

Utjecaj antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnost proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja

Ljiljanić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:118942>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Tea Ljiljanić

**UTJECAJ ANTIOKSIDANASA I SINERGISTA NA OKSIDACIJSKU
STABILNOST PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG LJEŠNJAKOVOG
ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj 2015.

Prije svega, željela bih se zahvaliti svojim roditeljima mami Senki i tati Silvii. Zahvaljujem im se na svim lijepim trenucima, potpori i ohrabrenjima, brizi i ljubavi. Hvala im što su mi omogućili studiranje i što su vjerovali u mene, bez čega ne bih postigla sve ovo. Hvala i mojoj sestri Petri na podršci, ljubavi, razumijevanju... Hvala i Toniju na strpljenju, potpori, vjerovanju i ljubavi.

Također, zahvaljujem se svim prijateljima koji su uvijek bili uz mene i bez kojih studiranje ne bi bilo tako lijepo i zabavno.

Posebno se zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na trudu pri izradi ovog diplomskog rada, razumijevanju, pomoći te strpljenju koje je pokazao. Također, hvala tehničarki Danijeli Paulik na pomoći i ugodnoj atmosferi tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	8
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA.....	4
Jednostavni lipidi.....	4
Složeni lipidi.....	5
Derivati lipida	5
Zasićene masne kiseline	6
Nezasićene masne kiseline.....	6
2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA	9
2.2.1. Lješnjakovo ulje	10
2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANOG BILJNOG ULJA	12
2.3.1. Priprema sirovine za prešanje	13
2.3.2. Prešanje	14
2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća	15
Odvajanje nečistoća taloženjem (sedimentacijom)	15
Odvajanje nečistoća filtracijom	15
2.3.4. Pakiranje i skladištenje ulja	16
2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA	16
2.4.1. Kemijski procesi.....	17
Autooksidacija ulja i masti.....	17
Inicijacija.....	17
Propagacija	18
Terminacija	18
Termooksidacijske promjene ulja	19
Reverzija	20
2.4.2. Enzimski i mikrobiološki procesi.....	20
β – ketooksidacija.....	20
Hidrolitička razgradnja	21
2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA	21
2.5.1. Antioksidansi	23
Prirodni antioksidansi.....	25
2.5.2. Sinergisti	26
2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA	27

Senzorske metode.....	28
Fizikalne metode	28
Kemijske metode.....	29
2.7. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA	30
Oven test (Schaal oven test)	31
Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)	31
Rancimat test	32
3.1. ZADATAK	34
3.2. MATERIJALI I METODE.....	34
3.2.1. Materijali	34
JEZGRA LJEŠNJAKA.....	34
ANTIOKSIDANSI	35
PUŽNA PREŠA	37
3.2.2. Metode.....	37
3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u jezgri lješnjaka i pogači	37
3.2.2.2. Određivanje stupnja djelovanja preše	38
3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja	39
Određivanje peroksidnog broja (Pbr).....	39
Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK).....	40
Određivanje netopljivih nečistoća u ulju.....	40
Određivanje vlage u ulju	41
Određivanje anisidinskog broja (Abr).....	42
Određivanje totox broja	43
3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja	44
Određivanje saponifikacijskog broja	44
Određivanje jodnog broja	44
3.2.2.5. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja (Schaal oven test)	45
Priprema uzorka za analizu	45
Oven test	47
4. REZULTATI	48
5. RASPRAVA	54
6. ZAKLJUČCI.....	58
7. LITERATURA.....	61

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 26. svibnja 2015.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac

UTJECAJ ANTIOKSIDANASA I SINERGISTA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG LJEŠNJAKOVOG ULJA

Sažetak:

Istarski duguljasti lješnjak, iz porodice *Corylus avellana*, je visokovrijedna namirnica koja sadrži oko 60 % masti, od toga najviše nezasićenih masnih kiselina kao što su oleinska (omega-9) i linolenska (omega-3), koje imaju pozitivan utjecaj na zdravlje. Osim toga, lješnjak je bogat i mineralima kao i vitaminima, koji imaju antioksidacijsko djelovanje. Postupkom prešanja jezgre lješnjaka proizvedena su tri proizvoda: sirovo ulje, uljni talog i pogača. Nakon postupka taloženja i filtriranja sirovog ulja dobiveno je hladno prešano lješnjakovo ulje. Tijekom postupka prešanja ispitan je utjecaj procesnih parametara: utjecaj temperature glave preše, veličine otvora glave preše i frekvencije elektromotora na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog lješnjakovog ulja. Određena je oksidacijska stabilnost ulja, sa i bez dodanih antioksidanasa i sinergista, primjenom Oven testa čime je utvrđen utjecaj dodanih prirodnih i sintetskih antioksidanasa kao i utjecaj dodanih sinergista (limunska i askorbinska kiselina) na oksidacijsku stabilnost dobivenog ulja. Od prirodnih antioksidanasa korišteni su ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara, u koncentracijama 0,1 % i 0,2 % te eterično ulje rtanjskog čaja u koncentraciji 0,05 %. Od sintetskih antioksidanasa koristio se propil galat u koncentraciji 0,01 %. Ispitivanjem je utvrđeno da procesni parametri hladnog prešanja utječu na iskorištenje lješnjakovog ulja. Dodatak navedenih antioksidanasa i sinergista u hladno prešano lješnjakovo ulje povećava stabilnost ulja. Ekstrakt ružmarina i eterično ulje rtanjskog čaja značajno povećavaju otpornost lješnjakovog ulja prema oksidacijskom kvarenju.

UTJECAJ ANTIOKSIDANASA I SINERGISTA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG LJEŠNJAKOVOG ULJA

Tea Ljiljanić, 227 – DI

Ključne riječi: Istarski lješnjak, prešanje, hladno prešano ulje, antioksidansi, sinergisti, oksidacijska stabilnost

Rad sadrži: 72 stranice
16 slika
11 tablica
39 referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

- | | |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Andrija Pozderović | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac | član - mentor |
| 3. izv. prof. dr. sc. Vedran Slaćanac | član |
| 4. izv. prof. dr. sc. Jurislav Babić | zamjena člana |

Datum obrane: 13. srpanj 2015.

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.VIII. held on 26. May 2015.
Mentor: *Tihomir Moslavac, PhD, associate prof.*

IMPACT ANTIOXIDANTS AND SYNERGISTS ALREADY ON THE OXIDATIVE STABILITY OF THE PRODUCED COLD PRESSED HAZELNUT OIL *Tea Ljiljanić, 227 – DI*

Summary:

Istrian oblong hazelnut, *Corylus avellana* the family, is a highly valuable food which contains about 60% fat, of which the most unsaturated fatty acids such as oleic acid (omega-9 fatty acids) and linoleic (Omega-3 fatty acids), which have a positive effect health. In addition, the hazelnut is rich with minerals, and vitamins, which have antioxidant activity. The baling core hazelnut produced three products: crude oil, oil sludge and cake. After the process of settling and filtration of crude oil obtained is cold-pressed oil, hazelnut kernels. During the pressing process to investigate the impact of process parameters, namely the effect of temperature, the size of the opening of the head presses and frequency of electric motors on the utilization of oil and basic parameters of quality cold-pressed oil, apricot kernel. Certain oxidation stability of oil, with and without added antioxidants, using the oven test which determined the influence of the addition of natural and synthetic antioxidants, as well as the impact of the addition of the synergist (citric and ascorbic acid) to the oxidation stability of the oil obtained. As far as natural antioxidants are used rosemary extract (OxyLess®.CS), green tea extract and pomegranate extract, in concentrations of 0.1% and 0.2% and savory tea in a concentration of 0.05%. From synthetic antioxidants for oxidation stability test, using the propyl gallate at a concentration of 0.01%.

Key words: Istrian hazelnuts, pressing, cold-pressed oil, antioxidants, sinergists, oxidative stability

Thesis contains: 72 pages
16 figures
11 tables
39 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>Vedran Slačanać</i> , PhD, associate prof. | member |
| 4. | <i>Jurislav Babić</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date:

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

Popis oznaka, kratica i simbola

Abr	Anisidinski broj
AI	Antioksidacijski indeks
BHA	Butil hidroksianisol
BHT	Butil hidroksitoluen
DHA	Dokosaheksaenska kiselina
DPA	Dokosapentaenska kiselina
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetra – octena kiselina
EMK	Esencijalne masne kiseline
EPA	Eikosapentaenska kiselina
HCl	Klorovodična kiselina
KI	Kalij jodid
KOH	Kalijev hidroksid
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Natrijev tiosulfat
NaOH	Natrijev hidroksid
OV	Totox broj
Pbr	Peroksidni broj
PF	Zaštitni faktor
PTF	Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek
SFA	Zasićene masne kiseline
SMK	Slobodne masne kiseline

1. UVOD

Sirovo ulje dobiva se postupkom prešanja biljnih sirovina pri temperaturama do 50°C pri čemu sadrži mehaničke nečistoće, dijelove pogače i uljni talog. Tako dobiveno ulje podvrgava se postupcima taloženja i filtracije kako bi se uklonile sve nečistoće i kako bi se u konačnici proizvelo hladno prešano ulje. Takvo ulje potrebno je skladištiti na pravilan način kako bi se spriječilo kvarenje uzrokovano oksidacijskim procesima te kako bi se što preciznije odredio rok valjanosti ulja.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja predstavlja vrijeme kroz koje se biljna ulja mogu čuvati od procesa autooksidacije i narušavanja njegovih senzorskih svojstava te kvalitete. Oksidacijska stabilnost ulja određuje se metodama koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja, djelovanjem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju taj proces. U praksi se koriste AOM test, Oven test i Rancimat test.

Za sprječavanje autooksidacije ulja koriste se tvari koje, prisutne u malim koncentracijama, sprječavaju odnosno usporavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja, tzv. antioksidansi. Oni mogu biti prirodni ili sintetski.

Zadatak ovog diplomskog rada bio je proizvesti hladno prešano ulje iz jezgre sirovog lješnjaka i odrediti utjecaj procesnih parametara: temperature glave preše, veličine otvora glave preše za izlaz pogače i brzine pužnice (frekvencije elektromotora) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja. Također, zadatak je bio i ispitati oksidacijsku stabilnost ulja sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista te na taj način utvrditi utjecaj pojedinog prirodnog antioksidansa i sinergista na održivost hladno prešanog lješnjakovog ulja.

U ovom istraživanju korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi. Od prirodnih su korišteni: ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt nara te eterično ulje rtanjskog čaja, a od sintetskih propil galat. Osim toga, korišteni su i sinergisti limunska i askorbinska kiselina. Oksidacijska stabilnost ulja ispitana je primjenom Oven testa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILNA ULJA

Masti i ulja su organski spojevi životinjskog i biljnog podrijetla, netopljivi u vodi, ali izuzetno topljivi u organskim otapalima poput etera, alkohola, heksana, dietil etera, benzena, kloroforma i sl. (Sikorski, 2003.). Prema kemijskom sastavu masti i ulja su triacilgliceroli, odnosno esteri alkohola glicerola i masnih kiselina. Tako imamo estere jedne kiseline ili, što je češće, estere dviju ili triju kiselina. Ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina od masti, te se na sobnoj temperaturi nalaze u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti koje sadrže više zasićenih masnih kiselina i pri sobnoj temperaturi su u čvrstom stanju.

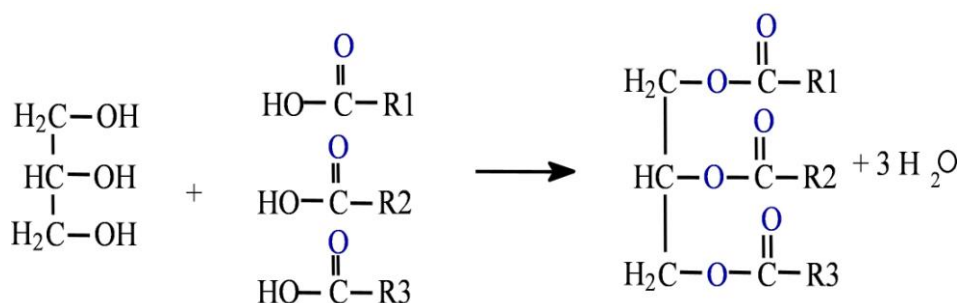
S obzirom na sastav biljnih ulja i njihovu strukturu, lipidi se dijele na:

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

Jednostavni lipidi

Jednostavni se lipidi sastoje od masnih kiselina i alkohola glicerola, mogu se hidrolizirati na dvije komponente, obično na alkohol i kiselinu, a u tu se skupinu ubrajaju acilgliceroli, eteri acilglicerola, steroli i njihovi esteri te voskovi. Na **Slici 1** prikazana je reakcija nastajanja triacilglicerola iz masnih kiselina i alkohola glicerola.

Ulja i masti (triacilgliceroli) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina. Masne kiseline su reaktivni dio molekule triacilglicerola pa imaju veliki utjecaj na njegova kemijska i fizikalna svojstva (Swern, 1972.).



Slika 1 Nastajanje triacilglicerola

Složeni lipidi

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

Derivati lipida

Masne kiseline, vitamin D, vitamin E, alkohole (steroli), ugljikovodike (karoteni) ubrajamo u derivate lipida.

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

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

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

Ovisno o stupanju nezasićenosti masne kiseline dijele se na:

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

Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline (SMK) u svom molekularnom sastavu imaju sva vezna mjesta zauzeta atomima vodika, gdje su ti atomi vodika povezani jednostrukim vezama (C-C) (**Slika 2**). Nalazimo ih u biljnim uljima i mastima uglavnom životinjskog podrijetla, ali i u pojedinim namirnicama biljnog podrijetla. Glavna im je osobina da se pri sobnoj temperaturi nalaze u krutom stanju, a povećanjem broja C atoma u molekuli raste i točka topljenja masnih kiselina (Rade i Škevin, 2004.). U prirodi, najraširenije zasićene masne kiseline su laurinska (C12:0), palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) kiselina (**Tablica 1**). Najbogatiji izvori laurinske kiseline su kokosovo ulje, palmino ulje i maslac, dok je palmitinska glavni sastojak palminog ulja (45 - 50%), svinjske masti i slanine (25 - 30%) (Sikorski, 2003.).

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

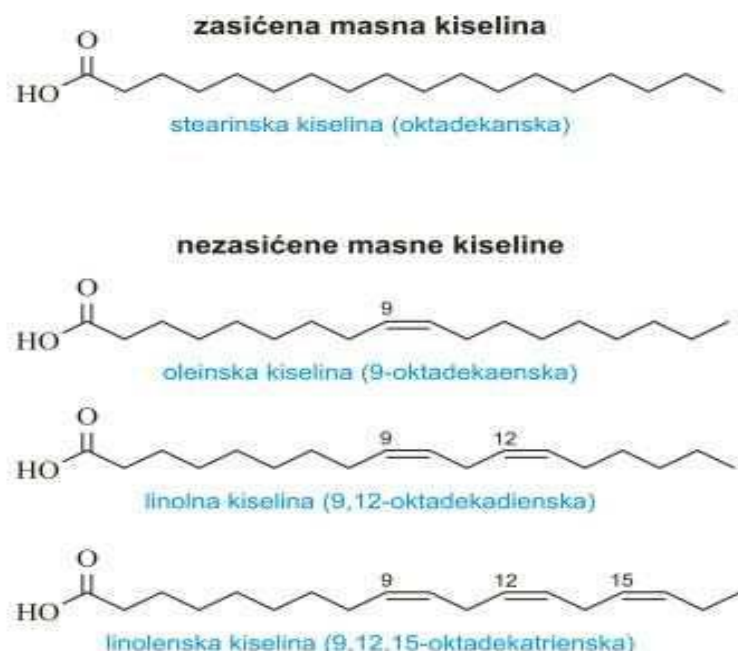
Broj C atoma	Naziv masne kiseline	Formula
4	Maslačna kiselina	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_2 \text{COOH}$
6	Kaprinska kiselina	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_4 \text{COOH}$
8	Kaprilna kiselina	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_6 \text{COOH}$
10	Kaprinska kiselina	$\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_8 \text{COOH}$
12	Laurinska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

Nezasićene masne kiseline

Ako je jedna ili više veza između ugljikovih atoma povezana dvostrukim vezama (C = C), masna kiselina pripada nezasićenim masnim kiselinama. Ovisno o broju dvostrukih veza, nezasićene masne kiseline dijelimo u dvije skupine. Masne kiseline s jednom dvostrukom vezom su mononezasićene masne kiseline, s dvije ili više dvostrukih veza zovu se

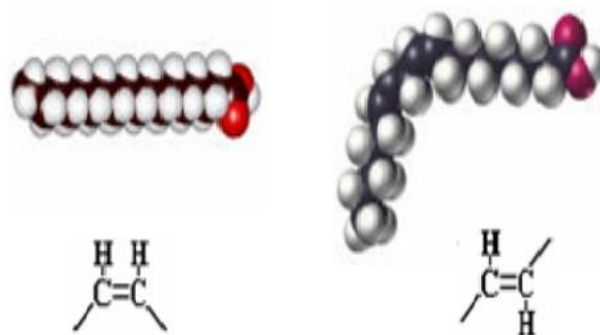
polinezasićene masne kiseline. Nezasićene masne kiseline dominiraju u uljima, te su na sobnoj temperaturi u tekućem stanju (maslinovo ulje, sojino, suncokretovo, ulje uljane repice i dr.), jer se točka topljenja smanjuje s dvostrukim vezama. Oleinska kiselina sa 18 - C atoma i jednom dvostrukom (=) vezom je najčešće prisutna mononezasićena masna kiselina (**Slika 2**). Značajno je zastupljena u maslinovom, repičinom i visokooleinskom suncokretovom ulju. Jednostruko nezasićena oleinska kiselina je manje podložna oksidaciji od polinezasićenih masnih kiselina (Rade i Škevin, 2004.). Najpoznatija polinezasićena masna kiselina je linolna masna kiselina koja ulazi u sastav brojnih biljnih ulja poput suncokretovog, kukuruznog, sezamovog ulja i dr. ulja.

Nadalje, nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, cis i trans obliku (**Slika 3**). Prirodne nezasićene masne kiseline su cis konfiguracije, dok trans nezasićene masne kiseline nastaju tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije biljnih ulja (O'Brien, 2004.). Tehnološkim procesom proizvodnje hidrogeniziranih masti i margarina, gdje se procesom hidrogenacije molekulama nezasićenih masnih kiselina na mjestima dvostukih veza adiraju vodikovi atomi, mijenja se prirodan cis oblik masnih kiselina u trans oblik, koji je štetan za ljudski organizam.



Slika 2 Prikaz strukture zasićene (gore) i nezasićenih (dolje) masnih kiselina

Kemijski sastav jednog i drugog oblika je jednak, ali fizikalna svojstva im se razlikuju zbog razlike u konfiguraciji jer broj cis i trans izomera ovisi o broju dvostrukih veza u nezasićenim masnim kiselinama (npr. masne kiseline s dvije dvostruke veze imaju četiri geometrijska oblika; cis – cis, cis – trans, trans – cis, trans - trans). Određivanje udjela trans masnih kiselina izuzetno je važno zbog određivanja kvalitete masti i kontrole procesa hidrogenacije.



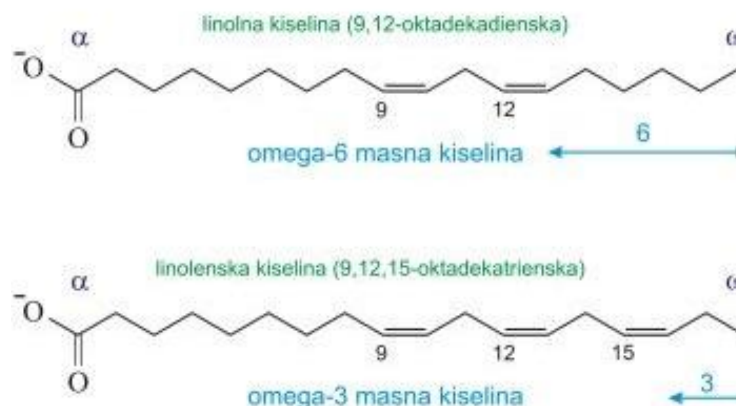
Slika 1 Cis i trans oblik nezasićene dvostruke veze (Jašić, 2009.)

Polinezasićene masne kiseline dijele se na omega-3 i omega-6 (n-3 i n-6). α -linolenska kiselina i njezini derivati: eikosapentaenska kiselina (EPA), dokosapentaenska kiselina (DPA) i dokosaheksaenska kiselina (DHA) spadaju u omega-3 skupinu. Najviše ih ima u ulju riba sjevernih mora, pastrvama i ulju biljaka, a kod uljarica se nalaze najviše u lanenom ulju, konopljinom i repičinom ulju. Omega-6 skupini pripadaju linolna kiselina i arahidonska kiselina koju organizam može sintetizirati iz linolne kiseline (Mandić, 2003.).

Esencijalne masne kiseline (EMK)

Nezasićene masne kiseline dijele se u dvije manje grupe: esencijalne i neesencijalne masne kiseline. Pripadnike prve skupine naš organizam ne može sintetizirati pa ih je stoga potrebno unositi putem hrane, kako bi se zadovoljile potrebe organizma za tim tvarima. U tu skupinu spadaju već spomenuta linolna i linolenska kiselina (**Slika 4**). Većina tih masnih kiselina je u velikom postotku prisutna u sjemenkama i sjemenim uljima. Vrlo su važne za pravilan rast i razvoj organizma, rad stanica i funkciju organizma, te pripadaju grupi

polinezasićenih masnih kiselina sa 18 i 20 ugljikova atoma i sadrže 2 – 6 dvostrukih veza u cis konfiguraciji masne kiseline.



Slika 2 Strukturna formula esencijalnih omega-3 i omega-6 masnih kiselina

2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

Više od 20 različitih biljnih vrsta koristi se za proizvodnju biljnog ulja. S obzirom na dio biljke iz kojeg se dobiva ulje, odnosno koja se koristi za prešanje, te s obzirom na podrijetlo, biljna ulja dijele se na:

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmino ulje, avokado ulje...,
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 palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje...),
 - ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, kukuruzne klice, koštice buče, repice...),
 - ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, camelina sativa...),
3. Ulje prema podrijetlu biljke:
 - ulje iz leguminoza (kikiriki, soja...)
 - ulja krstašica (repica, slačica...) (Bockisch, 1998.)

2.2.1. Lješnjakovo ulje

Plod lijeske je jednosjemeni orah obavijen zelenim omotačem (kupulom) koji je nepravilno nazubljen, sa različitom dubinom reza. Prilikom sazrijevanja ploda, kupula mijenja boju od žute do smeđe i tako se odvaja od ploda. Lješnjak ima različite oblike i krupnoću ovisno o sorti. Plod se sastoji od čvrste i drvenaste ljuske (perikarpa) i jestive jezgre. Između jezgre i ljuske nalazi se spužvasta masa tzv. pelikula. Ovisno o sorti, pelikula se lako odvaja ili ostaje djelomično priljubljena uz jezgru, što je negativno svojstvo. Na vanjskom dijelu lješnjaka razlikujemo: osnovu ploda ili kapicu, tijelo i vrh ploda. Veličina i izraženost vrha ploda ovise o sorti. Kapica ploda, kojom se plod drži sve dok ne sazrije, može biti različite veličine: ravna, plosnata, ispupčena, udubljena i slično što je također osobina sorte.



Slika 5 Plod lješnjaka

Lješnjak je biološki visokovrijedna namirnica. Iako sadrži oko 60% masti treba naglasiti da se ponajviše radi o nezasićenim masnim kiselinama, oleinskoj (omega-9 masna kiselina) i linolenskoj (omega-3 masna kiselina koja djeluje na snižavanje kolesterola). Tu spadaju i trigliceridi masnih kiselina (stearinska, palmitinska i miristinska) te mješoviti gliceridi ovih masnih kiselina. Uz masti, sadrži i prosječno 17% ugljikohidrata i 15% proteina tj. bjelančevina koji su značajni za rast i razvoj tkiva. Hidrolizom proteina izdvajaju se aminokiseline, a posebno esencijalne, koje čovjekov organizam nije u stanju proizvesti, a neophodne su za njegovo funkcioniranje. Nadalje, lješnjak sadrži i mineralne tvari kao što su kalcij, fosfor, magnezij, kalij, mangan, željezo, cink, natrij i bakar. Od vitamina u lješnjaku se

nalaze vitamin E ili α -tokoferol i vitamin A, poznat još i kao retinol ili karoten, koji su poznati kao antioksidansi. Količinom vitamina E lješnjakovo ulje je superiornije mnogim uljima, pa čak i maslinovom, sa preko 40 mg na 100 g ulja, a kako je vitamin E kao važan antioksidans jedan od glavnih boraca protiv slobodnih radikala i s njima povezanih upalnih procesa u organizmu, a prema rezultatima novih studija ga se ne preporučuje uzimati kao dodatak prehrani, dodavanje nutritivno vrijednog lješnjakovog biljnog ulja u prehranu najprirodniji je način osiguranja potrebne količine ovog vitamina. Lješnjak sadrži još i vitamin C odnosno askorbinsku kiselinu, vitamin B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B5 (pantotenska kiselina) i B6 (piridoksin)

Sorta lješnjaka, koju smo koristili za proizvodnju ulja, je Istarski duguljasti (Istarski krupni, Istarski debeloplodni) iz porodice *Corylus avellana*. Sorta se odlikuje umjerenom bujnošću i redovitom i obilnom rodnošću. Rano prorodi i daje plodove dobre kvalitete. Cvate srednje rano. Smatra se da je sorta autofertilna što je vjerojatno zbog postojanja većeg broja tipova pa postoji mogućnost uspješne međuoplodnje, no u nekim ispitivanjima sorta se pokazala kao autosterilna pa joj treba osigurati oprašivače. Kao takvi dobri su se pokazali Halski div, Rimski, Lambert, Gunsleben, Cosford, Apolda, Barcelona i još neki. Sorta Istarski duguljasti intersterilna sa sortama Cosford i Sodlinger.

Obično, kod Istarskog dugog, u grozdu dolazi prosječno 3 do 5 plodova, a promjer jezgri kreće se od 12 do 15 mm. Ovojnica je dulja od ploda, vrh ploda je nazubljen, sužen i savijen tako da se ne vidi. Ne ispada sam iz ovojnice pa je potrebno dodatno čišćenje kako bi se ona u potpunosti uklonila. Plod je velik, ovalno duguljastog oblika, na vrhu malo spljošten. Prosječna težina kreće se između 3 i 3,5 grama, a randman oko 43%. Ljuska ploda je svjetlo smeđa s gustim tamnim tankim crtama, dosta je debela i relativno dobro popunjena jezgrom. Jezgra ima glatku smeđu ovojnicu s malo vlakana. Okus je vrlo ugodan i s izrazitom lješnjakovom aromom. Kožica se nakon prženja ljušti 88%. Plodovi čuvani godinu i pol dana u običnom skladištu ostaju dobre kvalitete.



Slika 6 Istarski duguljasti lješnjak

Od jezgre se dobiva lješnjakovo ulje, maslac, brašno i mlijeko. Ipak, jezgra se najviše upotrebljava u konditorskoj industriji za proizvodnju čokolade, krema i drugih slatkiša. Plod lijeske koristi se i u medicini za liječenje anemije, krvnog tlaka, kašlja, bolesti crijeva, bubrega i dr. Pored upotrebe u prehrani, lješnjakovo ulje je cijenjeno i u farmaceutskoj industriji (Šoškić, 2006.).

2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANOG BILNOG ULJA

Prema Pravilniku 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 (NN 41/12).

Sam tehnološki postupak proizvodnje hladno prešanih, kao i nerafiniranih ulja obuhvaća dvije osnovne faze: fazu pripreme sirovine za prešanje (čišćenje i otklanjanje nečistoća, ljuštenje...) te fazu proizvodnje ulja postupkom prešanja.

Prije samog postupka prešanja potrebno je prilagoditi parametre prešanja (temperaturu, frekvenciju i veličinu otvora) ovisno o sirovini, kako bismo dobili što kvalitetnije ulje uz što veće iskorištenje sirovine prilikom spomenutog postupka (**Tablica 2**).

Postupak izdvajanja ulja treba prilagoditi, prije svega, polaznoj sirovini. Sirovinu treba pripremiti tako da se izdvajanje ulja provodi što lakše, a da se istovremeno, zbog odsustva procesa rafinacije, dobiva ulje visoke kakvoće. Priprema obuhvaća čišćenje, sušenje, ljuštenje

i mljevenje, međutim, prešati se može i sirovina bez prethodnog ljuštenja i mljevenja, što ovisi o samoj vrsti sirovine (Dimić, 2005.).

Tablica 2 Primijenjeni procesni parametri prešanja jezgre lješnjaka s kontinuiranom pužnom prešom

VELIČINA OTVORA (N=mm)	TEMPERATURA [°C]	FREKVENCIJA (Hz)
6	80	20
8	90	25
9	100	30
10	-	35

2.3.1. Priprema sirovine za prešanje

Priprema sirovine za prešanje uključuje postupke čišćenja i uklanjanja nečistoća te uklanjanja omotača (kupole), ljuske i ovojnice kako bismo dobili čistu jezgru lješnjaka. Ljuska lješnjaka ima veliku čvrstoću i kao takva vrlo lako može oštetiti prešu. Osim toga, odvajanjem ljuske postiže se bolja kvaliteta ulja kao i kvaliteta pogače te se povećava kapacitet i iskorištenje preše.

Ljuštenje se provodi najčešće mehaničkim putem, pomoću drobilica. Kod mehaničkog ljuštenja prvo moramo razbiti ljusku i osloboditi jezgru, te odvojiti ljusku od jezgre. Moguće je primijeniti i druge načine ljuštenja, npr. pomoću rotirajućih ploča s različitim nazubljenjima, gdje se ploče postavljaju vertikalno jedna prema drugoj, a razmak između njih je moguće regulirati, zatim upotrebom para valjaka koji rade na sličan princip kao i rotirajuće ploče.



Slika 7 Stroj za lomljenje ljuske lješnjaka

2.3.2. Prešanje

Prešanje je tehnološki postupak istiskivanja ulja, primjenom visokog tlaka, iz prethodno pripremljene sirovine. Provodi se mehaničkim putem na hidrauličnim ili pužnim prešama.

Danas su najčešće u uporabi pužne preše, koje su prema načinu rada kontinuirane. Mogu se koristiti kada se radi o manjim kapacitetima proizvodnje i kod većih kapaciteta proizvodnje. Glavni dijelovi ovih preša su vodoravna pužnica, koš koji se nalazi oko pužnice, konusna posuda za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače, zupčani prijenosnik te kućište preše. Koš koji se nalazi oko pužnice je konusnog oblika, pa puž potiskuje materijal iz većeg u manji volumen što uzrokuje sabijanje materijala i pri tome dolazi do porasta tlaka i cijedenja ulja.

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

2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća

Nakon prešanja sirovine u proizvedenom sirovom ulju se nalaze netopljive ili tzv. mehaničke nečistoće, voda i sluzave tvari, koje mogu nepovoljno utjecati na senzorska svojstva ulja, pa ih je potrebno ukloniti iz ulja nakon prešanja. Količina tih nečistoća, koja izlazi iz preše zajedno s uljem, ovisi o samoj konstrukciji preše, krupnoći materijala i finoći usitnjavanja odnosno mljevenja materijala prije samog prešanja, parametrima preše (tlak, temperatura), kemijskom sastavu sirovine i dr.

Netopljive nečistoće iz sirovog ulja mogu se izdvojiti na nekoliko različitih načina:

- taloženjem (sedimentacijom),
- filtracijom (filter preša) i/ili
- centrifugalnim separatorom.

Odvajanje nečistoća taloženjem (sedimentacijom)

Sirovo ulje se nakon prešanja stavlja u posude ili rezervoare u kojima se vrši odvajanje nečistoća taloženjem. Odvajanje nečistoća taloženjem provodi se na principu razlike u specifičnoj masi čestica. Naime, čestice nečistoća, koje imaju veću specifičnu masu od ulja, prirodnim se putem talože na dno posude ili rezervoara i na taj način se izdvajaju iz ulja. S obzirom da je razlika specifične mase čestica nečistoća i ulja mala, a viskoznost ulja velika, taloženje može potrajati i do nekoliko tjedana pri čemu se čestice nečistoća ne mogu u potpunosti izdvojiti iz ulja.

Odvajanje nečistoća filtracijom

Postupkom filtracije sirovo prešano ulje se propušta kroz filter na kojem zaostaju nečistoće i na taj način se uspješnije izdvajaju iz ulja. Filtarsko sredstvo može biti izrađeno od pamuka, sintetskih materijala ili lana, a postupak filtracije se može provesti na različitim izvedbama uređaja (vibracijska sita, filter preše, vakuum filter, 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, a brzina filtracije se može povećati dodatkom pomoćnog filtracijskog sredstva (Dimić, 2005.).

2.3.4. Pakiranje i skladištenje ulja

Hladno prešana biljna ulja podložna su nepoželjnim kemijskim, enzimskim i mikrobiološkim promjenama koje dovode do kvarenja ulja. Iz tog razloga, potrebno je voditi računa o ambalažnom materijalu u koji se ulje pakira i uvjetima čuvanja. Ambalažni materijal mora onemogućiti interakcije s proizvodom i potpuno ga zaštititi, osigurati zdravstvenu ispravnost, spriječiti prodiranje plinova, vodene pare i svjetlosti do proizvoda i imati dobra fizikalno-mehanička svojstva. Od ambalažnog materijala najčešće se upotrebljavaju tamno staklo, polimerni materijali, inox, kombinirani materijali.

Ambalaža svojim zaštitnim svojstvima, oblikom, dizajnom, grafičkim rješenjima, tekstom deklaracije i logotipovima značajno utječe na prihvatljivost proizvoda (Vučetin, 2004.).

2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Kod proizvodnje hladno prešanih ulja vrlo je bitno spriječiti kvarenje ulja od samog početka, odnosno, od ubiranja i skladištenja sirovine, prešanja sirovine, pa do skladištenja isprešanog ulja. Kvarenje ulja ovisi o vrsti ulja i sirovini za proizvodnju ulja te o uvjetima skladištenja same sirovine i proizvedenog ulja. Proces kvarenja u uljima može biti uzrokovan kemijskim, enzimskim i mikrobiološkim promjenama u ulju, koje narušavaju organoleptička svojstva, smanjuju nutritivnu vrijednost ulja i uzrokuju nastanak štetnih spojeva poput peroksida, polimera i dr.

Prilikom kvarenja dolazi do promjena organoleptičkih svojstava masti i promijene prehrambene vrijednosti. Isto tako, dolazi i do promijene ili gubitka jednog djela biološki aktivnih tvari kao što su esencijalne masne kiseline, vitamini, provitamini i drugi sastojci. Posljedica kvarenja su razgradni produkti, posebno isparljive karbonilne skupine i niže molekularne masne kiseline, koji ulju daju neugodan miris i okus. Neki razgradni produkti

poput peroksida, polimera, malondialdehida i dr. mogu biti štetni za zdravlje pa se takve masti koriste u tehničke svrhe (Čorbo, 2008.).

2.4.1. Kemijski procesi

Kemijski procesi koji dovode do kvarenja biljnih ulja su:

- autooksidacija,
- termooksidacijske promjene i
- reverzija.

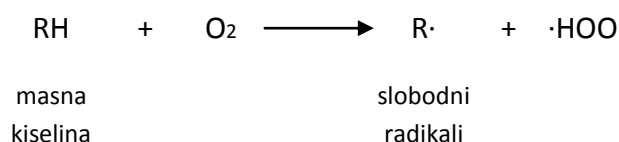
Autooksidacija ulja i masti

Najčešći tip kvarenja svih biljnih ulja i proizvoda u kojima se nalaze ulja je kvarenje uzrokovano oksidacijskim procesom, a predstavlja proces djelovanja kisika na dvostruke veze nezasićenog lanca masne kiseline i nastajanja slobodnih radikala.

Da li će proces autooksidacije biljnih ulja nastupiti polaganije ili brže ovisi o sastavu ulja, uvjetima skladištenja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ovu reakciju oksidacije (Martin-Polvillo, 2004).

Proces autooksidacije uključuje tri faze. Fazu inicijacije, fazu propagacije i zadnju fazu, fazu terminacije.

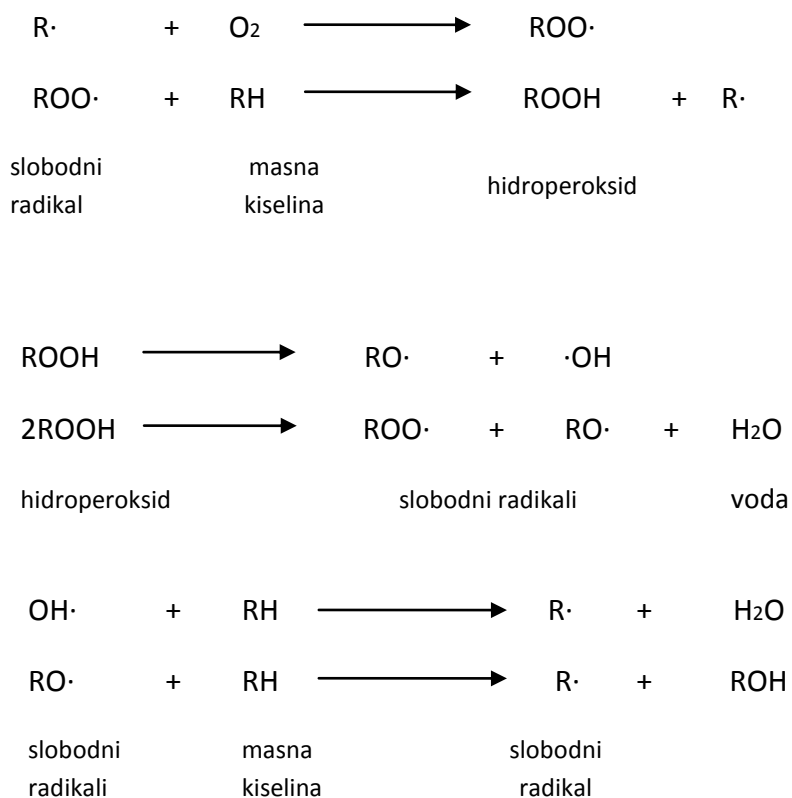
Inicijacija



U prvoj fazi autooksidacije dolazi do homolitičkog cijepanja na metilnim skupinama nezasićenih masnih kiselina djelovanjem topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog svjetla

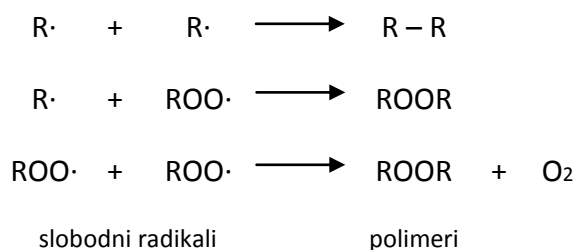
ili uz katalitičko djelovanje iona metala pri čemu dolazi do izdvajanja vodika i nastajanja slobodnih radikala.

Propagacija



U fazi propagacije reakcija se kontinuirano nastavlja, pri čemu slobodni radikali i dalje reagiraju s kisikom i grade slobodne radikale peroksida i hidroperoksida. Hidroperoksidi su nestabilni i raspadaju se na slobodne radikale $\text{RO}\cdot$ i $\cdot\text{OH}$. Formiranjem novonastalih radikala pokreće se niz novih lančanih reakcija, te proces autooksidacije postaje autokataliziran.

Terminacija



U završnoj fazi nastali slobodni radikali međusobno reagiraju i stvaraju polimere (R–R, ROOR). Polimeri nemaju svojstva slobodnih radikala, pa se njihovim nastankom usporava, odnosno završava proces oksidacije.

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

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

Termooksidacijske promjene ulja

Do termooksidacijskih promjena u uljima dolazi djelovanjem visokih temperatura, viših od 150°C uz prisutstvo vodene pare i zraka. Proces ovisi o vrsti ulja, visini temperature i vremenu izloženosti ulja visokoj temperaturi. Osim promjene fizikalnih svojstava ulja, dolazi i do promjene kemijskih svojstava, čime se zapravo dokazuje prisutstvo termooksidacijskih promjena. Glavna metoda za određivanje stvaranja dimera i polimera tijekom zagrijavanja je određivanje jodnog broja, jer se tijekom termooksidacijskih promjena povisuje udio slobodnih masnih kiselina, broj osapunjenja i peroksidni broj, a kad se jodni broj snizi za 5 %, ulje se više ne smije koristiti za prženje hrane.

Nakon određenog vremena, zagrijavanjem ulja na povišenim temperaturama, u uljima, osim oksidacijskih produkata (hidroperoksida i njihovih razgradnih produkata) dolazi i do nastanka produkata termooksidacije poput cikličke masne kiseline, dimera i polimera masnih kiselina i triglicerola, oksipolimera i drugih hlapljivih i nehlapljivih spojeva (Vidyasagar i sur., 1974.).

Reverzija

Kada u biljnom ulju, nakon kraćeg skladištenja, dođe do pojave neugodnog okusa i mirisa na ribu ili sirovinu, znamo da je došlo do pojave koja se naziva reverzija. Ova pojava je karakteristična kod ulja koja sadrže linolensku kiselinu (npr. sojino ulje). Ovaj oblik kvarenja usporava se djelomičnom hidrogenacijom ulja kako bi se uklonila linolenska kiselina ili primjenom aditiva koji produžuju održivost ulja.

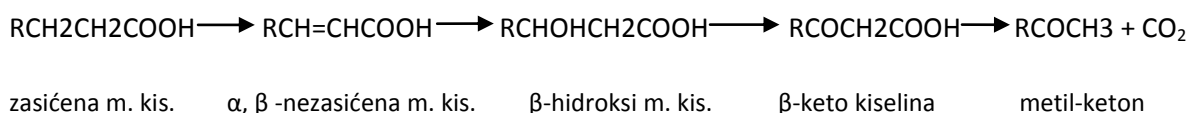
2.4.2. Enzimski i mikrobiološki procesi

Već u samim plodovima ili sjemenkama dolazi do kvarenja ulja i masti djelovanjem različitih enzima i mikroorganizama. Kvarenje se nastavlja i tijekom skladištenja, te je stoga vrlo važno sjemenke pravilno skladištiti (temperatura, pH, voda) jer prirodnim disanjem sjemena dolazi do oslobađanja topline i aktivnosti enzima.

U enzimске i mikrobiološke procese kvarenja ulja i masti spadaju procesi β – ketooksidacija i hidrolitička razgradnja.

β – ketooksidacija

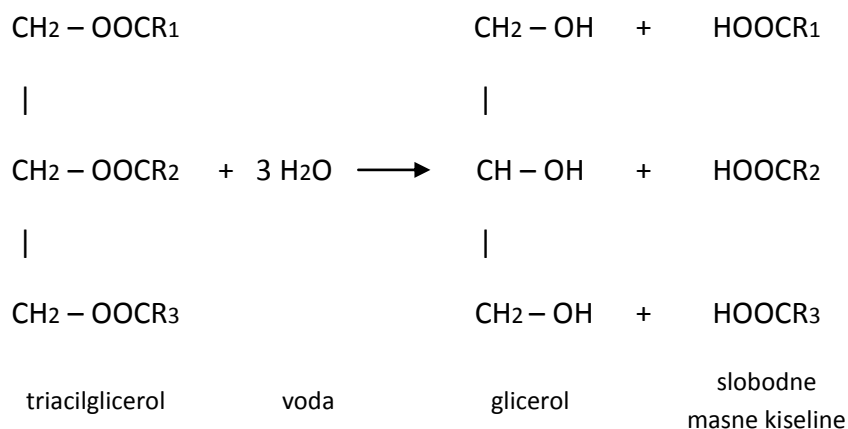
Uzročnici ovog kvarenja su mikroorganizmi. Djelovanjem plijesni *Aspergillus* i *Penicillium*, te bakterija *Bacillus masanericus* i *Bacillus subtilis* na zasićene masne kiseline nastaju primarni produkti β – keto kiseline i metil ketoni kao sekundarni produkti reakcije (**Slika 8**). Posljedica ove reakcije je užeglost ulja i masti koja nastupa već pri niskim koncentracijama produkata β – ketooksidacije. Reakcija se može spriječiti termičkom obradom (pasterizacija, sterilizacija), sniženjem pH i primjenom aditiva (konzervansa).



Slika 8 Reakcija β -ketooksidacije

Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja je reakcija hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisutnost vode i povišene temperature. Tijekom procesa dolazi do cijepanja esterske veze između masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triglicerida (triacilglicerola) pri čemu nastaju slobodne masne kiseline (**Slika 9**).



Slika 9 Hidrolitička razgradnja triacilglicerola

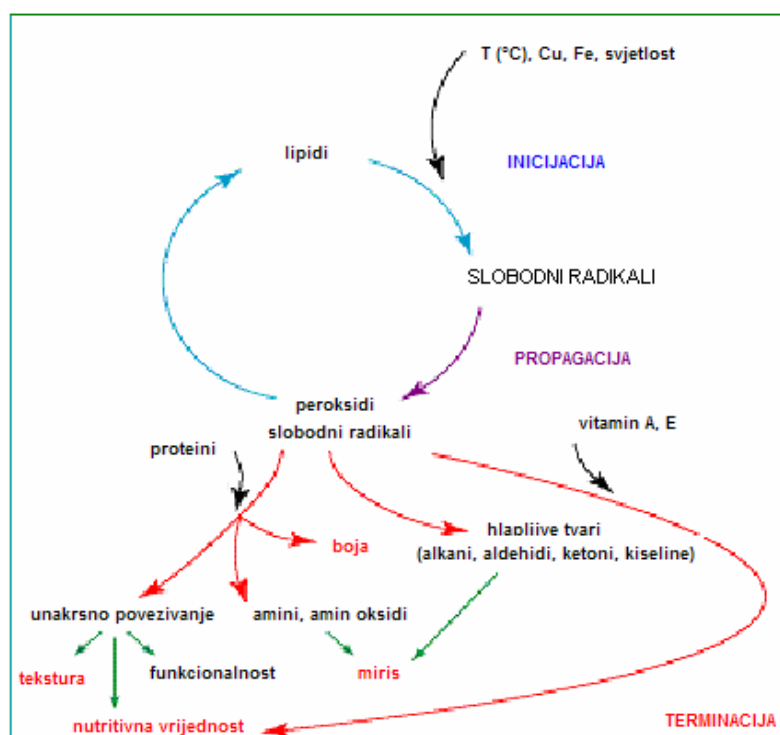
Kao rezultat hidrolitičke razgradnje ulja javlja se povećana kiselost kao i nastanak diglicerida, monoglicerida i glicerola, a stupanj hidrolitičke razgradnje određuje se udjelom slobodnih masnih kiselina u ulju. Hladno prešana i nerafinirana ulja ne smiju sadržavati više od 2 % slobodnih masnih kiselina, izraženih kao % oleinske kiseline (NN 41/12). Kako bi se zaustavili procesi hidrolitičke razgradnje potrebno je inaktivirati lipolitičke enzime zagrijavanjem na temperaturu iznad 80 °C ili hlađenjem na temperaturu ispod - 20 °C.

2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Lipidi su jedni od najnestabilnijih komponenata u hrani te ovisno o stupnju nezasićenosti, prirodi nezasićenosti (položaju dvostrukih veza), prisutnosti antioksidanasa, prooksidanasa kao i o samim uvjetima skladištenja vrlo lako podliježu procesu oksidacije, što rezultira stvaranjem nepoželjne arome, ali i potencijalnih toksičnih tvari što zapravo dovodi do kvarenja ulja i masti, pa tako i hrane koja ih sadrži (**Slika 10**) (Sikorski, 2003.). Ipak,

oksidacijska stabilnost prvenstveno ovisi o vrsti ulja, odnosno o sastavu masnih kiselina, budući da su polinezasićene masne kiseline reaktivnije od mononezasićenih i zasićenih masnih kiselina te oksidiraju puno brže. Isto tako, stabilnost može ovisiti i o prisutnosti različitih komponenti u uljima koje mogu, svojim prisutstvom, pogoršavati održivost (slobodne masne kiseline, metali i dr.) ili koje mogu poboljšavati održivost poput tokoferola, karotenoida, fenolne skupine i dr.

Kako bi se spriječila oksidacija i kako bi se poboljšala stabilnost biljnih ulja prema oksidacijskom kvarenju dodaju se antioksidansi, odnosno tvari koje inhibiraju, usporavaju autooksidacijsko kvarenje ulja (Yanishlieva i Marinova, 2001.). Danas je poznat veći broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste kao inhibitori autooksidacije biljnih ulja (Merill i sur., 2008.). Na terminaciju, odnosno zaustavljanje oksidacije ulja važnu ulogu imaju tvari koje usporavaju propagaciju na način da deaktiviraju slobodne radikale u sastavu (Eskin i Przybylski, 2001.).



Slika 10 Prikaz utjecaja oksidacije lipida na kvalitetu proizvoda

2.5.1. Antioksidansi

Antioksidansi se definiraju kao bilo koja tvar koja sprječava ili usporava oksidaciju supstrata podložnih oksidaciji, odnosno, možemo reći da su to reducirajuće tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja (Yanishlieve i Marinova, 2001.).

Kako bi se što uspješnije spriječio autokatalitički proces, antioksidanse je potrebno što prije dodati u proizvedeno ulje, pri čemu treba napomenuti da djelovanje antioksidansa ne ovisi samo o vremenu kada će se dodati u ulje, već i o sastavu masnih kiselina u ulju, o udjelu antioksidanasa koji su prirodno prisutni u ulju, o svojstvima i dodanoj koncentraciji antioksidanasa kao i o uvjetima čuvanja ulja.

Povećanjem koncentracije antioksidansa povećava se i oksidacijska stabilnost ulja, međutim neki od antioksidanasa u većoj koncentraciji mogu i djelovati će suprotno ubrzavajući oksidacijsko kvarenje ulja (Bandoniene i sur., 2000.).

Djelovanje antioksidansa, bilo prirodnog ili sintetskog, na poboljšanje oksidacijske stabilnosti ili održivosti istraživanih mješavina biljnih ulja određeno je stabilizacijskim ili zaštitnim faktorom (PF) prema izrazu (Yanishlieva i Marinova, 2001):

$$PF = IP_{inh} / IP_0$$

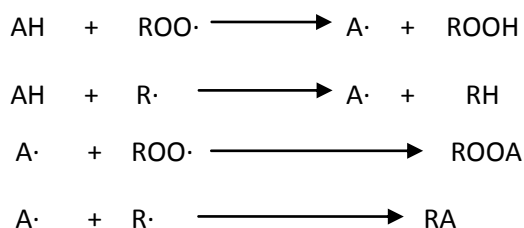
IP_{inh} = indukcijski period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa (h),

IP_0 = indukcijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h).

Zaštitni faktor (PF) označava koliko se puta poveća stabilnost ili održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa.

Isto tako, valja napomenuti kako antioksidansi mogu djelovati u različitim fazama procesa oksidacijskog kvarenja, kao što su inicijacija i propagacija autooksidacije, stvaranje singlet kisika, razaranje hidroperoksida na kratkolančane spojeve itd., stoga ih dijelimo na primarne i sekundarne antioksidanse prema mehanizmu njihovog djelovanja (**Slika 11**). Primarni antioksidansi rade na principu „hvatača“ radikala (radikal – akceptor), tj. doniraju vodikov atom slobodnom radikalu ili idu u reakciju zajedno sa slobodnim radikalima pri čemu

stvaraju stabilan inaktivni produkt koji se ne može uključiti u proces oksidacije i na taj način „hvataju“ alkil radikale ($R\cdot$) u fazi inicijacije, te u fazi propagacije peroksi radikale ($ROO\cdot$).



Slika 11 Mehanizam djelovanja primarnih i sekundarnih antioksidansa

Kako je već prije spomenuto, razlikujemo primarne i sekundarne antioksidanse, koji mogu biti prirodni i sintetski. U primarne antioksidanse ubrajamo (**Tablica 3**): fenole, galate, hidrokinoni, BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), tokoferole, flavonoide, askorbate, ekstrakte biljaka i začina. Sekundarni antioksidansi također pomažu sprječavanju procesa oksidacije, ali oni „hvataju“ ione metala prisutne u ulju i na taj način sprječavaju oksidaciju. U sekundarne antioksidanse ubrajamo: etilendiamin tetra – octenu kiselinu (EDTA), limunsku kiselinu, fosfornu kiselinu i određene aminokiseline. Ipak, za uspješno zaustavljanje procesa oksidacije ove dvije vrste antioksidansa se najčešće koriste zajedno budući da sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidacijsku aktivnost samo u prisutstvu neke druge manje komponente. Tako primjerice, limunska kiselina postaje aktivna samo u prisustvu metalnih iona, dok je askorbinska kiselina aktivna u prisustvu tokoferola ili nekih drugih primarnih antioksidanasa (Gordon, 2001.).

Tablica 3 Primarni antioksidansi koji se primjenjuju u hrani (Shahidi, 2005.)

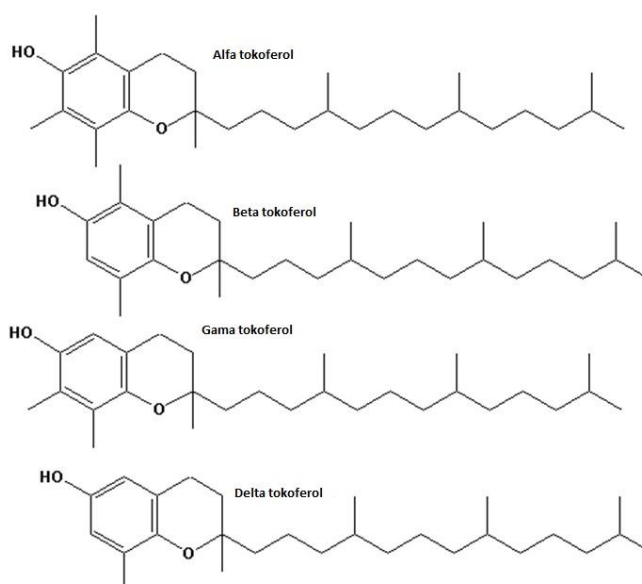
PRIRODNI	SINTETSKI
Karotenoidi	Butil hidroksianisol
Flavonoidi	Butil hidroksitoluen
Tokoferoli i tokotrienoli	Propil galat
Fenolne kiseline	Etoksiquin
	Tercijarni butilhidrokinon

Prirodni antioksidansi

Prirodne antioksidanse možemo naći među aminokiselinama i dipeptidima, hidrolizatima proteina, među proteinima topljivim u vodi, fosfolipidima, anorganskim solima, tokoferolima i njihovim derivatima, karotenoidima, askorbinska kiselina (Wijerante i sur., 2006.).

Tokoli (tokoferoli i tokotrienoli) su najpoznatiji i najčešće primjenjivani prirodni antioksidansi. Prirodno se nalaze u uljima i mastima kao neosapunjive tvari, a po kemijskom sastavu su molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. U prirodi postoji osam tokola, od toga četiri tokoferola koji se razlikuju po rasporedu metilnih grupa i četiri tokotrienola koji su slični tokoferolima, ali imaju tri nezasićene veze u lancu. Tokoferoli i tokotrienoli se pojavljuju u α , β , γ i δ oblicima, pa se, ovisno o broju i položaju metilne skupine na kromanolnom prstenu, razlikuju u svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju, te imaju mnogo izomera koji se razlikuju po broju i položaju metilne skupine na pobočnom lancu.

Od svih tokoferola, najbolje vitaminsko djelovanje ima α – tokoferol (**Slika 12**) koji je poznat pod nazivom vitamin E. On se degradira na povišenoj temperaturi i u prisutstvu UV svjetlosti (Sabliov i sur., 2009.). Najbolje antioksidacijsko djelovanje imaju γ – tokoferol i δ – tokoferol.



Slika 12 Prikaz strukturne formule α , β , γ i δ tokoferola

Osim tokoferola, u prirodne antioksidanse spadaju vitamini A, B, C, astaksantin, provitamin A, minerali selen i cink, aminokiselina cistein, bioflavonoidi, biljke i biljni ekstrakti poput ekstrakta češnjaka, zelenog čaja i sl.

Askorbinska kiselina, poznatija pod nazivom vitamin C, reagira s kisikom zaostalim u zatvorenim pakiranjima i na taj način sprječava reakcije oksidacije. Ovaj antioksidans prirodno je prisutan u svježem voću i povrću i topljiv je u vodi. Astaksantin se dobiva iz algi i on je karotenoid koji se u organizmu ne pretvara u vitamin A, a pokazao se kao vrlo snažan antioksidans za zaštitu kože i očiju od štetnog djelovanja sunca. Likopen možemo izdvojiti kao najjači antioksidans iz skupine karotenoida, kojeg najviše ima u rajčici. Likopen inaktivira slobodne radikale, štiti lipide, proteine i DNA od oksidacije, te je inaktivator kisika.

Što se tiče biljnih ekstrakata, ekstrakt ružmarina pokazuje najbolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α -tokoferol, askorбил palmitat i limunsku kiselinu. U kombinaciji sa askorбил palmitatom i limunskom kiselinom pokazuje povećanje antioksidacijskog efekta, dok je u kombinaciji sa α -tokoferolom otkriven njegov negativan sinergistički učinak (Hraš i sur., 2000.).

2.5.2. Sinergisti

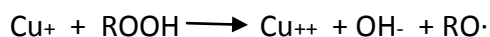
Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali u kombinaciji s nekim od antioksidanasa produžuju njegovo djelovanje. S obzirom na to svojstvo nazivamo ih još i sekundarnim antioksidansima, a mogu djelovati na nekoliko načina:

- vežu ione metala, inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
- daju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju vrijeme njegovog trajanja,
- sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida – sinergist se veže s radikalom antioksidansa i zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

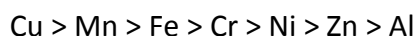
Najčešće korišteni sinergisti su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropil citrat, askorбил palmitat i lecitin. Valja istaknuti kako svi sinergisti ne djeluju sa svakim antioksidansom odnosno, određeni sinergisti s antioksidansima mogu dovesti do ubrzanja procesa autooksidacije.

Isto tako, postoje čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja. Nazivamo ih prooksidansima te u njih ubrajamo temperaturu, svjetlost, prisutnost slobodnih masnih kiselina, tragove metala i pojedine pigmente. Djelovanje prooksidanasa je svojstveno po tome što skraćuju indukcionu period autooksidacije ili ga potpuno uklanjaju i tako kataliziraju proces oksidacije (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980.).

Povišene temperature ubrzavaju proces autooksidacije i razgradnju hidroperoksida, a temperature ispod $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ga usporavaju. Kako bismo spriječili prooksidacijsko djelovanje svjetlosti na ulje, potrebno je ulje skladištiti i čuvati u odgovarajućoj ambalaži (PET, tamna staklena), jer je svjetlost prooksidans, bez obzira na valnu duljinu, kao i tragovi metala u ulju koji su prooksidansi već u vrlo malim koncentracijama. Princip njihovog djelovanja je reakcija iona metala s hidroperoksidima, pri čemu nastaju slobodni radikali.



Nastaje autokatalizirana reakcija oksidacije ulja. Nemaju svi ioni metala jednako prooksidacijsko djelovanje, a njihovo djelovanje se može spriječiti dodavanjem spojeva koji vežu metalne ione u kompleks i na taj način ih inaktiviraju.



Djelovanjem svjetlosti na ulje koje sadrži klorofil, klorofil postaje prooksidans. I hem – spojevi također imaju prooksidacijsko djelovanje i sastavni su dio koncentriranih juha i proizvoda od mesa.

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

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

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

Spomenute metode, koje se primjenjuju za određivanje održivosti ulja, rade na principu ubrzane oksidacije ulja pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces. Isto tako, važno je napomenuti kako se nikada ne primjenjuje samo jedna metoda za određivanje ukupne slike stupnja nastale oksidacijske promjene.

Senzorske metode

Senzorske metode, kako im samo ime govori, zasnivaju se na određivanju prisutnosti neugodnog užeglog mirisa i okusa ulja nastalog reakcijama oksidacije. Senzorska ispitivanja su subjektivna i nedovoljna za donošenje konačne ocjene nekog proizvoda, ali su vrlo važna pri ispitivanju kvalitete ulja.

Fizikalne metode

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

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

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

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

Što je vrijednost R niža, to je ulje lošije kvalitete. Ova metoda se primjenjuje za određivanje oksidacijskog stupnja kod sirovih ulja, a ostale fizikalne metode, koje se primjenjuju za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja, prikazane su u **Tablici 4**.

Jedna od fizikalnih metoda je i plinska kromatografija koja se primjenjuje za određivanje oksidacijskih promjena kod čistih ulja i masti, jer je otežano praćenje kompleksnih lipidnih spojeva te se u većini slučajeva koristi za određivanje hlapljivih spojeva.

Tablica 4 Fizikalne metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Fizikalne metode	Ispitivani parametri
UV – spektrofotometrija	Konjugirani dieni/trieni
IR spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nukl. magn. rezonanca)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi) i ketoni
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehidi i sekundarni produkti
Indeks refrakcija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

Kemijske metode

Kemijske metode se najčešće primjenjuju za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja (**Tablica 5**). Tako je određivanje peroksidnog broja najstarija i najprimjenjivija kemijska metoda određivanja oksidacijske stabilnosti ulja. Peroksidnim brojem se određuju primarni produkti oksidacije (peroksidi).

Najviše se primjenjuje metoda Lea i Wheeler-a. To su jodometrijske metode po kojima se određuje količina joda kojeg iz kalij-jodida oslobode peroksidi sadržani u ulju (Gunstone, 2004.). Osim toga, primjenjuju se i kolorimetrijske metode koje se temelje na oksidaciji željeza (II) soli u željezo (III) i mijenjanjem obojenja. Anisidinskim brojem (Abr) određuje se količina sekundarnih produkata, a temelji se na reakciji viših nezasićenih aldehida sa *p*- anisidinom u kiselom mediju. Nadalje, Totox brojem određuje se količina primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, na način da se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja.

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

- Pbr – peroksidni broj
- Abr – anisidinski broj

Tablica 5 Kemijske metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Kemijska metoda	Ispitivani parametar
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehidi
Karbonilni broj	Svi spojevi sa karbonilnom grupom
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbonilni spojevi
Kreis test	Epoksialdehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili totox broj	Ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije

2.7. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Održivost ili tzv. oksidacijska stabilnost biljnih ulja predstavlja vremenski period kroz koji se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Prilikom skladištenja ulja, vrlo je važno utvrditi oksidacijsku stabilnost ulja, kako bismo unaprijed poznavali vrijeme čuvanja proizvoda bez promjena njegove kvalitete, te definirali rok trajanja ulja. Sam postupak određivanja oksidacijske stabilnosti provodi se primjenom određenih metoda koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja, djelovanjem jednog ili više čimbenika. U praksi ne postoji jedinstvena metoda pomoću koje dobivamo ukupne podatke o oksidacijskim promjenama, stoga se koristi više različitih metoda koje daju ukupne podatke (**Tablica 6**), odnosno sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije.

Tablica 6 Analitičke metode za određivanje održivosti masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

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

Oven test (Schaal oven test)

Pri provođenju ovog testa uzorci ulja se zagrijevaju i drže na temperaturi od 60 ili 63 °C u sušioniku ili termostatu, te se u određenim vremenskim razmacima (svakih 24 h) prati porast peroksidnog broja i senzorske promjene.

Rezultat se izražava kao:

- broj dana za koji peroksidni broj dostigne određenu vrijednost,
- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena (jestiva ulja obično četiri dana) na temperaturi od 63 °C,
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užeglosti putem senzorskih ispitivanja.

Valja napomenuti kako jedan dan Oven testa odgovara održivosti ulja od 6 do 12 dana pri sobnoj temperaturi (Dimić i Turkulov, 2000.).

Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)

Za razliku od Oven testa, kod ovoga se uzorci biljnih ulja zagrijevaju na višim temperaturama, točnije na 97,8 °C, prilikom čega kroz uzorke prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci ulja uzimaju se u određenim vremenskim razmacima i određuje se peroksidni broj. Održivost ulja se najčešće određuje do peroksidnog broja 5 mmol O₂/kg. Kvalitetna ulja

koja su dobre održivosti nakon 8 sati ovog testa moraju imati peroksidni broj manji od 5 mmol O₂/kg (Rade i sur., 2001.).

Rancimat test

Rancimat test se temelji na ubrzanoj oksidaciji biljnih ulja pri određenim uvjetima. Rancimat uređajem određujemo oksidacijsku stabilnost ulja pri povišenoj temperaturi od 100 °C, 110 °C pa i do 120 °C uz konstantan dovod zraka. Umjesto peroksidnog broja ovim se testom određuje povećanje udjela mravlje i drugih nižemolekularnih hlapljivih kiselina, koji su produkti oksidacije. Pri tome se one uvode u deioniziranu vodu kojoj se mijenjaju svojstva elektroprovodljivosti. Ovi produkti oksidacije određuju se konduktometrijski s automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena.

Indukcijski period (IP), određen na ovaj način, označava se kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001.). Što je vrijeme indukcije dulje (u satima), ulje ima bolju održivost odnosno oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je proizvesti hladno prešano lješnjakovo ulje, koristeći pužnu prešu, te ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja (temperatura glave preše, veličine otvora glave preše za izlaz pogače i brzine pužnice - frekvencije elektromotora) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja. Nadalje, zadatak je bio ispitati oksidacijsku stabilnost proizvedenog ulja, uz dodatak određenih antioksidanasa i sinergista. Time smo željeli ispitati utjecaj pojedinog antioksidansa, sa i bez dodatka sinergista, na oksidacijsku stabilnost ulja primjenom Oven testa (63°C) i praćenjem promijene vrijednosti peroksidnog broja u uzorku čistog hladno prešanog lješnjakovog ulja i uzorcima s dodanim prirodnim i sintetskim antioksidansima tijekom četiri dana, koliko je trajalo ispitivanje.

Bitno je napomenuti kako su, prije provođenja Oven testa tj. ispitivanja oksidacijske stabilnosti ulja, određeni osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja primjenom standardnih metoda. Tako su pojedinim metodama određeni: peroksidni broj, netopljive nečistoće, udio vlage u ulju, udio slobodnih masnih kiselina, jodni broj, saponifikacijski broj, anisidinski i totox broj, dok je metodom po Soxlet-u određen udio ulja u jezgri lješnjaka i pogači te udio vode u lješnjaku.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

JEZGRA LJEŠNJAKA

Hladno prešano lješnjakovo ulje proizvedeno je iz sorte Istarski duguljasti lješnjak. Berba je obavljena početkom rujna (3. do 10. rujna 2014.). Sirovina se sušila (u košuljici) strujanjem zagrijanog zraka tijekom mjesec dana nakon čega je košuljica uklonjena. Nakon sortiranja sirovine, postupkom drobljenja uklonjena je ljuska ploda. Dobivena jezgra lješnjaka skladištila se u povoljnim uvjetima do same proizvodnje ulja.

ANTIOKSIDANSI

A. PRIRODNI

Ekstrakt ružmarina OxyLess®.CS

Oxy Less CS je prirodni ekstrakt dobiven iz listova ružmarina (*Romarinus officinalis* L.), bež boje, proizveden u praškastom obliku u Francuskoj (tvrtka NATUREX). Udio karnosolne kiseline je 18 do 22 %, zaštitni faktor (PF) je veći od 12 %, suha tvar ekstrakta je od 92 do 98 %. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelima 0,1 % i 0,2 % računato na masu ulja.

Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja je prirodni ekstrakt dobiven iz listova zelenog čaja (*Camellia sintensis* L.), topljiv u vodi, proizveden je u praškastom obliku u Francuskoj (tvrtka NATUREX). Udio epigalokatehin galata (EGCG) veći je od 45 %, udio ukupnih polifenola veći je od 98%, udio kofeina manji je od 2 %, a udio katehina veći je od 80 %.

Ekstrakt nara

Ekstrakt nara je prirodni ekstrakt koji prema svom sastavu pripada maltodekstrinima. Dobiven je iz voća nara (*Punica granatum* L.). Također je proizveden u Francuskoj (NATUREX), praškastog je oblika, smeđe boje i topljiv je u vodi. Sadrži više od 10 % elagične kiseline, a udio suhog ekstrakta veći je od 95 %.

Eterično ulje rtanjskog čaja

Eterično ulje rtanjskog čaja dobiva se parnom destilacijom cvjetnih vrhova rtanjskog čaja (*Satureja Montana*). Eterično ulje koje smo koristili u ovom ispitivanju proizvedeno je od strane Instituta za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija). DPPH metodom je određena antioksidacijska aktivnost eteričnog ulja rtanjskog čaja i iznosi $IC_{50} = 0,0629$ (mg/ml).

B. SINTETSKI

Propil galat (E 310)

Propil-galat je propilni ester galne kiseline koja je prirodni biljni fenolni spoj. Esteri galne kiseline najčešće se rabe za stabilizaciju biljnih i životinjskih masti jer sprječavaju njihovu oksidaciju.

C. SINERGISTI

Askorbinska kiselina

Prirodni antioksidans, regulator kiselosti, stabilizator i sredstvo za tretiranje brašna. Biosinteza askorbinske kiseline, poznate kao vitamin C, obavlja se u biljkama i životinjama, a čovjek je mora uzimati putem hrane zbog nedostatka enzima potrebnog za njezinu sintezu.

Limunska kiselina

Prirodni antioksidans, sredstvo za zakiseljavanje i reguliranje kiselosti, sredstvo za kompleksiranje. Prirodno se nalazi u mnogim vrstama voća. Industrijski se proizvodi biotehnološkim postupkom u kojemu se mikroorganizmima u hranjivi medij dodaje glukoza ili melasa. Može se proizvesti tehnikom genetičkog inženjerstva, ali još nije moguće dati konačnu procjenu učinaka tako proizvedene limunske kiseline. Pojačava antioksidacijske učinke drugih aditiva. Smije se upotrebljavati u ekološkoj proizvodnji hrane. Smatra se bezopasnom.

PUŽNA PREŠA

Za proizvodnju hladno prešanog lješnjakovog ulja, korištena je kontinuirana pužna preša, proizvedena od tvrtke „ElektroMotor-Šimon“. Tip preše je SPU 20 (**Slika 13**), a kapacitet prešanja je 20 - 25 kg/h, snage 1,5 kW.



Slika 13 Kontinuirana pužna preša

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u jezgri lješnjaka i pogači

Udio ulja u jezgri lješnjaka i udio ulja u pogači, koje zaostaje nakon prešanja, određen je standardnom metodom ekstrakcije ulja po Soxlet-u, koja je propisana nacionalnim ili međunarodnim normama. Aparatura za ovaj postupak sastoji se od: tikvice, ekstraktora i hladila, a za ekstrakciju smo koristili otapalo petrol – eter. Sam postupak se provodi tako da se na osušenu i izvaganu tikvicu stavlja ekstraktor s tuljkom u kojem je uzorak. U ekstraktor se dodaje otapalo, nakon čega se ono stavlja u hladilo pri čemu započinje kontinuirana ekstrakcija do iscrpljenja pripremljene sirovine. Vrijeme ekstrakcije je obično propisano

metodom ili brojem prelijevanja ekstraktora. Po završetku ekstrakcije, otapalo se predestilira u istoj aparaturi, a zaostalo ulje u tikvici se suši i važe. Udio ulja računa se prema formuli:

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

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

Stupanj djelovanja preše određuje se na temelju udjela ulja u sirovini i dobivenoj pogači, odnosno iz prinosa prešanog ulja (Dimić i Turkulov, 2000.).

Količina prešanog ulja (%) izračunava se primjenom formule:

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

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:

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

gdje je:

U- količina prešanog ulja (%);

U_0 - udio ulja u sirovini (%).

3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja

Parametri kvalitete ulja koje smo određivali tijekom ovog diplomskog rada su: peroksidni broj (Pbr), udio slobodnih masnih kiselina (SMK), udio netopivih nečistoća, udio vlage u ulju, anisidinski broj (Abr) te totox broj.

Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj predstavlja indikator svježine odnosno užeglosti neke masti ili ulja. Ova metoda je jedna od najkorištenijih za ispitivanje primarnih produkata oksidacije ulja. U ovom ispitivanju peroksidni broj je određen standardnom metodom – Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijski što znači da se određivanje zasniva na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalij jodida, koji se potom određuje titracijom s otopinom Na-tiosulfata, prema zahtjevima norme HRN EN ISO 6885:2007 (HRN, 2007.).

Rezultat

se izražava kao broj mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O₂/kg).

Sam postupak se provodi na način da se uzorak ulja otopi u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma, promiješa i doda mu se KI. Točno jednu minutu uzorak se miješa rukom, a zatim se razrijedi prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom, nakon čega se dodaje otopina škroba koja služi kao indikator. Kako je već prethodno spomenuto, djelovanjem peroksida oslobađa se jod iz otopine kalij jodida koji se zatim određuje titracijom s 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 koju oslobodi 1g masti ili ulja iz kalij jodida ,a izražava se prema formuli:

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

gdje je:

V₁ – volumen otopine Na₂S₂O₃ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka (mL);

V₀ – volumen otopine Na₂S₂O₃ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepa probe (mL);

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Masti i ulja osim masnih kiselina vezanih u triacilglicerole sadrže i određenu količinu slobodnih masnih kiselina koje nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triglicerida. Udio tih slobodnih masnih kiselina u ulju i masti ovisi o upotrijebljenoj sirovini, načinu dobivanja i skladištenja, a može se izraziti kao:

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

Sve navedene vrijednosti mogu se dobiti istim postupkom određivanja i mogu se preračunati jedna u drugu. 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 (HRN, 1996.).

Metoda određivanja udjela SMK zasniva se na principu titracije ulja s 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 M otopinom NaOH do promjene boje. Udio slobodnih masnih kiselina izražava se kao % SMK izražene kao oleinska kiselina, a računa se prema formuli:

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

gdje je:

- V – utrošak otopine natrijevog hidroksida za titraciju uzorka (mL);
- c – koncentracija otopine natrijevog hidroksida utrošenog za titraciju (0,1 mol/L);
- M – molekularna masa oleinske kiseline (282 g/mol);
- m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje netopljivih nečistoća u ulju

Netopljive nečistoće u ulju uglavnom predstavljaju mehaničke nečistoće koje mogu biti mineralne tvari ili organski sastojci poput dijelova biljke uljarica, ljuske lješnjaka i sl. Također, u ulju se mogu naći i razni ugljikohidrati, tvari s dušikom, smole, Ca-sapuni,

oksidirane masne kiseline, laktoni masnih kiselina, hidroksi masne kiseline i njihovi gliceridi, za koje je karakteristično da se, za razliku od triglicerida, ne otapaju u organskim otapalima.

Netopljive nečistoće su karakteristične za sirova biljna ulja i njihova je količina limitirana odgovarajućim standardima za određenu vrstu ulja. Tako je, udio netopljivih nečistoća u ulju dobre kvalitete često niži od 0,03 %. Količina netopljivih nečistoća, kao uvjet kvalitete ulja, limitirana je kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih ulja određenim Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12). Netopljive nečistoće u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 663: 1992 (HRN, 1992.).

Metoda određivanja količine netopljivih nečistoća u ulju radi 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:

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

gdje je:

m_0 – masa uzorka (g);

m_1 – masa osušenog filter - lijevka (g);

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

Određivanje vlage u ulju

Količina vlage (vode) i hlapljivih tvari važan je pokazatelj kvalitete sirovih i rafiniranih biljnih ulja. Zbog prisustva vlage u ulju može doći do hidrolitičkih promjena, što rezultira porastom kiselosti ulja odnosno, povećanjem udjela slobodnih masnih kiselina, čime se pogoršava kvaliteta ulja. Također, veća količina vlage u ulju može dovesti i do zamućenja istog, što dovodi do smanjenja estetske vrijednosti samog proizvoda.

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 ± 2 °C, do konstantne mase. Gubitak mase utvrđuje se vaganjem.

Udio vlage u ulju računa se prema formuli:

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

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 anisidinskog broja (Abr)

Budući da omogućuje potpunu procjenu kvalitete, određivanje anisidinskog broja česta je metoda koja se koristi kada se radi o ispitivanju kvalitete sirovih i jestivih ulja. Iako zakonski propisi kvalitete za anisidinski broj nemaju ograničenja, smatra se da bi kod ulja dobre kvalitete anisidinski broj trebao biti manji od 10.

Anisidinski broj (Abr) omogućuje direktno određivanje sadržaja nehlapljivih karbonilnih spojeva, tj. sekundarnih produkata oksidacije, koji su prisutni u ulju, a nastali su razgradnjom primarnih produkata oksidacije. Određivanje ove vrijednosti zasniva se na reakciji para-anisidina s višim nezasićenim aldehydima (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 s para-anisidinom, je mjerilo količine prisutnih karbonila. Vrijednost ove apsorbancije povećana 100 puta daje anisidinski broj.

Sam postupak započinje tako da se uzorak ulja za ispitivanje otopi u odgovarajućem otapalu, nakon čega mu se dodaje 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 je određivan 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:

- za spektrofotometar sa jednim snopom

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

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 se određuje količina primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja, na način da se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja. Totox broj izračunava se prema formuli:

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

gdje je:

Pbr – peroksidni broj;

Abr – anisidinski broj.

3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja

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 karakteristična konstanta 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. Osim toga, na sadržaj saponifikacijskog broja utječe i sadržaj neosopunjivih tvari, odnosno dodanih stranih primjesa.

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

Saponifikacijski broj računa se prema formuli:

$$\text{Saponifikacijski broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 28,1}{m} \quad \text{mg KOH/g ulja)}$$

gdje je:

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

V_1 – volumen 0,5 M otopine HCl utrošen za titraciju uzorka (mL);

m – masa uzorka (g).

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

Određivanje jodnog broja

Određivanjem jodnog broja ukazuje se na nezasićenost ulja ili masti, tj. ukazuje se 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 / 100 g).

Metoda određivanja jodnog broja zasniva se na vezanju joda na dvostruke veze masne kiseline, pri tome iz njegove vrijednosti dobivamo uvid u stupanj nezasićenosti ulja ili masti. Ukoliko je vrijednost jodnog broja veća to je veća prisutnost nezasićenih masnih

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

Metoda se provodi tako da se uzorak ulja otopi u kloroformu, a zatim se otopini doda otopina jednog monobromida, promućka, zatvori staklenim čepom i ostavi u tamnom prostoru pola sata. Nakon toga se otopini doda KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda te se vrši 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:

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

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).

3.2.2.5. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja (Schaal oven test)

Priprema uzorka za analizu

Nakon što su određeni svi osnovni parametri kvalitete dobivenog ulja, određuje se oksidacijska stabilnost ulja Schaal oven testom, na način da se u staklene čašice izvaže po 30 g uzorka u koje se zatim dodaju, prethodno opisani, antioksidansi u točno određenim koncentracijama, te se promiješaju staklenim štapićem. Uzorci se zagrijevaju do temperature od 70 °C do 80 °C te se na toj temperaturi održavaju narednih 30 minuta uz konstantno miješanje, kako bi nastala homogena smjesa s antioksidansima, a zatim se uzorci ohlade na sobnu temperaturu. Nakon hlađenja, čaše s uzorcima se prekriju satnim stakalcem i stavljaju u termostat čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa i bez dodanih antioksidanasa i sinergista (**Slika 14**).



Slika 14 Termostat s pripremljenim uzorcima ulja sa i bez dodanih antioksidanasa

UZORCI:

1. ČISTO ULJE JEZGRE LJEŠNJAKA
2. ULJE + 0,1 % ekstrakt zelenog čaja
3. ULJE + 0,2 % ekstrakt zelenog čaja
4. ULJE + 0,1 % ekstrakt zelenog čaja + 0,01 % askorbinska kiselina
5. ULJE + 0,1 % ekstrakt zelenog čaja + 0,01 % limunska kiselina
6. ULJE + 0,1 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)
7. ULJE + 0,2 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)
8. ULJE + 0,1 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina) + 0,01 % askorbinska kiselina
9. ULJE + 0,1 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina) + 0,01 % limunska kiselina
10. ULJE + 0,1 % ekstrakt nara
11. ULJE + 0,2 % ekstrakt nara
12. ULJE + 0,1 % ekstrakt nara + 0,01 % askorbinska kiselina
13. ULJE + 0,1 % ekstrakt nara + 0,01 % limunska kiselina
14. ULJE + 0,01 % propil galat (PG)
15. ULJE + 0,05 % eterično ulje rtanjskog čaja

Oven test

Pripremljeni uzorci ulja, prethodno opisanim postupkom, zagrijavaju se u termostatu pri temperaturi 63 °C (**Slika 15**) uz praćenje peroksidnog broja tijekom četiri dana, odnosno svakih 24 sata kako bi se odredio peroksidni broj. Prethodno homogenizirani uzorci ulja se uzorkuju u pripremljene čašice, odlije se 3 do 5 g ulja, a češe s uzorcima ulja nazad se vrata u termostat. Kada se temperatura uzorkovanih ulja spusti na sobnu temperaturu određuje se peroksidni broj.

Rezultati Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O₂/kg) nakon određenog vremena stajanja u termostatu pri temperaturi od 63 °C, odnosno nakon četiri dana trajanja testa. Ustanovljeno je da vrijednost jednog dana održivosti biljnog ulja sa Oven testom odgovara stvarnoj održivosti ulja od 6 do 12 dana pri sobnoj temperaturi.



Slika 15 Termostat

4. REZULTATI

Tablica 7 Utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače kod prešanja jezgre lješnjaka na iskorištenje hladno prešanog lješnjakovog ulja. Udio ulja u jezgri lješnjaka je 60,34%, a udio vode 4,70%.

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija, vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 6 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	260	185	48	210,04	17,35	71,25
N = 8 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	315	275	44	224,04	16,14	73,25
N = 9 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	270	230	48	220,73	19,89	67,04
N = 10 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	305	255	47	229,38	21,06	65,10

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).

Tablica 8 Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja jezgre lješnjaka na iskorištenje hladno prešanog lješnjakovog ulja.

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija, vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	315	275	44	224,04	16,14	73,25
N = 8 mm F = 25 Hz T = 80 °C	0,5	295	250	46	215,98	16,44	72,75
N = 8 mm F = 30 Hz T = 80 °C	0,5	305	255	51	222,07	19,85	67,10
N = 8 mm F = 35 Hz T = 80 °C	0,5	340	290	50	226,41	15,95	73,57

Tablica 9 Utjecaj temperature grijača glave preše na izlazu pogače kod prešanja jezgre lješnjaka na iskorištenje hladno prešanog lješnjakovog ulja.

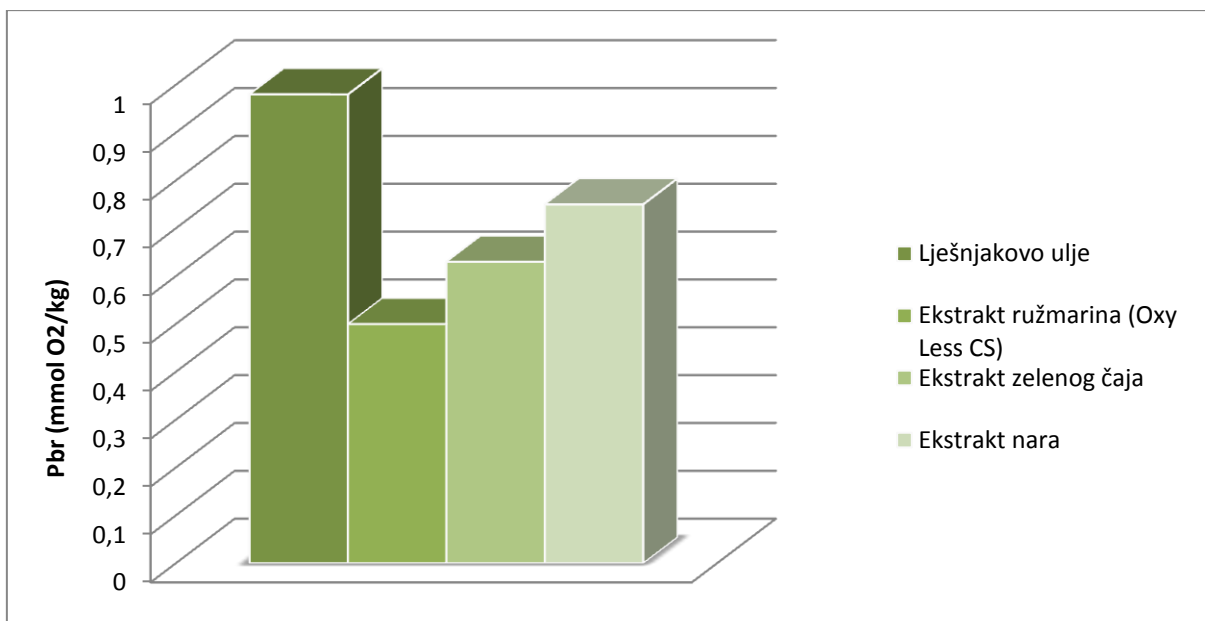
Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija, vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm F = 25 Hz T = 80 °C	0,5	295	250	46	215,98	16,44	72,75
N = 8 mm F = 25 Hz T = 90 °C	0,5	315	270	54	222,79	18,81	68,83
N = 8 mm F = 25 Hz T = 100 °C	0,5	310	265	53	220,95	20,31	66,34

Tablica 10 Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja dobivenog miješanjem ulja kod ispitivanja utjecaja procesnih parametara.

Parametar kvalitete	
Peroksidni broj (Pbr), mmol O ₂ /kg	0
Slobodne masne kiseline (SMK), %	0,39
Anisidinski broj	0,19
Totox broj	0,19
Jodni broj, gI ₂ /100 g	91,55
Saponifikacijski broj, mg KOH/g ulja	191,46
Voda, %	0,085
Netopljive nečistoće, %	0,24

Tablica 11 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja sa i bez dodanog antioksidansa i sinergista, određena Oven testom, 4 dana praćenja Pbr svakih 24 h.

Uzorak	Udio antioksidansa (%)	Pbr (mmol O ₂ /kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Lješnjakovo ulje	-	0,0	0	0,50	0,76	0,98
Ekstrakt ružmarina (Oxy	0,1		0	0,25	0,37	0,50
Less CS)	0,2		0	0,24	0,25	0,37
+ 0,01% limunska kis.	0,1		0	0,26	0,26	0,37
+ 0,01% askorbinska kis.	0,1		0	0,25	0,25	0,37
Ekstrakt zelenog čaja	0,1		0	0,25	0,50	0,63
	0,2		0	0,25	0,37	0,50
+ 0,01% limunska kis.	0,1		0	0,25	0,25	0,38
+ 0,01% askorbinska kis.	0,1		0	0,25	0,25	0,37
Ekstrakt nara	0,1		0	0,49	0,52	0,75
	0,2		0	0,25	0,38	0,50
+ 0,01% limunska kis.	0,1		0	0,48	0,52	0,74
+ 0,01% askorbinska kis.	0,1		0	0,49	0,52	0,63
Propil galat	0,01		0	0,26	0,26	0,38
Eterično ulje rtanjskog čaja	0,05		0	0,26	0,25	0,36



Slika 16 Utjecaj dodatka antioksidansa (0,1 %) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja nakon četiri dana Oven testa

5. RASPRAVA

Rezultati ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja jezgre lješnjaka (veličina otvora glave preše, frekvencija elektromotora, temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače) na iskorištenje hladno prešanog lješnjakovog ulja prikazani su u tablicama 7-9.

U Tablici 7 prikazan je utjecaj veličine otvora glave preše ($N = 6, 8, 9, 10$ mm) koji definira promjer izlaza pogače (nusprodukt prešanja) na iskorištenje lješnjakovog ulja. Prešanjem lješnjaka primjenom nastavka veličine otvora za pogaču ($N = 6$ mm) dobiveno je 260 ml sirovog ulja, temperature $48\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nakon 7 dana taloženja (sedimentacije) sirovog ulja i vakuum filtracije dobiveno je 185 mL finalnog ulja (hladno prešano lješnjakovo ulje). Korištenjem nastavka za izlaz pogače $N = 8$ mm, pri konstantnim parametrima frekvencija elektromotora $F = 20$ Hz i temperatura glave preše $T = 80^{\circ}\text{C}$, dobivena je najveća količina sirovog ulja 315 mL temperature 44°C . Nakon prirodnog taloženja i vakuum filtracije proizvedeno je najviše hladno prešanog lješnjakovog ulja 275 mL, a udio zaostalog ulja u pogači je najniži 16,14 % te najveći stupanja djelovanja preše 73,25 %. Dakle, primjenom nastavka za izlaz pogače još većeg promjera $N = 9$ i 10 mm proizveden je manji volumen sirovog i finalnog lješnjakovog ulja, veći udio zaostalog ulja u pogači i manji stupanj djelovanja preše u odnosu na primjenu $N = 8$ mm.

U Tablici 8 vidljiv je utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) 20, 25, 30, 35 Hz kod prešanja lješnjaka na iskorištenje hladno prešanog ulja pri konstantnim procesnim parametrima prešanja nastavak za izlaz pogače $N = 8$ mm i temperatura glave preše 80°C . Prešanjem lješnjaka kod ispitivane frekvencije elektromotora $F = 35$ Hz dobiven je veći volumen sirovog ulja (340 mL) i finalnog ulja nakon taloženja i vakuum filtracije (290 mL), niži udio zaostalog ulja u pogači (15, 95 %) te veći stupanj djelovanja preše (73,57 %) u odnosu na primjenu 20, 25 i 30 Hz. Kod frekvencije elektromotora 25 Hz dobiveno je najmanje iskorištenje sirovog i finalnog lješnjakovog ulja.

Rezultati ispitivanja utjecaja temperature grijača glave preše ($80, 90, 100^{\circ}\text{C}$) na izlazu pogače kod prešanja lješnjaka na iskorištenje hladno prešanog lješnjakovog ulja prikazani su u Tablici 9. Ovo ispitivanje provedeno je pri konstantnoj frekvenciji elektromotora $F = 25$ Hz i nastavka za izlaz pogače $N = 8$ mm. Zagrijavanjem glave preše na $T = 80^{\circ}\text{C}$ dobiveno je 295 ml sirovog ulja temperature $46\text{ }^{\circ}\text{C}$, a nakon 7 dana taloženja i vakuum filtracije 250 mL finalnog hladno prešanog lješnjakovog ulja te zaostalog ulja u pogači 16,44 %. Porastom temperature

glave preše na 90 °C proizvedena je veća količina sirovog ulja (315 mL) i finalnog ulja (270 mL). Kod ovog pokusa zapažena je veća temperatura sirovog ulja (54°C) čime je proizvedeno ulje nešto veće temperature na što propisuje Pravilnik o jestivim uljima i mastima (NN 41/12) gdje je dozvoljena maksimalna temperatura 50°C kod proizvodnje hladno prešanog ulja. Daljnjim porastom temperature glave preše na 100°C dolazi do podjednake proizvodnje sirovog i finalnog lješnjakovog ulja temperature 53°C što je opet viša temperatura od propisane Pravilnikom za ovu kategoriju ulja.

Nakon završetka ispitivanja utjecaja procesnih parametara kod hladnog prešanja na iskorištenje ulja proizvedeno lješnjakovo ulje je pomiješano i na njemu je provedeno ispitivanje osnovnih parametara kvalitete (SMK, Pbr, % vode, % netopivih nečistoća), a rezultati su prikazani u Tablici 10. Rezultati ispitivanih parametara ukazuju na to da je svježe proizvedeno hladno prešano lješnjakovo ulje jako dobre kvalitete. Parametri kvalitete ulja SMK, Pbr i % vode su u skladu s Pravilnikom, osim % netopljivih nečistoća koji ima nešto veću vrijednost te je potrebno dodatno uklanjanje krutih čestica iz sirovog lješnjakovog ulja. Vrijednosti parametara za identifikaciju ulja jodni broj i saponifikacijski broj podudaraju se sa literaturnim vrijednostima za lješnjakovo ulje.

U Tablici 11 prikazana je oksidacijska stabilnost svježe proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa i sinergista, određena Oven testom (63°C) tijekom 4 dana praćenjem Pbr svakih 24 sata. Ispitivano hladno prešano lješnjakovo ulje (kontrolni uzorak) ima početnu vrijednost Pbr=0 (mmolO₂/kg) što znači da je ulje svježe bez primarnih produkata oksidacijskog kvarenja (hidroperoksidi, peroksidi). Tijekom 4 dana ovog testa ubrzane oksidacije ulja dolazi do postepenog porasta Pbr, a nakon 4 dana testa vrijednost je 0,98 mmolO₂/kg ulja što ukazuje na dobru održivost ovog ulja tj. dobra je otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Dodatkom ispitivanih prirodnih antioksidanasa (ekstrakta ružmarina tip Oxy Less CS, ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta nara) udjela 0,1 % i 0,2 % došlo je do porasta stabilnosti lješnjakovog ulja, povećana je otpornost ulja prema oksidacijskom kvarenju. Značajno antioksidacijsko djelovanje u lješnjakovom ulju pokazuje ekstrakt ružmarina koji efikasno štiti ovo ulje od oksidacijskog kvarenja. Dodatkom koncentracije 0,1 % postiže se nakon 4 dana testa vrijednost Pbr 0,50 (mmolO₂/kg), dakle efikasnija zaštita ulja u odnosu na dodatak ekstrakta zelenog čaja i nara (Tablica 11, Slika 16). Bolja stabilnost lješnjakovog ulja postiže se dodatkom ekstrakta zelenog čaja nego

ekstraktom nara (0,1 %). Povećanjem udjela dodanog antioksidasa na 0,2 % također se zapaža veća stabilizacija ovog ulja dodatkom ekstrakta ružmarina, a ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara, udjela 0,2 %, pokazuju istu razinu zaštite od oksidacijskog kvarenja. Ispitivanjem utjecaja dodatka sinergista (limunska i askorbinska kiselina, 0,01 %) uz ove prirodne antioksidanse (0,1 %) na stabilnost lješnjakovog ulja utvrđeno je da oba sinergista efikasno povećavaju antioksidacijsko djelovanje uz dodatak ekstrakta ružmarina i zelenog čaja. Sinergisti pokazuju manju razinu zaštite ovog ulja uz dodatak ekstrakta nara. Eterično ulje rtanjskog čaja (0,05 %) pokazuje najbolju efikasnost zaštite lješnjakovog ulja od oksidacijskog kvarenja, nakon 4 dana testa vrijednost Pbr je 0,36 (mmolO₂/kg). Razina zaštite ulja podjednaka je kao i kod dodatka ekstrakta ružmarina (0,2 %), ali uz primjenu znatno niže koncentracije (0,05 %). Sintetski antioksidans propil galat (0,01 %) dodan u lješnjakovo ulje pokazuje nakon 4 dana testa Pbr 0,38 (mmolO₂/kg) što predstavlja sličnu razinu zaštite od oksidacije kao i dodatak ekstrakta ružmarina (0,2 %).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi istraživanja utjecaja procesnih parametara prešanja lješnjaka na iskorištenje ulja te dodatka antioksidanasa i sinergista na njegovu oksidacijsku stabilnost dobiveni su sljedeći zaključci:

1. Veličina otvora za izlaz pogače utječe na iskorištenje ulja tijekom hladnog prešanja jezgre lješnjaka.
2. Primjenom nastavka za izlaz pogače promjera 8 mm postiže se veće iskorištenje, veći volumen sirovog i hladno prešanog lješnjakovog ulja, niži udio zaostalog ulja u pogači te veći stupanj djelovanja preše u odnosu na nastavak promjera 6, 9 i 10 mm.
3. Frekvencija elektromotora koja regulira brzinu pužnice tijekom hladnog prešanja jezgre lješnjaka utječe na iskorištenje ulja.
4. Prešanjem lješnjaka kod frekvencije elektromotora 35 Hz postiže se veće iskorištenje ulja tj. proizveden je veći volumen sirovog ulja i hladno prešanog ulja, manji je zaostatak ulja u pogači te veći stupanj djelovanja preše u odnosu na primjenu brzine pužnice 20, 25 i 30 Hz.
5. Temperatura zagrijavanja glave preše na izlazu pogače utječe na iskorištenje lješnjakovog ulja tijekom hladnog prešanja.
6. Zagrijavanjem glave preše na 90°C proizvedena je veća količina sirovog i hladno prešanog lješnjakovog ulja u odnosu na primjenu 80°C i 100°C.
7. Primjenom temperature glave preše 90°C i 100°C dobiveno je sirovo ulje veće temperature u odnosu na onu propisanu Pravilnikom za kategoriju hladno prešano ulje.
8. Proizvedeno hladno prešano lješnjakovo ulje je odlične kvalitete na što ukazuju vrlo niske vrijednosti Pbr i SMK u ulju.
9. Proizvedeno hladno prešano lješnjakovo ulje pokazuje dobru stabilnost, tj. otpornost prema oksidacijskom kvarenju, nakon 4 dana testa Pbr je nizak 0,98 (mmolO₂/kg).
10. Ispitivani prirodni antioksidansi, sinergisti i sintetski propil galat dodatno povećavaju stabilnost lješnjakovog ulja prema oksidaciji.
11. Ekstrakt ružmarina (Oxy Less CS; 0,1 % i 0,2 %) značajno povećava stabilnost ili održivost ovog ulja u odnosu na ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara.
12. Bolju antioksidacijsku aktivnost pokazuje ekstrakt zelenog čaja (0,1 %) nego ekstrakt nara (0,1 %), a dodatkom udjela 0,2 % postiže se ista razina zaštite od oksidacije.

13. Dodatak sinergista (limunska i askorbinska kiselina; 0,01 %) uz ekstrakt ružmarina i ekstrakt zelenog čaja (0,1 %) značajno povećava stabilnost ili održivost lješnjakovog ulja. Sinergisti dodani uz ekstrakt nara pokazuju manju dodatnu razinu zaštite ovog ulja od oksidacije.
14. Eterično ulje rtanjskog čaja (0,05 %) pokazuje najbolju efikasnost zaštite lješnjakovog ulja od oksidacijskog kvarenja. Razina zaštite podjednaka je kao i kod dodatka ekstrakta ružmarina (0,2 %), ali uz primjenu znatno niže koncentracije.
15. Dodatak sintetskog antioksidansa propil galata (0,01 %) osigurava sličnu razinu zaštite lješnjakovog ulja od oksidacije kao i ekstrakt ružmarina (0,2 %).

7. LITERATURA

- Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis P, PR and Gruzdiene: *Preliminary screening of antioxidant stability in canola oil*. Journal of the American Oil Chemists Society 80, 2000.
- Bockisch M: *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.
- Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2000.
- Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2005.
- E-brojevi; Propil galat; askorbinska kiselina; Limunska kiselina. [9.06.2015.]
<http://e-brojevi.udd.hr/300.htm>
- Eskin NAM, Przybylski R: *Antioxidants and shelf life of foods*. In Eskin NAM, Robinson DS: *Food Shelf Life Stability*. CRS press, NY, Washington, 2001.
- Gordon MH: *The development of oxidative rancidity in foods*. U Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.). Woodhead Publishing Ltd, 2001.
- Gunstone FD: *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK, 2004.
- Hraš AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D: *Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α – tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil*. Food Chem. 71, 2000.
- 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.
- Jašić M: *Kemija hrane - Lipidi*. Tehnološki fakultet, Tuzla, 2009. [10.06.2015.]
<http://www.tehnologijahrane.com/hemijahrane/lipidi>

- Laubli MW, Bruttal PA: *Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison between the Active Oxygen Method (AOCS cd 12 – 57) and the Rancimat Method*. J. Am. Oil Chem. 63, 1986.
- Mandić ML: *Znanost o prehrani*. Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, 2003.
- Martin-Polvillo M, Marquez – Ruiz G, Dobarganes MC: *Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long – term storage at room temperature*. Journal of the American Oil Chemists Society 81, 2004.
- Merill LI, Pike OA, Ogden LV, Dunn ML: *Oxidative Stability of Conventional and High – Oleic Vegetable Oils With Added Antioxidants*. J. Am. Oil Chem. Soc. 85, 2008.
- Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*, Narodne novine 41/12, 2012.
- Moulis; Istarski duguljasti lješnjak. [4.06.2015.]
http://www.moulis.hr/moulis_hr/galerija-slika/
- O'Brien RD: *Fats and Oils: Formulating and Processing for Application*. CRC Press, Washington, 2004.
- Oštrić – Matijašević B, Turkulov J: *Tehnologija ulja i masti*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1980.
- Prehrambeno-tehnološki fakultet: Nastavni materijali; preddiplomski studij; Kemija hrane; Lipidi. PTF, Osijek, [4.06.2015]
http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Kemija_hrane/kolokvij%202/lipidi.pdf
- Rade D, Morkovčak Z, Štrucelj D: *Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida*. Durieux, Zagreb, 2001.
- Rade D, Škevin D: *Maslinovo ulje i zdravlje – važnost maslinovog ulja u prehrani*. Popularni stručni članci iz područja PBN – a, Prehrambeno – biotehnološki fakultet Zagreb, 2004.
- Sabliov CM, Fronczek C, Astete CE, Khachatryan L, Leonardi C: *Effects of Temperature and UV Light on Degradation of α – Tocopherol in Free and Dissolved Form*. J. Am. Oil Chem. Soc. 86, 2009.

Shahidi F, Zhong Y: Antioksidants: Regulatory status. Bailey's Industrial Oil and Fats Products. Newfoundland, Canada, 2005.

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

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

Slika 2; Struktura; Zasićene i nezasićene masne kiseline. [23.5.2015.]

<http://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=ester>

Slika 12; Biotehnologija; Tokoferoli. [4.06.2015]

<http://biotechnologia.pl/biotechnologia-portal/files/images/ck/tokoferole.jpg>

Slika 13; Kontinuirana pužna preša. [5.06.2015.]

http://www.elektromotor-simon.com/proizvodi/masine_za_preradu/presa_za_ulje/

Slika 15; Termostat. [20.06.2015.]

<http://dir.indiamart.com/chennai/incubators.html>

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

Šoškić M: Orah ilijeska. Bjelovar 2006.

Tehnologija hrane; Enciklopedija; Lipidi. [1.06.2015.]

<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>

Vidyasagar K, Arya SS, Premevali KS, Parihar DB, Nath H: Journal of Science and Technology 11, 73, 1974.

Vučetin N: *Neobavezne informacije na komercijalnoj ambalaži.* Info pak, 2004.

Wijerante SKS, Amarowicz R, Shahidi F: *Antioxidant Activity of almonds and Their By – products in Food Model Systems.* J. Am. Oil Chem. Soc. 83, 2006.

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