tijekom procesa rafinacije ulja (Odak, 2013.).

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

Lipidi u hrani imaju jedinstvena fizička i kemijska svojstva. Njihov sastav, kristalna struktura, temperatura topljenja, sposobnost vezanja molekula vode i drugih nelipidnih molekula su od velikog značaja za funkcionalna svojstva većine namirnica.

U prirodnim uljima i mastima prevladavaju različite masne kiseline. Masne kiseline su slabe organske kiseline čija se molekula sastoji od dva različita dijela, ugljikovodične grupe (R-) i karboksilne grupe (-COOH). Mogu imati razgranat i nerazgranat (ravan) lanac, a fizikalna svojstva im ovise o dužini lanca, stupnju nezasićenosti i razgranatosti lanca.

Masne kiseline se razlikuju prema:

- broju ugljikovih atoma u molekuli,
- nezasićenosti ugljikovih atoma,
- broju dvostrukih veza,
- položaju dvostrukih veza.

S obzirom na broj ugljikovih atoma u molekuli 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) (Swern,1972.).

Povećanjem broja C atoma, raste točka topljenja masnih kiselina.

Prema stupnju nezasićenosti masne kiseline dijele se na zasićene i nezasićene masne kiseline.

**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. Masne kiseline koje sadrže 24 i 26 ugljikovih atoma dolaze u voskovima, dok zasićene masne kiseline sa neparnim brojem ugljikovih atoma dolaze u tragovima u prirodnim mastima. U biljnim i životinjskim mastima najzastupljenije su laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska masna kiselina (**Tablica 1**).

**Tablica 1** Najčešće zasićene masne kiseline

Broj C atoma : broj dvostrukih veza	Naziv masne kiseline	Formula
12:0	Laurinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10} \text{COOH}$
14:0	Miristinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$
16:0	Palmitinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$
18:0	Stearinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{16} \text{COOH}$

**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 (**Tablica 2**). 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 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.

**Tablica 2** Najčešće nezasićene masne kiseline

Broj C atoma : broj dvostrukih veza	Naziv masne kiseline	Formula
16:1	Palmitoleinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_5 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7 \text{COOH}$
18:1	Oleinska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_7 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7 \text{COOH}$
18:3	Linolenska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 (\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3 (\text{CH}_2)_3 \text{COOH}$

Dvostruke veze mogu biti:

- Izolirane - u kojima su dvostruke veze razdvojene s jednom ili više metilenskih (-CH<sub>2</sub>) grupa
- Konjugirane - u kojima su dvostruke veze u susjednom položaju

Konjugirane masne kiseline rijetko dolaze u prirodnim uljima i mastima, izuzetak su mliječna mast i goveđi loj. Do stvaranja konjugiranih masnih kiselina dolazi tijekom procesa hidrogenacije ulja (dolazi do izomerizacije položaja dvostrukih veza), rafinacije (kod procesa dekoloracije aktivnom zemljom nastaju konjugirani trieni ako ulje sadrži hidroperokside linolne kiseline) i zagrijavanja ulja pri višim temperaturama (iznad 170°C).

Nezasićene masne kiseline mogu biti u cis i trans obliku (**Slika 2**) ovisno o prostornoj konfiguraciji dijelova molekule s obje strane nezasićene (dvostruke) veze. Kemijski sastav oba oblika je isti, ali se razlikuju po fizikalnim svojstvima. Cis oblik znači da su dva atoma vodika (H) na istoj strani dvostruke veze, dok je trans oblik suprotan, odnosno dva atoma vodika (H) vezana su na suprotnim stranama dvostruke veze. Broj cis i trans izomera neke masne kiseline ovisi o broju dvostrukih veza.





cis izomer

trans izomer

**Slika 2** Strukturni prikaz cis- i trans- konfiguracije nezasićene masne kiseline

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

Postoje trans mononezasićene i trans polinezasićene masne kiseline. Trans polinezasićene masne kiseline sadrže najmanje jednu dvostruku vezu u trans obliku i stoga mogu imati dvostruke veze i u cis konfiguraciji (EFSA, 2004.).

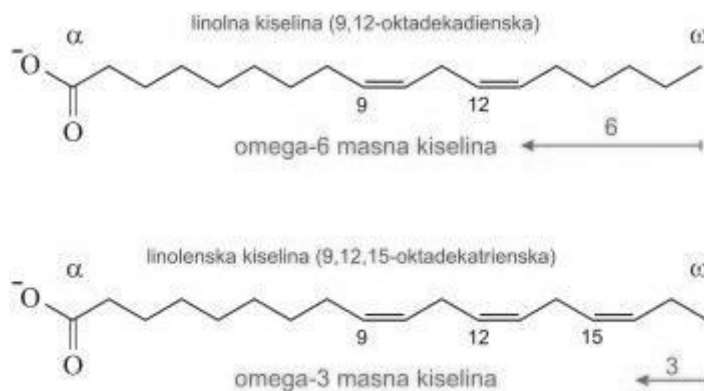
Trans oblici nezasićenih dvostrukih veza znatno su stabilniji nego cis oblici u termodinamičkom smislu, čime se objašnjava mogućnost stvaranja trans izomera tijekom termičkog tretmana procesa rafinacije (Odak, 2013.).

Određivanje udjela trans masnih kiselina važno je zbog upoznavanja kvalitete masti i kontrole procesa hidrogenacije. Utvrđena je veza između unosa TFA i povišenog LDL i nižeg HDL kolesterola te viših razina triglicerida u krvi, zbog čega se smatra da povećavaju rizik od oboljenja kardiovaskularnog sustava (Klapec, 2014.).

**Esencijalne masne kiseline (EMK) (Tablica 3)** su polinezasićene masne kiseline koje imaju 18, 20 i 22 ugljikova atoma i 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 su sve one masne kiseline koje su prijeko potrebne za zdravlje i život, a u organizmu se ne mogu sintetizirati već se moraju u dovoljnoj količini unositi prehranom.

Računajući dvostruku skupinu od metilnog kraja, višestruko nezasićene masne kiseline dijelimo na omega-3 i omega-6 skupinu (ili n-3 i n-6 skupinu) (**Slika 3**). Omega-3 skupini pripada linolenska kiselina 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

**Tablica 3** Esencijalne masne kiseline

Broj C atoma : broj dvostrukih veza	Naziv masne kiseline	Formula
18:2	Linolna	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 (\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2 (\text{CH}_2)_6 \text{COOH}$
18:3	Linolenska	$\text{CH}_3 \text{CH}_2 (\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3 (\text{CH}_2)_6 \text{COOH}$
20:4	Arahidonska	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 (\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4 (\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$

## 2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

U svijetu se za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava više od 20 vrsta biljaka, no samo 12 ima veći ekonomski značaj. Osnovna podjela ulja prema porijeklu sirovine može biti na ulja iz mesnatog dijela 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 pamićinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje...)
- ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buće, repica...)
- ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, Camelina sativa...)

### 3. Ulja prema porijeklu biljke:

- ulja iz leguminoza (kikiriki, soja...)
- ulja krstašica (repica, slaćica-senf) (Volmut, 2010.).

Ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji, ulja se razvrstavaju u sljedeće kategorije (NN 41/12):

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

Rafinirana ulja su proizvodi dobiveni postupkom rafinacije jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja. Cilj rafinacije je iz sirovog ulja ukloniti sve nepoželjne sastojke koji umanjuju održivost ulja i senzorska svojstva.

Rafinacijom se smanjuje stabilnost ulja, a uzroci smanjenja su:

- uklanjanje prirodnih antioksidansa (tokoferola);
- smanjenje karotena, lecitina, sterola;
- onećišćenje ulja teškim metalima koji ubrzavaju oksidaciju.

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50 °C. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

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

### 2.2.1. Ulje chie

*Salvia hispanica* L., čiji je uobičajeni naziv chia, je godišnja zeljasta biljka koja pripada porodici Lamiaceae ili Labiatae (usnatice). Usnatice su biljna porodica iz reda Lamiales koja nosi ime po vijenčiću koji je građen u obliku gornje i donje usne. Biljka dosegne visinu nešto više od 30 cm u punoj starosti. Nakupine plavo-ljubičastih cvjetova razvijaju se na rubovima formirajući kraj svake grančice. Sjajni omotač sjemenke kreće se od krem do tamno sive boje sa tamnijim nepravilnim mrljama i linijama.

Chia je kultura koja zahtjeva slabo održavanje, preferira umjereno plodno i dobro drenirano tlo. Iako je vlaga potrebna za rast sadnica, ova kultura je vrlo netolerantna prema vlažnim tlima. Sjemenke se sade u rupice u tlu koje je potpuno obrađeno nekim poljoprivrednim uređajem (npr. tanjurača). Zbog male veličina sjemena, preciznost sadnje je važna kako bi se osigurao dobar kontakt između sjemena i tla. Chia se sadi u travnju ili svibnju i bere u listopadu. Kukci i bolesti ne predstavljaju veliki problem za chiu, ali ne postoji strah da bi se chia mogla proširiti kao korov jer je utvrđeno da različiti herbicidi djeluju na njezino uništavanje.

Sjemenke se obično beru savijanjem stabljike zbog težine sjemenki ili se prikupljaju u košare udarajući biljku i izbijajući sjeme iz bodljikavih, suhih glavica pomoću udarača za sjemenke. Chia se mehanički bere sa standardnim kombajnom. Ljuske i ostale lakše primjese se otpire pomoću ventilatora, a zaostaju samo sjemenke. Sjemenke se zatim skladište ili se mogu pržiti.

Biljke ove porodice sadrže eterična ulja i imaju ljekovita svojstva. Ova botanička vrsta, porijeklom iz južnog Meksika i sjeverne Gvatemale, bila je važna kultura u predkolumbijskoj Mezoamerici skupa sa kukuruzom, grahom i amarantom. Njen uzgoj je bio zabranjen od strane španjolskih osvajača i zamjenjen egzotičnim kulturama za to područje kao što su pšenica i ječam (Cahill, 2003.), jer su se sjemenke koristile u praznovjernim obredima domorodaca. U današnje vrijeme, chia sjemenke su ponovno uvedene u zapadnjačku prehranu u svhu poboljšanja ljudskog zdravlja.

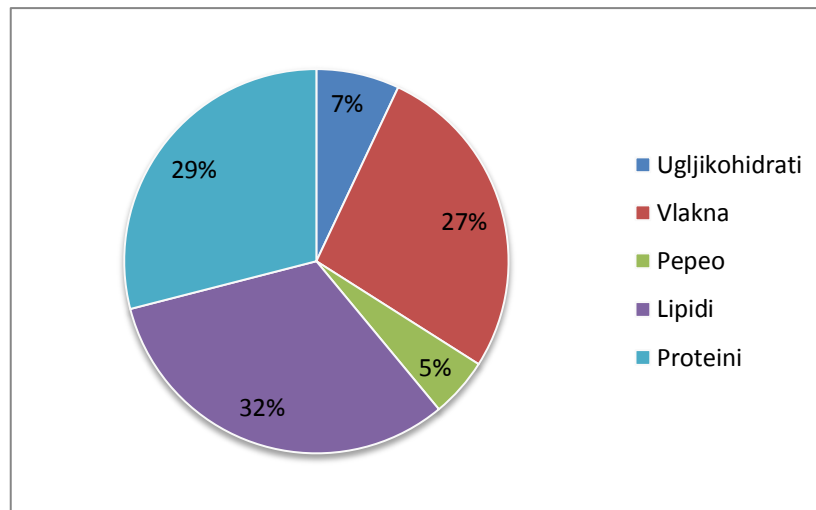
Chia sjemenke se tradicionalno konzumiraju u Meksiku, jugozapadnom dijelu SAD-a i Južnoj Americi. Danas se chia najviše uzgaja u Meksiku, Boliviji, Argentini, Ekvadoru, Australiji i Gvatemali (Coates i Ayerza, 1996., Commission of the European Communities, 2009.).

Upotreba chie može biti u obliku cijelog sjemena, brašna, gela i ulja sjemenki. Chia sjemenke imaju osobinu izrazite hidratacije te pomiješane s vodom nabubre i povećaju svoj volumen do 3 puta. Nakon namakanja postoji bezbroj načina upotrebe, mogu se koristiti za pripravljanje: tradicionalnih jela, pahuljica, palačinki, salata, raznih kolača, ali i juha, sendviča ili umaka. Najvažnije je da se sjemenke dodaju u jelo na kraju kuhanja, kako ne bi bile podvrgnute dužoj termičkoj obradi jer povišena temperatura uništava veći dio hranjivih tvari u chia sjemenkama. Chia sjemenke ne sadrže gluten, pa brašno proizvedeno mljevenjem chia sjemenki može poslužiti kao zamjena za pšenično brašno kod osoba koje su osjetljive na gluten.

Chia sjemenke su opisane kao dobar izvor ulja, proteina, prehrambenih vlakana, minerala (**Tablica 5**) i vitamina (**Tablica 6**), te polifenolnih spojeva (Ayerza i Coates 2004; Capitani i sur., 2012.; Reyes-Caudillo, Tecante, Valdivia-López, 2008.). Razlog oživljavanja interesa za chia sjemenke je sadržaj ulja, koje nudi bogat izvor polinezasićenih masnih kiselina (**Tablica 7**). Sadržaj ulja sjemenki iznosi od 25% do 35% (Taga, Miller, Pratt, 1984.). Chia ulje je jedinstveno jer sadrži najveći udio omega-3 linolenske kiseline (ALA) od bilo kojeg poznatog prirodnog izvora, čak do 68% (Ayerza, 1995; Coates i Ayerza, 1996) u usporedbi sa 36% kod divljeg lana (*Camelina sativa* L.), 53% u divljem sezamu (*Perilla frutescens* L.) i 57% u sjemenkama lana (*Linum usitatissimum* L.). ALA igra važnu ulogu u zdravlju i koristi se u različitoj hrani i kozmetici. Mnoge studije su osigurale dokaze da redovito konzumiranje ili dijetetski dodatak s dugim lancem omega-3 polinezasićenih masnih kiselina donosi brojne zdravstvene koristi, uključujući prevenciju kardiovaskularnih bolesti, hipertenzije i upalnih bolesti (Albert i sur. 2005.; Garg, Wood, Singh i Moughan, 2006.).

Sjemenke i ulje sadrže veliku količinu prirodnih antioksidanasa kao što su tokoferoli, fitosteroli, karotenoidi (Álvarez-Chávez, Valdivia-López, Aburto-Juárez, Tecante, 2008.) i fenolne spojeve, uključujući klorogensku kiselinu, kavenu kiselinu, miricetin, kvercetin i kaempferol (Capitani i sur. 2012.; Reyes-Caudillo i sur., 2008.), koji štite potrošače od mnogih bolesti i potiču pozitivne učinke na ljudsko zdravlje (Nijveldt i sur., 2001.).

Kemijski sastav chia sjemenke prikazan je na **Slici 4** i u **Tablici 4**.



**Slika 4** Kemijski sastav chia sjemenke (Ixtaina i sur., 2010.)

Biljka proizvodi male bijele i tamne sjemenke (**Slika 5**). Većina chie koja je komercijalno uzgojena sadrži mali postotak bijelih sjemenki. Njihov oblik je ovalan i općenito, bijele sjemenke su nešto veće od crnih (Ixtaina i sur., 2008.). Zabilježena dužina, širina i debljina iznose 2,11; 1,32 i 0,81 mm za tamne sjemenke i 2,15; 1,40 i 0,83 mm za bijele sjemenke.



**Slika 5** Tamne i bijele sjemenke chie

Chia sjemenke i ulje su važne sirovine za funkcionalnu hranu zbog svojih bioaktivnih komponenti, koje nude prednosti u odnosu na druge dostupne omega-3 izvore (Coates i Ayerza, 1996). Kao dodatak, ulje chie može se uzimati na nekoliko načina: u tekućem obliku ili u obliku kapsula. Uobičajena doza je jedna čajna žličica (10 mL) dnevno, ali to varira od osobe do osobe.

Chia sjemenke nisu vrijedne samo kao hrana, nego i za lijekove i boje (Álvarez-Chávez i sur., 2008.). Prethodna istraživanja su pokazala da se ulje, ili njegovi nusproizvodi, može koristiti u industriji stočne hrane, kako bi se dobili životinjski proizvodi bolje prehrambene vrijednosti i obogaćeni polinezasićenim masnim kiselinama (Ayerza, Coates, Lauria, 2002.).

**Tablica 4** Kemijski sastav chia sjemenke (sušene, 100 g) (USDA, 2014.)

Komponenta	Mjerna jedinica	Vrijednost u 100 g
Voda	g	5,8
Energija	kcal	486
Proteini	g	16,54
Ukupne masnoće	g	30,74
Ugljikohidrati	g	42,12
Prehrambena vlakna	g	34,4

**Tablica 5** Udio minerala u chia sjemenci (sušene, 100 g) (USDA, 2014.)

Mineral	Mjerna jedinica	Vrijednost u 100 g
Kalcij, Ca	mg	631
Željezo, Fe	mg	7,72
Magnezij, Mg	mg	335
Fosfor, P	mg	860
Kalij, K	mg	407
Natrij, Na	mg	16
Cink, Zn	mg	4,58

**Tablica 6** Udio vitamina u chia sjemenci (sušene, 100 g) (USDA, 2014.)

Vitamin	Mjerna jedinica	Vrijednost u 100 g
Vitamin C (askorbinska kiselina)	mg	1,6
Tiamin	mg	0,620
Riboflavin, vitamin B2	mg	0,170
Niacin, vitamin B3	mg	8,830
Vitamin B-12	µg	0,00
Vitamin A	IU	54
Vitamin E (alfa tokoferol)	mg	0,50

**Tablica 7** Udio masnoća u chia sjemenkama iz Argentine (Ayerza i Coates, 2011.)

Lipidi u sjemenci (%)	Palmitinska MK (16:0)(%)	Stearinska (18:0) (%)	Oleinska (18:1) (%)	Linolna (18:2) (%)	Linolenska (18:3) (%)	ZMK (%)	PUFA (%)
33,5	6,89	2,36	6,73	22,5	60,35	9,26	82,85



### 2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50 °C. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja ulja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (NN 41/12.).

Tehnološki proces proizvodnje jestivih hladno prešanih (**Slika 6**) kao i nerafiniranih ulja u osnovi obuhvaća dvije osnovne faze:

- pripremu sirovine za izdvajanje ulja i
- izdvajanje ulja mehaničkim putem.

Izdvajanje ulja treba prilagoditi, prije svega, polaznim sirovinama. Sirovine treba pripremiti tako da se ulje može što lakše izdvojiti, a istovremeno zbog odsustva rafinacije, ulje mora biti što bolje kvalitete (Dimić, 2005.).



**Slika 6** Shema proizvodnje ulja chie

### 2.3.1. Priprema sirovina za izdvajanje ulja

Priprema sirovina za izdvajanje ulja obuhvaća čišćenje, sušenje, ljuštenje i mljevenje, međutim, na prešanje može ići sirovina i bez ljuštenja i mljevenja, što ovisi o vrsti sirovine (Dimić, 2005.).

Čišćenje sjemenki je tehnološka operacija koja se zasniva na raznim principima razdvajanja, a najčešće se obavlja:

- Prosijavanjem (odvajanjem na bazi različitih dimenzija sjemenki i nečistoća);
- odvajanjem na bazi magnetizma i
- odvajanje aspiracijom (odvajanjem na bazi različitih aerodinamičnih svojstava sjemenki i nečistoća)(Dimić, 2005.).

Čišćenje se mora provesti što efikasnije da zaostale nečistoće ne bi imale utjecaja na kvalitetu prizvedenog ulja.

Za chia sjemenke nije potrebno provoditi tehnološke operacije ljuštenja i mljevenja jer sjemenke chie ne sadrže ljusku. Biljku je potrebno osušiti, a zatim odvojiti sjemenke od biljke, ručno (**Slika7**) ili strojno. Sjemenke treba očistiti od svih stranih tijela, kao što su kamenje, zemlja i slomljene sjemenke, a očišćene sjemenke idu na proces prešanja na kontinuiranoj pužnoj preši.



**Slika 7** Ručno odvajanje sjemenki chie (WEB 1)

### 2.3.2. Prešanje

Prešanje je mehanička ekstrakcija kod koje se iz prethodno pripremljenih sirovina izdvaja ulje primjenom visokih tlakova. Danas se najčešće koriste hidraulične i pužne preše. U ovom radu korištena je kontinuirana pužna preša.

#### Pužne preše

Preše ovisno o načinu rada dijelimo na diskontinuirane i kontinuirane. U proizvodnji biljnih ulja koriste se kontinuirane pužne preše zbog većeg kapaciteta prerade. Kontinuirana pužna preša sastoji se od vodoravnog puža na glavnoj osovini, koša oko puža, uređaja za punjenje i doziranje materijala, uređaja za regulaciju debljine pogače i kučišta preše. Princip rada pužne preše zasniva se, kako i samo ime kaže, na snažnoj pužnici koja gura sjemenke iz većeg zatvorenog prostora u manji i na taj način dolazi do porasta tlaka i cijedenja ulja. Pužne preše ujedno služe i kao transportno sredstvo.

Regulacija debljine izlazne pogače u preši se postiže odgovarajućom konstrukcijom izlaznog konusa, a preko različite debljine pogače regulira se radni tlak u preši (Rac, 1964.).

Stupanj djelovanja kontinuiranih pužnih preša koje rade kao predpreše je oko 50 - 60 % u odnosu na sadržaj ulja, a kod završnih preša može iznositi čak i 80 - 90 % (Dimić i Turkulov, 2000.). Trenje u materijalu i preši je veliko, pa je neizbježan porast temperature. Visoka trenja mogu povisiti temperaturu materijala do 170 °C.

Kod proizvodnje hladno prešanih ulja vrijednost temperature sirovog ulja koje napušta prešu je vrlo bitna, jer ne bi smjela biti viša od 50 °C. Da bi se to postiglo potrebne su preše posebne konstrukcije ili se prešanje mora provesti pri blažim uvjetima, tj. pri nižem tlaku. U tom slučaju sadržaj zaostalog ulja u pogači je u pravilu veći, odnosno, prinos ulja je manji (Bockisch, 1998.).

Prilikom prešanja raznih sirovina dobiju se tri proizvoda:

- nepročišćeno ulje (sirovo ulje),
- uljni talog,
- uljna pogača.

## **Hidraulične preše**

Hidraulične preše predstavljaju najstarije uređaje u proizvodnji jestivih biljnih ulja. Njihova primjena je sve rjeđa i danas se isključivo koriste za proizvodnju maslinovog ulja, ulja koštica buče, te eventualno ulja sezama (Rac, 1964.).

### **2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća**

Čišćenje sirovog ulja radi se bez obzira da li se ide na proces rafinacije ili ne. Čišćenjem se provodi:

- odvajanje mehaničkih nečistoća,
- odvajanje vode i
- odvajanje sluznih tvari (lecitin), koje mogu nepovoljno utjecati na senzorska svojstva ulja.

Mehaničke netopljive nečistoće u sirovom ulju mogu biti sitniji ili grublji dijelovi sjemena ili plodova koji su s uljem prošli kroz sita na prešama, filtere u ekstrakciji itd. Iz sirovog ulja se mogu izdvojiti primjenom taloženja (sedimentacijom), filtracijom i centrifugalnim separatorom.

#### **Odvajanje mehaničkih nečistoća taloženjem**

Odvajanje taloženjem ili sedimentacijom je najjednostavniji način odvajanja mehaničkih nečistoća koje su specifično teže od ulja, odnosno imaju veću specifičnu masu. Takve nečistoće odvajaju se na dnu posude prirodnim putem i lako ih je ukloniti iz ulja. Nedostatak ovog načina odvajanja mehaničkih nečistoća je mala brzina taloženja pa proces može potrajati i do nekoliko tjedana.

Najpovoljnije je da se taloženje odvija u rezervoarima koji na raznim visinama imaju slavine za ispuštanje već bistrih gornjih slojeva ulja (Dimić, 2005.).

#### **Odvajanje mehaničkih nečistoća filtracijom**

Kod ovog načina rada sirovo prešano ulje se propušta kroz filter na kojem zaostaju mehaničke nečistoće. Kao filter mogu se koristiti filtracijske tkanine od pamuka, lana, sintetičkih vlakana ili fina metalna sita. Filtracija se prema potrebi može ponavljati i više puta. Filtriranje sirovog ulja se provodi raznim uređajima kao što su: vibracijska sita, filter preše, filtracijske centrifuge ili centrifugalni separatori. Kapacitet filtracije je proporcionalan

veličini filtracijske površine i brzini filtracije. Brzina filtracije ovisi o veličini pora filtera, viskozitetu ulja i osobinama taloga koji zaostaje na filteru. Brzina filtracije se može povećati dodatkom pomoćnog filtracijskog sredstva (Dimić, 2005.).

#### **2.3.4. Pakiranje i skladištenje biljnih ulja**

Jestivo biljno ulje je po pitanju održivosti vrlo osjetljiv prehrambeni proizvod. Tijekom čuvanja odnosno skladištenja kvaliteta ulja se mijenja pod utjecajem temperature, svjetlosti, kisika i drugih čimbenika. Ambalažni materijali, odnosno ambalaža treba pružati zaštitu zapakiranom ulju do trenutka uporabe, te je pitanje izbora ambalažnih materijala veoma važno. Ambalažni materijali za pakiranje prehrambenog proizvoda se biraju na bazi svojstava proizvoda koji se želi zapakirati, predviđenog procesa pakiranja, kao i na osnovu njihovih svojstava. Ambalažni materijal za pakiranje hladno prešanih ulja trebao bi:

- onemogućiti interakcije sa proizvodom;
- potpuno zaštititi proizvod;
- imati poželjna barijerna svojstva na plinove, vodenu paru, svjetlost i otopine;
- imati odgovarajuću termokemijsku otpornost pri preradi i punjenju;
- imati dobra fizikalno-mehanička svojstva;
- pružati mogućnost lakog otvaranja i
- pružati potrebne informacije (Curaković i sur., 1996.).

Ambalaža je sredstvo koje prihvaća proizvod i štiti ga do upotrebe, čineći zajedno s proizvodom jednu cjelinu. Proizvod je na taj način zaštićen od djelovanja različitih čimbenika (Dimić, 2005.).

#### **2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA**

Prirodna biljna ulja sadrže tvari koje inhibiraju oksidacijske promjene i otporna su kraće ili duže vrijeme na proces autooksidacije, ali pod određenim uvjetima (voda, povišena temperatura, sunčeva svjetlost, tragovi metala itd.) javljaju se nepoželjne promjene izazvane kemijskim reakcijama (autooksidacija, termooksidacija, reverzija), enzimatskim i mikrobiološkim promjenama (hidrolitička razgradnja, ketooksidacija) (Cvejanov, 1997.).

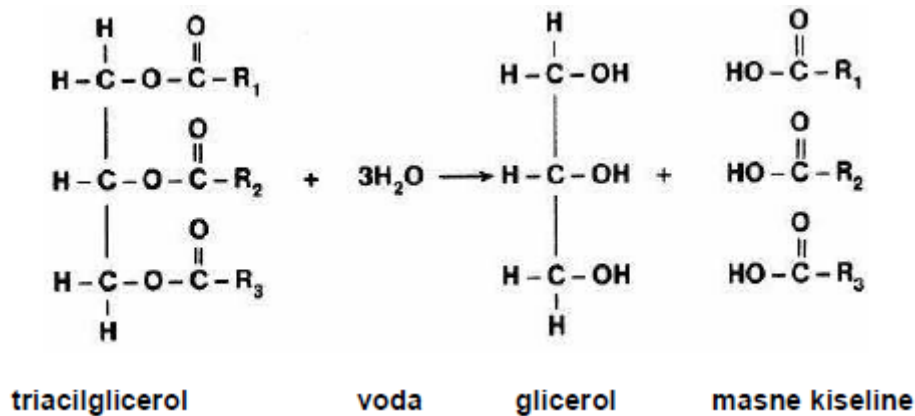
Posljedica ovih reakcija je kvarenje ulja i masti. Prilikom kvarenja dolazi do promjene organoleptičkih svojstava masti i mijenja se njihova prehrambena vrijednost. Dolazi i do

mjenjanja ili gubitka jednog dijela biološki aktivnih tvari kao što su esencijalne masne kiseline, vitamini, provitamini i drugi sastojci. Posljedica kvarenja su razgradni produkti (posebno isparljivi karbonilni spojevi i niže molekularne masne kiseline) koji ulju daju neugodan okus i miris. Neki razgradni produkti mogu biti i štetni za zdravlje (peroksidi, polimeri, malondialdehidi) pa se takve masti koriste u tehničke svrhe (Čorbo, 2008.).

### 2.4.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

#### Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja u biljnim uljima je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida, uz prisutnost vode i enzima lipaze (**Slika 8**).



**Slika 8** Hidrolitička razgradnja triacilglicerola

Pri tome nastaju jedna, dvije ili tri molekule masnih kiselina i glicerola, a posljedica je povećanje udjela slobodnih masnih kiselina (Mokrovčak, Rade, Štrucelj, 2001.), te porast kiselosti ulja.

Lipolitički enzimi inaktiviraju se na temperaturama nižim od 20°C i višim od 80°C pa se tako zaustavlja hidrolitička razgradnja. Ova razgradnja nastaje prvenstveno u ulju unutar sjemenke, ali i u izdvojenom ulju, ako je u dodiru s vodom i ako se čuva u neprikladnim uvjetima. Posljedica je povećanje udjela slobodnih masnih kiselina u ulju i nastajanje novih proizvoda razgradnje (mono- i digliceridi, glicerol). U hladno prešanim uljima dozvoljen je udio SMK maksimalno 2% izražen kao % oleinske kiseline (NN 41/12).

## **$\beta$ -ketooksidacija**

Ova vrsta kvarenja spada u mikrobiološke procese kvarenja masti i ulja djelovanjem plijesni iz grupa *Aspergillus* i *Penicillium*, te bakterija grupe *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*.

Zasićene masne kiseline su relativno inertne i na njih kisik djeluje samo pri vrlo oštrim uvjetima ili biološkom katalizom. U normalnim uvjetima rijetko dolazi do  $\beta$ -oksidacije masti i ulja, a kada dođe do toga uzrokuju je mikroorganizmi (MO) i enzimi kada masti nisu čiste, ili su dio neke namirnice koja uz masti sadrži vodu i druge tvari koje su hranjivi supstrat mikroorganizmima. MO u prisustvu kisika napadaju ZMK i to metilensku grupu u  $\beta$ -položaju. Postoje dva produkta  $\beta$ -oksidacije:

- primarni -  $\beta$ -keto kiseline i
- sekundarni - metil ketoni (Mokrovčak, Rade, Štrucelj, 2001.).

Posljedica ovog kvarenja su neugodan miris i okus (miris užglosti), te mogu nastati žuti, crveni i plavozeleni pigmenti koji uzrokuju obojenje masti (Čorbo, 2008.).

Ova vrsta kvarenja sprječava se postupcima sprječavanja rasta i razvoja mikroorganizama koji uključuju pasterizaciju, sterilizaciju, promjenu pH sredine ( $\leq 5$ ), dodatkom antioksidanasa i konzervansa.

### **2.4.2. Kemijski procesi**

U kemijske procese kvarenja biljnih ulja pripada:

- autooksidacija,
- termooksidacijske promjene i
- reverzija.

#### **Autooksidacija**

Autooksidacija je vrsta kvarenja biljnih ulja kod koje se kisik veže na nezasićene (dvostruke) veze masnih kiselina.

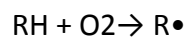
Autooksidacija, prvenstveno polinezasićenih masnih kiselina, odvija se kod izlaganja svjetlu, kisiku i ionima metala. Također, oksidaciju kataliziraju i enzimi poput lipoksigenaze.

Zasićene masne kiseline i masne kiseline koje sadrže jednu dvostruku vezu znatno su otpornije na oksidaciju nego polinezasićene masne kiseline (Klapec, 2014.).

Tri glavna koraka lipidne oksidacije su :

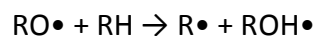
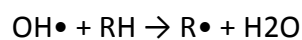
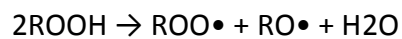
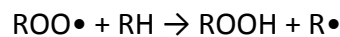
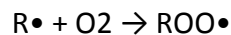
### 1. Inicijacija

Kisik iz zraka djeluje na nezasićene masne kiseline, na metilnim skupinama dolazi do homolitičkog cijepanja i izdvaja se vodik i nastaje alkil radikal masne kiseline. Nastanak nestabilnog slobodnog radikala masne kiseline može se dogoditi uz energiju elektromagnetskog zračenja ili katalizatore poput iona metala (Klapec, 2014.).



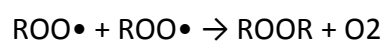
### 2. Propagacija

Slobodni radikal masne kiseline reagira s molekularnim kisikom i nastaje peroksidni radikal masne kiseline i hidroperoksidi. Nastali hidroperoksidi se mogu fragmentirati u slobodne radikale, npr. u prisustvu iona metala (Klapec, 2014.) jer su nestabilni.



### 3. Terminacija

Nastanak neradikalnih produkata (alkohola, aldehida, ketona, ugljikovodika, polimera, itd.) međusobnom reakcijom slobodnih radikala ili djelovanjem antioksidanasa (Klapec, 2014.).



Hidroperoksidi su primarni produkti autooksidacije, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom hidroperoksida. To su aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i drugi spojevi (Odak,



2013.). Najveći dio razgradnih produkata daju ulju neugodan miris i okus po užglosti, što umanjuje kakvoću ulja. Reakcija oksidacije lančano se nastavlja, sve dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno, stvarajući neaktivne i stabilne polimere (Ročak, 2005.).

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

Pri višim temperaturama (iznad 100 °C) oksidacija ulja se naglo ubrzava. Nakon određenog vremena zagrijavanja ulja osim produkata oksidacije (hidroperoksidi i njihovi razgradni produkti) dolazi do nastanka produkata termooksidacije: cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina i triglicerida, oksipolimeri i ostali hlapljivi i nehlapljivi spojevi. Do sada je identificirano preko 400 spojeva (Odak, 2013.).

Prženjem hrane u ulju dolazi do fizikalnih i kemijskih promjena. Zagrijavanjem ulja dolazi do porasta viskoznosti, indeksa refrakcije i specifične težine, porasta udjela slobodnih masnih kiselina, broja osapunjenja, porasta peroksidnog broja i smanjenja jodnog broja.

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

### **Reverzija**

Reverzija je pojava kod koje ulje, nakon kraćeg vremena čuvanja, poprima neugodan miris i okus po sirovini ili ribi.

Da bi se usporila reverzija primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja, kako bi se uklonila linolenska kiselina, ili se dodaju aditivi koji povećavaju održivost ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

## 2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Oksidacijsku stabilnost ili održivost biljnih ulja može se poboljšati dodatkom antioksidanasa, sinergista i sekvestranata.

### 2.5.1. 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 (NN 64/10).

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 dodjeljeni su im E brojevi od 300 do 340, zakonskim propisima određuje se u kojoj količini se smiju dodavati prehrambenim proizvodima.

Antioksidansi usporavaju oksidaciju masti, a ukoliko su dodani nakon završetka perioda indukcije, nemaju utjecaja. Da bi antioksidansi mogli djelovati, moraju biti dodani u svježju 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•)



Antioksidans veže slobodne radikale iz masnih kiselina i peroksida pa tako sprječava autooksidacijsko kvarenje ulja i masti.

Sa 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.; Merrill i sur., 2008.). 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.).

U zadnjih pet godina, 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.).

Najznačajniji sintetski antioksidansi prikazani su u **Tablici 8**:

**Tablica 8** Sintetski antioksidansi (NN 64/10)

E broj	Naziv aditiva	Osnovno tehnološko-funkcionalno djelovanje
E 310	Propil galat	antioksidans
E 311	Octil galat	antioksidans
E 312	Dodecil galat	antioksidans
E 319	Tercijalni butil hidrokinon (TBHQ)	antioksidans
E 320	Butilirani hidroksianisol (BHA)	antioksidans
E 321	Butilirani hidroksitoluen (BHT)	antioksidans

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa izražava se formulom **(1)** za antioksidacijski indeks (AI) koji pokazuje koliko je puta povećana održivost ulja ili masti dodatkom antioksidansa (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

$$AI = S2/S1 \quad (1)$$

gdje je:

**S2**- održivost masti s dodanim antioksidansom

**S1**-održivost masti bez dodanog antioksidansa

### 2.5.2. Sinergisti

Tvari koje nemaju antioksidacijska svojstva, ali poboljšavaju djelovanje antioksidanasa, zovu se sinergisti. Nažalost, antioksidansi i sinergisti ponekad se djelomično ili potpuno uklanjaju iz sirovog biljnog ulja tijekom procesa rafinacije. Najčešće korišteni sinergisti su limunska, octena i askorbinska kiselina, lecitin i askorbil palmitat.

Poznata su tri načina djelovanja sinergista:

1. Doniraju vodikov atom antioksidansu, na taj ga način reduciraju i regeneriraju, tako produžuju njegovo djelovanje.

2. Vežu tragove metala (Cu, Fe), inaktiviraju metale i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje.
3. Sprječavaju djelovanje antioksidanasa na razgradnju peroksida na način da se vežu sa radikalom antioksidansa i time zaustavljaju njegov utjecaj.

### 2.5.3. Prooksidansi

Prooksidansi su tvari koje potiču oksidaciju biljnih ulja. Uključuju prethodno formirane hidroperokside i tragove metala (posebno bakar i željezo) od kojih svi potiču lančanu reakciju autooksidacije (Frankel, 1998.).

U najčešće prooksidanse ubrajamo svjetlost, kisik, visoku temperaturu i neke pigmente. Kod povišene temperature se ubrzava proces autooksidacije ulja i razgradnje hidroperoksida. Nastanak produkata autooksidacije je spor kod niskih temperatura skladištenja.

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 slobodne masne kiseline 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, 2014.).

Ulje je potrebno pravilno pakirati i skladištiti da bi se izbjegao utjecaj prooksidanasa i spriječilo kvarenje biljnog ulja.

## 2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH 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

Ovo je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za određivanje održivosti ulja i masti. Uzorci se drže u sušioniku ili termostatu pri temperaturi od 60°C ili 63 °C i prati se porast peroksidnog broja. Rezultat se izražava kao:

- vrijeme u danima za koje peroksidni broj dostigne određenu vrijednost,
- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena,
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užeglosti putem senzorskih ispitivanja.

### 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 peroksidnog broja 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 mmolO<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 tok oksidacije. Vrijeme indukcijske 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.).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**



### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja sjemenke chie (temperature zagrijavanja glave preše, veličine otvora glave preše i frekvencije elektromotora - brzine pužnice) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja chie. Također, u ovom radu zadatak je bio ispitati oksidacijsku stabilnost (održivost) proizvedenog ulja, te ispitati utjecaj dodatka pojedinog antioksidansa na promjene u stabilnosti hladno prešanog ulja chie.

Primjenom standardnih metoda, određeni su parametri kvalitete ulja: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, netopljive nečistoće, vlaga, anisidinski i totox broj, te karakteristike za identifikaciju ulja: jodni i saponifikacijski broj. Udio ulja u sjemenkama i pogači određen je metodom po Soxlet-u.

Održivost proizvedenog hladno prešanog ulja chie određena je primjenom Oven testa i praćenjem promjene vrijednosti peroksidnog broja uzorka čistog hladno prešanog ulja chie i uzoraka s dodanim prirodnim antioksidansima tijekom 4 dana trajanja testa.

### 3.2. MATERIJALI I METODE

#### 3.2.1. Materijali

##### CHIA SJEMENKE

Chia sjemenke (*Salvia hispanica* L.) korištene u ovom radu, uzgojene su u Argentini, a dobavljač je poljoprivredni obrt „Organica Vita“ iz Vraneševaca, Virovitičko-podravska županija, Republika Hrvatska. Sjemenke su skladištene i čuvane u vrećama od 25 kg.

##### ANTIOKSIDANSI

##### Ekstrakt ružmarina OxyLess®.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%. U ispitivanju stabilnosti ulja smo ga upotrijebili u udjelima od 0,1% i 0,3% računato na masu ulja.

**Ekstrakt zelenog čaja**

Ekstrakt zelenog čaja proizveden je iz listova biljke *Camellia sintensis* L. i u praškastom je obliku. Udio epigalokatehin galata (EGGG) veći je od 45%, udio ukupnih polifenola veći je od 98%, udio kofeina manji je od 2%, a udio katehina veći je od 80%. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelima 0,1% i 0,3% računato na masu ulja.

**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%. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelima 0,1% i 0,3% računato na masu ulja.

**Ekstrakt maslinovog lista**

Ekstrakt maslinovog lista je suhi ekstrakt proizveden iz lista masline (*Olea europae* L.). Nalazi se u praškastom obliku, a po sastavu sadrži 4,41 % DPE. Proizvođač je Exxentia, Španjolska.

**Eterično ulje origana**

Eterično ulje origana dobiveno je parnom destilacijom listova origana (*Origanum vulgare* L.) i u tekućem je obliku. To je prirodni ekstrakt i sadrži više od 70 % karvakrola. DPPH metodom (Espin i sur., 2000.) je određena antioksidacijska aktivnost eteričnog ulja origana i iznosi  $IC_{50}=0,1488$  (mg/ml).

**Eterično ulje kadulje**

Prirodni ekstrakt kadulje je eterično ulje dobiveno iz osušenih listova kadulje (*Salvia officinalis* L.). Nalazi se u tekućem obliku i blijedo-žute do zelene je boje.

**Eterično ulje rtanjskog čaja**

Eterično ulje rtanjskog čaja je dobiveno parnom destilacijom cvjetnih vrhova rtanjskog čaja (*Satureja Montana*). Proizvedeno je od strane Instituta za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija). DPPH metodom (Espin i sur., 2000.) je određena antioksidacijska aktivnost eteričnog ulja rtanjskog čaja i iznosi  $IC_{50} = 0,0629$  (mg/ml).

## PUŽNA PREŠA

U ovom radu za proizvodnju hladno prešanog ulja chie korištena je kontinuirana pužna preša (Slika 9) koju proizvodi tvrtka „ElektroMotor-Šimon“, Srbija. Tip preše je SPU 20, a kapacitet prešanja je 20 - 25 kg/h, snaga elektromotora je 1.5 kW.



Slika 9 Pužna preša

### 3.2.2. Metode

#### 3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači

Udio ulja u sjemenkama chie i udio ulja zaostalog u pogači nakon prešanja određen je standardnom metodom ekstrakcije ulja po Soxletu. Za ekstrakciju je korišteno otapalo petrol-eter. Aparatura za ekstrakciju ulja ovom metodom sastoji se od tikvice, ekstraktora i hladila. Na osušenu i izvaganu tikvicu stavlja se ekstraktor sa tuljkom u kojem je uzorak. Dodano je otapalo, pričvršćeno hladilo i provedena ekstrakcija do isrpljenja uzorka. Na kraju se otapalo predestilira, a zaostalo ulje iz tikvice se suši i važe. Udio ulja računa se prema formuli (2):

$$\text{Udio ulja \%} = (a - b) / c \cdot 100 \quad (2)$$

gdje je:

a – masa tikvice sa uljem (g);

b – masa prazne tikvice (g);

c – masa uzorka koji se ispituje (g).

### 3.2.2.2. Određivanje stupnja djelovanja preše

Na temelju udjela ulja u sirovini i dobivenoj pogači, može se izračunati prinos prešanog ulja, odnosno stupanj djelovanja prešanja (Dimić i Turkulov, 2000.).

Količina prešanog ulja (%) izračunava se primjenom formule **(3)**:

$$U = U_0 - U_p \cdot (a / b) (\%) \quad (3)$$

gdje je:

U- količina prešanog ulja (%);

$U_0$ - udio ulja u sirovini (%);

$U_p$ - udio ulja u pogači (%);

a- suha tvar u sirovini (%);

b- suha tvar u pogači (%).

Stupanj djelovanja prešanja (P) izračunava se primjenom formule **(4)**:

$$P = (U / U_0) \cdot 100 (\%) \quad (4)$$

gdje je:

U- količina prešanog ulja (%);

$U_0$ - udio ulja u sirovini (%).

### 3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja

#### Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja i njegovo određivanje je jedna od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije ulja. Čuvanjem masti i ulja pod utjecajem prooksidanasa, dolazi do vezanja kisika na dvostruke veze masne kiseline pri čemu nastaju peroksidi, tj. hidroperoksidi. U ovom ispitivanju peroksidni broj je određen standardnom metodom – Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijski određivanje točke završetka prema zahtjevima norme HRN EN ISO 6885:2007. Rezultat je izražen kao broj milimola aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mm  $O_2$ /kg).

Peroksidni broj se određuje na način da se uzorak ulja otopi u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma, promješa te dodaje KI. Uzorak se točno jednu minutu homogenizira rukom, a zatim se razrijedi prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom, te se doda škrob kao indikator. Djelovanjem peroksida oslobađa se jod iz otopine kalij jodida koji se zatim određuje titracijom sa natrij-tiosulfatom. Na isti način provodi se slijepa proba, ali bez ulja.

Peroksidni broj su mL 0, 002 M otopine natrij tiosulfata potrebnog za redukciju one količine joda koji oslobodi 1 g masti ili ulja iz kalij jodida, a izražava se prema formuli (5):

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

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 vlage u ulju

Količina vlage (vode) i isparljivih (hlapljivih) tvari je važan pokazatelj kvalitete sirovih i rafiniranih biljnih ulja. Zbog prisustva vlage u ulju, pri određenim uvjetima, može doći do hidrolitičkih promjena što rezultira porastom kiselosti ulja tj. povećava se udio slobodnih masnih kiselina čime se pogoršava kvaliteta ulja. Također, veća količina vlage u ulju može dovesti do zamućenja ulja što dovodi do smanjenja estetske vrijednosti ulja. Metoda za određivanje vlage i isparljivih tvari u ulju temelji se na isparavanju vode i hlapljivih tvari iz ulja zagrijavanjem u sušioniku pri točno definiranim uvjetima. Dolazi do gubitka mase (izražen u %) pri zagrijavanju na  $103 \pm 2$  °C, do konstantne mase. Gubitak mase utvrđuje se vaganjem.

Udio vlage u ulju računa se prema formuli (6):

$$\% \text{ vlage i isparljivih tvari} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (6)$$

gdje je:

$m_0$  – masa staklene posudice (g);

$m_1$  – masa staklene posudice i uzorka (g);

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

### **Određivanje količine netopljivih nečistoća u ulju**

Netopljive nečistoće u ulju predstavljaju uglavnom mehaničke nečistoće (krute, čvrste čestice iz sjemenke). Također, mogu se naći u uljima i mastima razni ugljikohidrati, tvari s dušikom, smole, Ca-sapuni, oksidirane masne kiseline, laktoni masnih kiselina, hidroksi-masne kiseline i njihovi gliceridi. Za ove spojeve karakteristično je da se ne otapaju u organskim otapalima kao što se otapaju trigliceridi (ulja i masti).

Količina netopljivih nečistoća, kao uvjet kvalitete ulja, limitirana je kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih ulja određenim Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN41/12). Dopuštena maksimalna vrijednost netopljivih nečistoća je 0,1%.

Netopljive nečistoće u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 663: 1992.

Metoda se zasniva na principu da se uzorak za ispitivanje tretira odgovarajućim organskim otapalom za lipide kao što je n-heksan ili petrol-eter. Dobivena otopina se filtrira kroz stakleni filter lijevak sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom. Zaostali netopljivi talog na filteru se suši do konstantne mase i važe.

Udio netopljivih nečistoća u ulju izražava se kao % netopljive nečistoće, a računa se prema formuli (7):

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \cdot 100 \quad (7)$$

gdje je:

$m_0$  – masa uzorka (g);

$m_1$  – masa osušenog filter-ljevka (g);

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

### **Određivanje slobodnih masnih kiselina**

Masti i ulja, osim masnih kiselina koje su vezane u trigliceridima, sadrže i određenu količinu slobodnih masnih kiselina. Slobodne masne kiseline nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triglicerida i njihov udio ovisi od načina dobivanja ulja, o upotrebljenim sirovinama i uvjetima čuvanja, te se može izraziti kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj ili
- % SMK (izražen kao oleinska kiselina).

Navedene vrijednosti mogu se dobiti istim postupkom određivanja i mogu se preračunati jedna u drugu. Najčešće se udio SMK izražava kao %SMK (oleinska kiselina).

Slobodne masne kiseline u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 660:1996 pod nazivom - Određivanje kiselinskog broja i kiselost.

Metoda se zasniva na principu titracije ulja, otopljenog u otapalu, sa otopinom natrij hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$ . Izvagan uzorak ulja prelije se s neutralnom smjesom etera i etanola te promućka. Zatim se doda nekoliko kapi otopine fenolftaleina i titrira sa  $0,1 \text{ M}$  otopinom NaOH do promjene boje.

Udio slobodnih masnih kiselina je izražen kao % SMK izražene kao oleinska kiselina, a računa se prema formuli **(8)**:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M/m \quad \text{(8)}$$

gdje je:

V – utrošak otopine natrijevog hidroksida za titraciju uzorka (mL);

c – koncentracija otopine natrijevog hidroksida utrošenog za titraciju ( $0,1 \text{ mol/L}$ );

M – molekularna masa oleinske kiseline [ $282 \text{ g/mol}$ ];

m – masa uzorka ulja (g).

### **Određivanje anisidinskog broja**

Određivanje anisidinskog broja našlo je široku primjenu kod ispitivanja kvalitete sirovih i jestivih ulja, jer omogućuje potpuniju procjenu kvalitete. Iako zakonski propisi kvalitete za anisidinski broj nemaju ograničenja, smatra se da bi za ulje dobre kvalitete anisidinski broj trebao biti manji od 10.

Anisidinski broj (Abr) omogućuje direktno određivanje sadržaja neisparljivih karbonilnih spojeva, tj. sekundarnih produkata oksidacije, koji su prisutni u ulju, a nastali su razgradnjom primarnih produkata oksidacije. Određivanje ove vrijednosti se zasniva na reakciji p – anisidina sa višim nezasićenim aldehidima (2, 4-dienal i 2-enal) pri čemu nastaju Schiffove

baze koje apsorbiraju u UV području na valnoj duljini od 330 do 350 nm. Povećanje apsorbancije otopine ulja na 350 nm, uslijed reakcije sa p – anisidinom, je mjerilo količine prisutnih karbonila. Vrijednost ove apsorbancije povećana 100 puta daje anisidinski broj.

Uzorak za ispitivanje se otopi u odgovarajućem otapalu, doda se reagens p-anisidin u kiseloj sredini i nakon 10 minuta se mjeri apsorbancija na valnoj duljini od 350 nm.

Povećanje apsorbancije u odnosu na slijepu probu, koja se priprema na isti način i pri istim uvjetima, ali bez uzorka, daje podatak o vrijednosti anisidinskog broja. U praksi se anisidinski broj izražava na osnovu 1 g uzorka za ispitivanje u 100 mL otopine.

Anisidinski broj u uzorcima biljnih ulja određivan je primjenom standardne metode prema normi ISO 6885 pod nazivom Određivanje anisidinskog broja (ISO, 2006.)

Anisidinski broj, izražen kao 100 puta apsorbancija 1% otopine na 350 nm računa se po formuli **(9)**:

$$\text{Abr} = \frac{100 \cdot 0,01025}{m} \cdot [1,2 \cdot (A_1 - A_2 - A_0)] \quad (9)$$

gdje je:

$m$  – masa uzorka (g);

$A_0$  – apsorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji nije reagirao;

$A_1$  - apsorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji je reagirao;

$A_2$  – apsorbancija slijepe probe.

### **Određivanje totox broja**

Totox brojem određujemo količinu primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja, tako što se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja. Totox broj izračunava se prema formuli **(10)**:

$$\text{OV (totox broj)} = 2 \text{ Pbr} + \text{Abr} \quad (10)$$

gdje je:

Pbr – peroksidni broj;

Abr – anisidinski broj.



### 3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja

#### Određivanje jodnog broja

Jodni broj je važan jer ukazuje na nezasićenost masti ili ulja, odnosno ukazuje na prisustvo nezasićenih veza masnih kiselina u molekuli triacilglicerola. Jodni broj je količina joda u gramima koja se veže na 100 g ulja ili masti (g/100g).

Princip metode određivanja jodnog broja zasniva se na vezanju joda na dvostruke veze masne kiseline, te iz njegove vrijednosti dobivamo uvid u stupanj nezasićenosti ulja ili masti. Veća vrijednost jodnog broja predstavlja prisutnost više nezasićenih masnih kiselina.

Na ulje se djeluje smjesom halogena, a nakon adicije se višak halogena određuje titracijom sa natrij tiosulfatom.

Metoda se provodi tako da se uzorak ulja otopi u kloroformu, a zatim se otopini doda otopina jodnog monobromida, promućka, začepi i ostavi u tamnom prostoru pola sata. Zatim se otopini doda KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda i vrši se titracija s otopinom natrij tiosulfata do pojave svijetlo žute boje, nakon čega se uzorku dodaje otopina škroba i titrira se do nestanka plave boje. Slijepa proba radi se na isti način, ali bez uzorka ulja.

Jodni broj računa se prema formuli **(11)**:

$$\text{Jodni broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 0,01269}{c} \cdot 100 \text{ [g/100g]} \quad \text{(11)}$$

gdje je:

$V_0$  - volumen utrošene 0,1 M otopine natrij-tiosulfata za titraciju slijepa probe (mL);

$V_1$  – volumen utrošene 0,1 M otopine natrij-tiosulfata za titraciju uzorka (mL);

$c$  – masa ispitivanog uzorka (g).

#### Određivanje saponifikacijskog broja

Saponifikacijski broj označava broj mg KOH koji je potreban za potpunu saponifikaciju slobodnih i esterski vezanih masnih kiselina u 1 g masti. Vrijednost saponifikacijskog broja je konstanta koja je karakteristična za pojedina ulja ili masti i ovisi o molekulskim masama masnih kiselina koje ulaze u sastav masti. Vrijednost saponifikacijskog broja je veća ukoliko je

molekulska masa manja i obrnuto. Na sadržaj saponifikacijskog broja utječe i sadržaj neosopunjivih tvari, odnosno dodanih stranih primjesa.

Saponifikacija masti i ulja provodi se pomoću alkoholne otopine KOH, poznatog molariteta, a višak nevezanih hidroksida se retitrira otopinom klorovodične kiseline poznatog molariteta.

Saponifikacijski broj računa se prema formuli **(12)**:

$$\text{Saponifikacijski broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 28,1}{m} \quad (12)$$

gdje je:

$V_0$  – volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za titraciju slijepe probe (mL);

$V_1$  - volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za tiraciju uzorka (mL);

$m$  – masa uzorka (g).

1 ml 0,5 M otopine HCl ekvivalentan je 28,1 mg KOH.

### 3.2.2.5. Određivanje antioksidacijske aktivnosti prirodnih antioksidanasa

DPPH test je najčešće korištena *in vitro* metoda za efikasno određivanje antioksidacijske aktivnosti, koja je bazirana na razmjeni vodikovih atoma ili elektrona između molekula antioksidansa iz biljnog ekstrakta ili eteričnog ulja i DPPH radikala u otopini (Ahn i sur., 2004.). DPPH radikal pod utjecajem reducirajućih reagenasa mijenja boju od ljubičaste do žute. Postotak promjene boje se prati spektrofotometrijski na valnoj duljini od 517 nm (Stanojević i sur., 2009).

Antioksidacijska aktivnost računa se prema formuli **(13)**:

$$\% \text{ RCS} = 100 - \frac{A_u \cdot 100}{A_s} \quad (13)$$

gdje je:

$A_u$  – apsorbancija uzorka

$A_s$  – apsorbancija slijepe probe

Za sva ispitana eterična ulja određena je IC<sub>50</sub> vrijednost (koncentracija ekstrakta potrebna za neutraliziranje 50 % početne koncentracije DPPH radikala).

### 3.2.2.6. Određivanje oksidacijske stabilnosti

#### Priprema uzorka za analizu

Prije početka ispitivanja oksidacijske stabilnosti proizvedenog hladno prešanog ulja chie odrede se osnovni parametri kvalitete kao što je udio slobodnih masnih kiselina i 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 promješa staklenim štapićem (**Slika 10**). Uzorci se zatim zagriju na temperaturu 70 °C do 80 °C 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 (Binder) čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa i bez dodanih antioksidanasa.



**Slika 10** Pripremljeni uzorci ulja chie

#### UZORCI:

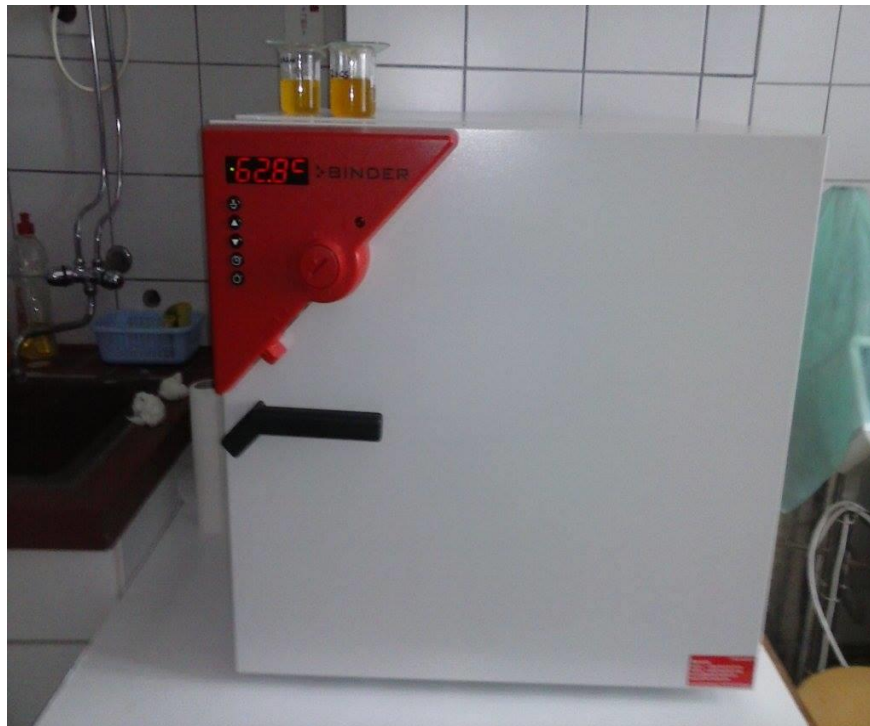
1. ČISTO ULJE CHIE
2. ULJE + 0,1 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)
3. ULJE + 0,3 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)

4. ULJE + 0,1 % ekstrakt zelenog čaja
5. ULJE + 0,3 % ekstrakt zelenog čaja
6. ULJE + 0,1 % ekstrakt nara
7. ULJE + 0,3 % ekstrakt nara
8. ULJE + 0,1 % maslinov list
9. ULJE + 0,3 % maslinov list
10. ULJE + eterično ulje origana
11. ULJE + eterično ulje kadulje
12. ULJE + eterično ulje rtanjskog čaja

### **Oven test**

Oven test proveden je na čistom uzorku ulja chie, te na uzorcima ulja chie kojima su dodani pojedini antioksidansi (prirodni). Pripremljeni uzorci ulja zagrijavani su u sušioniku (Binder) pri 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 Binder. Kada se temperatura 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 (**Slika 11**) pri temperaturi 63°C odnosno tijekom 4 dana trajanja testa.



**Slika 11** Termostat (Binder)

## **4. REZULTATI**

**Tablica 9** Utjecaj veličine otvora glave preše pri temperaturi glave preše 100 °C, kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)	Pbr (mmol/kg)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
<b>N = 8 mm</b> <b>F = 35 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	168	146	52	401,65	7,59	76,82	0,22	0,73	0,055	0,075
<b>N = 9 mm</b> <b>F = 35 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	155	105	50	368,32	10,44	68,11				
<b>N = 10 mm</b> <b>F = 35 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	142	112	51	356,11	12,94	60,48				
<b>N = 8 mm</b> <b>F = 40 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	138	115	51	360,55	10,41	68,21				
<b>N = 9 mm</b> <b>F = 40 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	140	106	50	375,38	11,08	66,16				
<b>N = 10 mm</b> <b>F = 40 Hz</b> <b>T = 100 °C</b>	0,5	135	80	49	378,50	10,85	66,86				

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C); Pbr – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; NN – netopljive nečistoće.

**Tablica 10** Utjecaj veličine otvora glave preše, pri temperaturi glave preše 110 °C, kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)	Pbr (mmol/kg)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
<b>N = 8 mm</b> F = 40 Hz T = 110 °C	0,5	145	120	54	354,50	9,53	70,89	0,22	0,73	0,055	0,075
<b>N = 9 mm</b> F = 40 Hz T = 110 °C	0,5	164	115	54	400	12,41	62,10				
<b>N = 10 mm</b> F = 40 Hz T = 110 °C	0,5	138	105	53	361,11	12,09	63,07				

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C); Pbr – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; NN – netopljive nečistoće



**Tablica 11** Utjecaj temperature zagrijavanja glave preše kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)	Pbr (mmol/kg)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
N = 9 mm F = 25 Hz T = 100 °C	0,5	150	109	48	356,66	10,04	69,33	0,22	0,73	0,055	0,075
N = 9 mm F = 25 Hz T = 110 °C	0,5	145	96	52	336,23	10,18	68,91				
N = 8 mm F = 30 Hz T = 100 °C	0,5	154	120	52	352,90	9,46	71,11				
N = 8 mm F = 30 Hz T = 110 °C	0,5	150	110	53	348,47	9,83	69,98				
N = 10 mm F = 30 Hz T = 100 °C	0,5	150	107	52	361,27	10,88	66,77				
N = 10 mm F = 30 Hz T = 110 °C	0,5	140	95	53	369,20	12,28	62,49				

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C); Pbr – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; NN – netopljive nečistoće

**Tablica 12** Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)	Pbr (mmol/kg)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
N = 8 mm F = 30 Hz T = 100 °C	0,5	154	120	52	352,90	9,46	71,11	0,22	0,73	0,055	0,075
N = 8 mm F = 35 Hz T = 100 °C	0,5	168	146	52	401,65	7,59	76,82				
N = 8 mm F = 40 Hz T = 100 °C	0,5	138	115	51	360,55	10,41	68,21				
N = 8 mm F = 30 Hz T = 110 °C	0,5	150	110	53	348,47	9,83	69,98				
N = 8 mm F = 35 Hz T = 110 °C	0,5	150	100	54	354,15	10,86	66,83				
N = 8 mm F = 40 Hz T = 110 °C	0,5	145	105	54	354,50	9,53	70,89				

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C); Pbr – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; NN – netopljive nečistoće

**Tablica 13** Rezultati određivanja karakteristika za identifikaciju ulja

	Hladno prešano ulje chie
Jodni broj (g I <sub>2</sub> /100g)	214,12
Saponifikacijski broj (mg KOH/g)	227,46

**Tablica 14** Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog antioksidansa, praćena tijekom 4 dana

Uzorak	Udio antioksidansa (%)	Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Ulje chie (čisto)	-	0,50	1,97	5,00	8,91	12,50
Ekstrakt ružmarina (Oxy Less CS)	0,1		0,74	2,00	3,96	5,00
	0,3		0,99	2,25	4,46	5,39
Ekstrakt zelenog čaja	0,1		1,47	3,50	4,90	7,50
	0,3		1,25	2,50	4,50	6,50
Ekstrakt nara	0,1		2,96	5,50	8,50	12,38
	0,3		1,00	5,00	8,17	12,25
Ekstrakt maslinovog lista	0,1		2,48	5,50	8,91	12,50
	0,3		1,96	5,00	7,35	11,00
Eterično ulje origana	0,05		1,50	5,00	8,91	11,39
Eterično ulje kadulje	0,05		2,46	6,00	9,50	12,75
Eterično ulje rtanjskog čaja	0,05		0,74	3,98	8,46	12,25

## **5. RASPRAVA**

## 5.1. ISPITIVANJE UTJECAJA PARAMETARA PREŠANJA NA ISKORIŠTENJE I OSNOVNE PARAMETRE KVALITETE ULJA CHIE

U eksperimentalnom dijelu rada, prije procesa hladnog prešanja, određen je udio ulja u sjemenkama chie, standardnom metodom u dva ponavljanja, a izračunat je prema izrazu (2), te izražen kao srednja vrijednost koja je iznosila 32,74 %. Također, standardnom metodom izračunat je udio vlage u sjemenkama chie i dobivena je vrijednost 7,64 %.

U **Tablici 9** prikazan je utjecaj veličine otvora glave preše (8 mm, 9 mm, 10 mm), pri temperaturi zagrijavanja glave preše 100 °C, kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja chie. Prešanje sjemenke chie provedeno je kod konstantne frekvencije elektromotora (brzina pužnice) 35 Hz. Primjenom nastavka za regulaciju veličine otvora glave preše promjera 8 mm prešanjem chie je dobiveno 168 mL sirovog ulja temperature ulja 52 °C. Nakon 7 dana prirodnog taloženja sirovog ulja u tamnom prostoru i primjenom vakuum filtracije dobiveno je 146 mL hladno prešanog ulja chie. Dobivena pogača predstavlja nusprodukt procesa prešanja chie i sadrži udio zaostalog ulja 7,59 % pri čemu je ostvaren visok stupanj djelovanja preše 76,82 % u datim uvjetima.

Postavljanjem nastavka za veličinu otvora izlaza pogače promjera 9 mm i 10 mm došlo je do smanjenja volumena proizvedenog sirovog ulja (155 mL i 142 mL), snižena je temperatura ulja kao i volumen finalnog proizvoda hladno prešanog ulja. Dobivena pogača sadržavala je veći udio ulja što rezultira i manjim stupnjem djelovanja preše.

Sljedeće ispitivanje utjecaja nastavka (promjera 8,9 i 10 mm) provedeno je kod veće brzine pužnice (40 Hz) uz istu temperaturu glave preše 100 °C. Dobiveni rezultati ukazuju da se i primjenom frekvencije od 40 Hz (brzina pužnice) dobije veći volumen hladno prešanog ulja chie, manji udio zaostalog ulja u pogači i veći stupanj djelovanja preše primjenom nastavka 8 mm u odnosu na 9 mm i 10 mm. Temperatura sirovog ulja kretala se u granicama propisanim Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN br. 41/2012.). Iz dobivenih rezultata ovog istraživanja možemo zaključiti da se primjenom nastavka manjeg promjera 8 mm ostvaruje veće iskorištenje sirovog i finalnog ulja u odnosu na primjenu 9 mm i 10 mm. Razlog tome je postignut veći procesni tlak u preši kod primjene nastavka promjera 8 mm što rezultira većom proizvodnjom ulja.

U **Tablici 10** vidljivi su rezultati ispitivanja utjecaja veličine otvora glave preše, ali kod primjene veće temperature zagrijavanja glave preše (110 °C), na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja chie. Frekvencija elektromotora (brzina pužnice) je konstantna vrijednost i iznosi 40 Hz.

Dobiveni rezultati pokazuju da se porastom temperature zagrijavanja glave preše sa 100 °C na 110 °C i primjenom nastavka promjera 8 mm dobije volumen sirovog ulja 145 mL i veći volumen hladno prešanog ulja chie (120 mL) u odnosu na primjenu nastavka 9 mm i 10 mm.

U **Tablici 11** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja temperature zagrijavanja glave preše na izlazu pogače (100 °C i 110 °C) kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete ulja proizvedenog hladno prešanog ulja. Prešanjem sjemenki chie primjenom nastavka promjera 9 mm, frekvencije elektromotora 25 Hz (brzine pužnice), a različite temperature glave preše 100 °C i 110 °C, dobiva se kod 100 °C veći volumen sirovog ulja i hladno prešanog ulja, niža temperatura sirovog ulja (48 °C), niži udio zaostalog ulja u pogači i veći stupanj djelovanja preše.

Prešanjem chie kod nastavka promjera 8 mm, frekvencije elektromotora 30 Hz (brzina pužnice), a različite temperature zagrijavanja glave preše (100 °C i 110 °C) također se dobije veće iskorištenje ulja uz manji udio zaostalog ulja u pogači primjenom temperature 100 °C. Također, ista promjena zapažena je kod prešanja s većim nastavkom promjera 10 mm gdje se isto dobije veća količina proizvedenog ulja primjenom temperature 100 °C u odnosu na 110 °C.

Iz ovih rezultata možemo zaključiti da temperatura zagrijavanja glave preše utječe na iskorištenje ulja tijekom prešanja sjemenke chie.

U **Tablici 12** prikazan je utjecaj frekvencije elektromotora 30 Hz, 35 Hz i 40 Hz (brzina pužnice) kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja.

Prešanjem chie kod nastavka promjera 8 mm, temperature zagrijavanja glave preše 100 °C i frekvencije elektromotora 35 Hz dobiva se veći volumen sirovog ulja (168 mL), veći volumen hladno prešanog ulja (146 mL), te manji udio zaostalog ulja u pogači (7,59%) uz veći stupanj djelovanja preše (76,82%) u odnosu na primjenu frekvencije elektromotora 30 Hz i 40 Hz.

Prešanjem kod najveće korištene frekvencije elektromotora 40 Hz proizvedena je najmanja količina sirovog ulja (138 mL) i finalnog ulja (115 mL) uz najveći udio ulja zaostalog u pogači (10,41%) i najmanji stupanj djelovanja preše (68,21%).

Iz dobivenih rezultata ovih ispitivanja možemo zaključiti da frekvencija elektromotora (brzina pužnice) utječe na iskorištenje ulja chie, na udio zaostalog ulja u pogači te na stupanj djelovanja preše.

Ako se povisi temperatura zagrijavanja glave preše sa 100°C na 110°C kod ovog ispitivanja tada se dobiju lošiji rezultati iskorištenja ulja kod frekvencije elektromotora 35 Hz.

Nakon ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja chie na iskorištenje ulja, prizvedeno hladno prešano ulje išlo je na ispitivanje osnovnih parametara kvalitete (Pbr, SMK, udio vode, udio netopljivih nečistoća) prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN br. 41/2012). Dobiveni rezultati ovih parametara kvalitete ukazuju na to da je proizvedeno hladno prešano ulje chie dobre kvalitete jer su vrijednosti parametara u skladu s Pravilnikom.

## **5.2. ODREĐIVANJE KARAKTERISTIKA ZA IDENTIFIKACIJU ULJA (JODNI I SAPONIFIKACIJSKI BROJ)**

Na uzorku proizvedenog hladno prešanog ulja chie dobivenog kod ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja, ispitivane su kemijske karakteristike ulja (jodni broj i saponifikacijski broj) potrebne za njegovu identifikaciju. Vrijednost jodnog broja izračunata je iz izraza (11) i dobiveno je 214,12 (g I<sub>2</sub>/100g). Vrijednost saponifikacijskog broja izračunata je iz izraza (12), te je dobiven iznos 227,46 (mg KOH/g ulja) (Tablica 13).

## **5.3. ISPITIVANJE UTJECAJA DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA CHIE**

U Tablici 14 prikazani su rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa, određena Oven testom, tijekom 4 dana praćenjem Pbr svakih 24 sata.

Kontrolni uzorak koji predstavlja čisto ulje chie (bez dodanog antioksidansa) nakon 4 dana provedbe testa ima vrijednost Pbr 12,50 (mmol O<sub>2</sub>/kg).

Dodatkom ekstrakta ružmarina OxyLess CS udjela 0,1% u hladno prešano ulje chie došlo je do značajne efikasnosti zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja, nakon 4 dana testa Pbr je bio 5,00 (mmol O<sub>2</sub>/kg). Dodatkom većeg udjela 0,3% dolazi do malo slabije zaštite ulja od oksidacije jer je Pbr 5,39 (mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na dodatak ulja 0,1%.

Također, rezultati testa pokazuju da na porast stabilnosti (održivosti) ovog ulja efikasno utječe i dodatak ekstrakta zelenog čaja 0,1% i 0,3% pri čemu je Pbr nakon 4 dana testa bio 7,50 i 6,50 (mmol O<sub>2</sub>/kg). Ovdje je zapaženo da dodatak 0,3% pruža bolju zaštitu ulja od oksidacije (niži Pbr) nego 0,1%.

Primjenom ekstrakta nara (0,1% i 0,3%) kod ulja chie došlo je do neznatne zaštite od oksidacije jer je Pbr nakon 4 dana testa malo niži u odnosu na čisto ulje (kontrolni uzorak).

Dodatkom ekstrakta maslinovog lista (0,1%) u ulje chie nije se postigla zaštita od oksidacije, ali dodatkom 0,3% došlo je do malog sniženja Pbr (11,00 mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na kontrolni uzorak.

Primjenom eteričnog ulja origana (0,05%) i rtanjskog čaja (0,05%) došlo je do male zaštite ulja chie od oksidacijskog kvarenja.

Eterično ulje kadulje (0,05%) nije dovelo do zaštite ulja od oksidacije, dakle nema antioksidacijski učinak i ne utječe na stabilnost ili održivost ulja chie.



## **6. ZAKLJUČCI**

---

Na osnovu ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja sjemenki chie na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete ulja, te ispitivanja dodatka prirodnih antioksidanasa na porast stabilnosti hladno prešanog ulja chie doneseni su sljedeći zaključci:

1. Veličina nastavka koji regulira promjer otvora glave preše utječe na iskorištenje ulja chie tijekom prešanja sjemenki.
2. Primjenom nastavka promjera 8 mm dobiveno je veće iskorištenje sirovog ulja i hladno prešanog ulja chie, manji udio zaostalog ulja u pogači i veći stupanj djelovanja preše u odnosu na nastavke promjera 9 mm i 10 mm.
3. Prešanjem sjemenki chie s nastavkom promjera 8 mm postignut je veći procesni tlak u preši što rezultira i većom proizvodnjom ulja.
4. Temperatura zagrijavanja glave preše utjecala je na iskorištenje ulja tijekom prešanja sjemenke chie
5. Primjenom temperature 100°C dobivena je veća količina sirovog ulja i hladno prešanog ulja chie, niža temperatura sirovog ulja, niži udio zaostalog ulja pogači, te veći stupanj djelovanja preše u odnosu na primjenu temperature 110°C.
6. Frekvencija elektromotora (brzina pužnice) utjecala je na iskorištenje ulja prešanjem sjemenke chie.
7. Prešanjem chie kod frekvencije elektromotora 35 Hz (temperatura glave preše 100°C) dobiva se veća količina sirovog ulja i hladno prešanog ulja, niži udio ulja u pogači, te veći stupanj djelovanja preše u odnosu na primjenu frekvencije 30 Hz i 40 Hz.
8. Najveće iskorištenje ulja kod prešanja sjemenke chie dobiveno je kod procesnih parametara: nastavak za izlaz pogače promjera 8 mm, frekvencija elektromotora 35 Hz i temperatura zagrijavanja glave preše 100°C.
9. Proizvedeno hladno prešano ulje chie je dobre kvalitete jer su osnovni parametri kvalitete ulja (SMK, Pbr, voda, netopljive nečistoće) u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN br. 41/2012).
10. Od ispitivanih prirodnih antioksidanasa značajni antioksidacijski učinak pokazali su ekstrakt ružmarina OxyLess CS i ekstrakt zelenog čaja u udjelima 0,1% i 0,3%.

11. Ekstrakt ružmarina (0,1%) pružio je najveću efikasnost zaštite ulja chie od oksidacijskog kvarenja.

12. Dodatkom ekstrakta nara (0,1% i 0,3%) i ekstrakta maslinovog lista (0,3%) u ulje chie došlo je do neznatne zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja.

13. Primjena eteričnog ulja origana (0,05%) i rtanjskog čaja (0,05%) doprinjela je manjoj zaštiti ulja chie od oksidacije.

14. Dodatkom eteričnog ulja kadulje (0,05%) nije se postigla zaštita ulja chie od oksidacijskog kvarenja.

## **7. LITERATURA**

- Ahn H , Kim J, Jo C, Kim M, Byun M: *Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity*. Food Chemistry 88, 2004.
- 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.
- Albert CM, Oh K, Whang W, Manson JE, Chae CU, Stampfer MJ, et al.: *Dietary alpha-linolenic acid intake and risk of sudden cardiac death and coronary heart disease*. Circulation, 2005.
- Álvarez-Chávez LM, Valdivia-López MA, Alberto-Juárez ML, Tecante A: *Chemical characterization of the lipid fraction of mexican chia seed (Salvia hispanica L.)*. Int. J. Food Prop. , 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.
- Ayerza R: *Oil Content and fatty acid composition of Chia (Salvia hispanica L.) from five northwestern locations in Argentina*. J. Am. Oil Chem. Soc. 72. , 1995.
- Ayerza R, Coates W: *Composition of chia (Salvia hispanica) grown in six tropical and sub-tropical ecosystems of South America*. Tropical Science, 2004.
- Ayerza R, Coates W: *Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (Salvia hispanica L.)*. The University of Arizona, Office of Arid Lands Studies, Tuscon, USA, 2011.
- Ayerza R, Coates W, Lauria M: *Chia seed (Salvia hispanica L.) as an w-3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics*. Poultry Science, 2002.

- Bera D, Lahiri D, Nag A: *Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparasion with synthetic antioxidants*. Journal of Food Engineering, 2006.
- Bockisch M: *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Cahill J: *Ethnobotany of chia, Salvia hispanica L. (Lamiaceae)*. Econ. Bot. 57(4), 2003.
- Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM, Tomás MC: *Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (Salvia hispanica L.) seeds of Argentina*. LWT - Food Sci. Technol. , 2012.
- Curaković M, Lazić V, Gvozdanović J: *Osnovne karakteristike ambalažnih materijala za pakovanje ulja*. Zbornik radova, Budva, 1996.
- Coates W, Ayerza R: *Production potencial of chia in northwestern Argentina*. Industrial Crops and Products, 1996.
- Commission of the European Communities: Commission Regulation (EC) 827/2009. Official J. European Union 52: 12-13., 2009.
- Cvejanov S: *Prehrambena tehnologija*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 1997.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo 2008.
- Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, 2005.
- Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2000.
- Espin JC, Soler – Rivas, Wicher HJ: *Characterization of total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical*. Journal of Agricultural food Chemistry, 2000.
- European Food Safety Authority: *Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the presence of*

- trans fatty acids in foods and the effect on human health of the consumption of trans fatty acids*. EFSA Journal 81,1-49, 2004.
- European Food Safety Authority: *Opinion on the safety of 'Chia seeds (Salvia hispanica L.) and ground whole Chia seeds' as a food ingredient, Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies*. EFSA Journal 996, 1-26, 2009.
- Frankel EN: *Lipid Oxidation*. The Oily Press, Dundee, 1998.
- Garg ML, Wood LG, Singh H, Moughan PJ: *Means of delivering recommended levels of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in human diets*. Journal of Food Science, 71, 2006.
- 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.
- Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje količine netopljivih nečistoća*. HRN EN ISO 663:1992.
- Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti*. HRN EN ISO 660:1996.
- Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje peroksidnog broja, Jodometrijsko određivanje točke završetka*. HRN EN ISO 6885:2007.
- ISO 6885: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje anisidinskog broja*, 2006.
- Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC: *Physical properties of chia (Salvia hispanica L.) seeds*. Ind. Crops Prod. 28(3), 2008.
- Ixtaina VY, Capitani MI, Nolasco SM, Tomás MC: *Caracterización microestructural de la semilla y el mucílago de chia (Salvia hispanica L.)*. In Proc. XXVIII Congreso Argentino de Química. Buenos Aires, Argentina: Asociación Química Argentina, 2010.
- Klapec T: *Opasnosti vezane uz hranu, kemijske i fizikalne opasnosti*. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2014.

- Merrill LI, Pike OA, Ogden LV: *Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils with Added Antioxidants*. Journal of the American Oil Chemists Society 85, 2008.
- Ministarstvo MPRR: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 41/12.
- Ministarstvo MZSS: *Pravilnik o prehrambenim aditivima*. Narodne novine 64/10.
- Mokrovčak Ž, Rade D, Štrucelj D: *Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida*. Durieux, Zagreb, 2001.
- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn EC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA: *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*. The American Journal of Clinical Nutrition, 74, 2001.
- 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*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, 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*. Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd, 1964.
- Reyes-Caudillo E, Tecante A, Valdivia-López MA: *Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds*. Food Chemistry, 107, 2008.
- Ročak T: *Osnovne kemijske analize kakvoće istarskih maslinovih ulja*, diplomski rad. Agronomski fakultet, Zagreb, siječanj 2005.



- 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.
- 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.
- Stanojević Lj, Stanković M, Nikolić V, Nikolić Lj, Ristić D, Čanadanovic-Brunet J, Tumbas V: *Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of Hieracium pilosella L. Extracts*, Sensors 9, 2009.
- Stanojević LjP, Zdravković AS, Stanković MZ, Cakić MD, Nikolić VD, Ilić DP: *Antioksidativna aktivnost vodeno-etanolnih ekstrakata iz lista koprive (Urtica dioica L.)*. Savremene tehnologije 2, 2013.
- Swern D: *Industrijski proizvodi ulja i masti po Baileyu*. Nakladni zavod Znanje, Zagreb 1972.
- Taga MS, Miller EE, Pratt DE: *Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 61, 928–932., 1984.
- Thomas MJ: *The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working?* Critical Reviews in Food Science and Nutrition 35 (1/2), 1995.
- United States Department of Agriculture: *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*, [http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3643?fg=&man=&facet=&count=&max=&qlookup=&offset=&sort=&format=Full&reportfmt=other&rptfrm=&ndbno=&nutrient1=&nutrient2=&nutrient3=&subset=&totCount=&measureby=&\\_action\\_show=Apply+Changes&Qv=1&Q6854=1.0](http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3643?fg=&man=&facet=&count=&max=&qlookup=&offset=&sort=&format=Full&reportfmt=other&rptfrm=&ndbno=&nutrient1=&nutrient2=&nutrient3=&subset=&totCount=&measureby=&_action_show=Apply+Changes&Qv=1&Q6854=1.0) [22.09.2014.]
- 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.

Yanishlieva, Nedyalka V, Marinova, Emma M: *Stabilisation of edible oils with natural antioxidants*. European Journal of Lipid Science and Technology 103, 2001.

WEB 1: <https://deborahsmall.wordpress.com/2008/07/23/gathering-thistle-chia/>  
[01.12.2014.]