

Utjecaj prešanja i ekstrakta kadulje na iskorištenje i oksidacijsku stabilnost ulja biljke *Camelina sativa*

Galović, Maja

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:109:234455>

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

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

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Maja Galović

**UTJECAJ PREŠANJA I EKSTRAKTA KADULJE NA ISKORIŠTENJE I
OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA BILJKE *CAMELINA SATIVA***

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambenu tehnologiju
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 u akademskoj godini 2017./2018. održanoj 28. svibnja 2018.
Mentor: prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Komentor: izv. prof. dr. sc. *Maja Molnar*
Pomoć pri izradi: *Daniela Paulik*, tehnički suradnik

UTJECAJ PREŠANJA I EKSTRAKTA KADULJE NA ISKORIŠTENJE I OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA BILJKE *CAMELINA SATIVA* *Maja Galović, 418-DI*

Sažetak:

Cilj ovog rada odnosio se na ispitivanje utjecaja procesnih parametara prešanja (frekvencije elektromotora, temperature grijača glave preše i veličine nastavka za izlaz pogače) sjemenki *Camelina sativa* na iskorištenje hladno prešanog ulja. Proces prešanja proveden je na laboratorijskoj kontinuiranoj pužnoj preši. Na proizvedenom ulju ispitan je utjecaj dodatka prirodnog antioksidansa ekstrakta kadulje (0,1%, 0,2% i 0,3%) na promjenu oksidacijske stabilnosti ulja. Oksidacijska stabilnost ulja, sa i bez dodatka prirodnog antioksidansa, određena je primjenom Scaal Oven testa pri temperaturi 63°C i Rancimat testa pri 110°C. Na temelju dobivenih rezultata istraživanja, možemo zaključiti da procesni parametri prešanja utječu na iskorištenje ulja. Primjenom Oven testa, ekstrakt kadulje (0,3%), pripremljen s 96% EtOH na ultrazvuku kroz sat vremena, pokazao je najbolje djelovanje na usporavanje oksidacijskog kvarenja ulja.

Ključne riječi: *Camelina sativa* ulje, pužna preša, oksidacijska stabilnost, antioksidansi

Rad sadrži: 61 stranica
18 slika
14 tablica
0 priloga
44 literaturnih reference

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada:

- | | |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Stela Jokić</i> | Predsjednik |
| 2. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i> | član-mentor |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i> | član-komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Antun Jozinović</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 28. rujna 2018.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Technology of Oils and Fats

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII. held on May 28, 2018.

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

Co-mentor: *Maja Molnar*, PhD, associate prof.

Technical assistance: *Daniela Paulik*, technical associate

THE INFLUENCE OF PRESSING AND SAGE EXTRACTS ON THE YIELD AND OXIDATIVE STABILITY OF *CAMELINA SATIVA* OIL

Maja Galović, 418-DI

Summary: The purpose of this study was to research the influence of process parameters (frequency of electric motor, temperature of the head presses, and attachment for oil cake exit) of pressing on *Camelina sativa* oil. The pressing process was performed on a laboratory continuous screw press. Furthermore, we investigated the impact of adding natural antioxidant extracts (0,1%, 0,2%, 0,3%) to oil production. Oxidation stability of oils, without or with the addition of antioxidants, was determined using a Scaal Oven test at 63°C and a Rancimat test at 110°C. Based on the results of the research, we can conclude that the process parameters of the pressing affect the oil utilization. Using the Oven, the extracts (0.3%), prepared with 96% EtOH on ultrasound through one hour, showed the best effect on the slowdown of the oil degradation.

Key words: *Camelina sativa* oil, screw presses, oxidative stability, antioxidants

Thesis contains: 61 pages
18 figures
14 tables
0 supplements
44 References

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 28, 2018.

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

Veliko hvala prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na pomoći, stručnim savjetima te strpljenju i uloženom vremenu prilikom izrade ovog diplomskog rada.

Također, želim se zahvaliti tehničarki Danieli Paulik na pomoći i prenesenom znanju tijekom provođenja eksperimentalnog dijela.

Zahvaljujem svojoj obitelji, osobito roditeljima, na povjerenju u mene svih ovih godina te na neizmjernoj podršci i razumijevanju.

Zahvaljujem i svojim prijateljima koji su mi uvelike uljepšali studentske dane i bili uz mene u lijepim i manje lijepim trenucima.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA.....	4
2.1.1. <i>Camelina sativa</i> ulje.....	8
2.2. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA	10
2.2.1. Ljuštenje sjemenki	11
2.2.2. Mljevenje sjemenki.....	12
2.2.3. Proizvodnja sirovog ulja prešanjem.....	12
2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA.....	13
2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi	14
2.3.2. Kemijski procesi	15
2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA.....	17
2.4.1. Antioksidansi	17
2.4.2. Sinergisti	19
2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA.....	19
2.5.1. Kemijske metode	20
2.5.2. Fizikalne metode.....	21
2.5.3. Senzorske metode	21
2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST ULJA	22
2.6.1. Schaal Oven test	22
2.6.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method).....	23
2.6.3. Rancimat test.....	23
2.6.4. Test održivosti na 98 °C	24
3. EKSPERIMENTALNI DIO	25
3.1. ZADATAK	26
3.2. MATERIJALI I METODE	26
3.2.1. Materijali	26
3.2.2. Metode rada	28
3.2.2.1 Proizvodnja ulja primjenom kontinuirane pužne preše.....	28
3.2.2.2 Određivanje parametara kvalitete sjemenke <i>Camelina sativa</i>	31
3.2.2.3 Određivanje parametara kvalitete ulja.....	32
3.2.2.4 Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja.....	35
3.2.2.5 Određivanje antioksidacijske aktivnosti ekstrakta kadulje.....	38
4. REZULTATI.....	43
5. RASPRAVA.....	49
6. ZAKLJUČCI	54
7. LITERATURA	57

Popis oznaka, kratica i simbola

AA – antioksidacijska aktivnost

Abr – anisidinski broj

AI – antioksidacijski indeks

BHA – butil hidroksianisol

BHT – butil hidroksitoluen

DPPH• - 2,2-difenil-1-pikrihidrazil radikal

EMK – esencijalne masne kiseline

KI – kalijev jodid

KOH – kalijev hidroksid

MK – masne kiseline

NaOH – natrijev hidroksid

Na₂S₂O₃ – natrijev tiosulfat

NMR – nuklearna magnetska rezonanca

NN – netopljive nečistoće

Pbr – peroksidni broj

PTF – Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

R• - slobodni radikal masne kiseline

RH – nezasićene masne kiseline

ROO• – slobodni radikal peroksida

ROOH - hidroperoksid

SMK – slobodne masne kiseline

1. UVOD

Camelina sativa L. (podlanak, bolji ili divlji lan, njemački sezam ili sibirsko uljno sjeme) je biljka uljarica koja je nekad bila smatrana samo korovom, a zadnjih godina bilježi veliki interes zbog visokokvalitetnog ulja, poznatog kao "zlatna kap", dobivenog preradom uljarice (Zubr, 1997; Abramović i Abram, 2005). Ulje podlanka je bogato polinezasićenim masnim kiselinama, prvenstveno omega-3 i omega-6 masnim kiselinama, a zbog njihovog idealnog omjera u ulju (3:1) brojna znanstvena istraživanja su pokazala da ima pozitivan utjecaj na kardiovaskularne i druge bolesti (Simopoulos, 2008).

Hladno prešanje kod proizvodnje biljnih ulja je postupak koji se provodi na kontinuiranoj pužnoj preši, bez zagrijavanja i korištenja organskih otapala. Ovim načinom proizvodnje ulje zadržava sve bitne komponente poput esencijalnih masnih kiselina, flavonoida i fenola, tokoferola pa je dobiveno ulje visoke kvalitete (Teh i Birch, 2013.). Nakon hladnog prešanja, dobiveno sirovo ulje se sedimentira prirodnim putem te filtrira i sprema u tamne boce.

Dobivena biljna ulja su sklona nepoželjnim promjenama koje uzrokuju kvarenje ulja i stoga imaju ograničeni rok trajanja. Oksidacijsko kvarenje je najučestalije, a karakterizira ga oksidacija ugljikovodičnog lanca masne kiseline prilikom čega nastaju štetni produkti oksidacije: peroksidi, hidroperoksidi, aldehidi, ketoni, alkoholi. Od iznimne je važnosti poznavanje oksidacijske stabilnosti ili održivosti ulja jer predstavlja vremenski period kroz koji je moguće sačuvati ulje od autooksidacije i omogućuje utvrđivanje roka trajanja za pojedino biljno ulje. Održivost biljnog ulja moguće je poboljšati dodatkom prirodnih i/ili sintetskih antioksidanasa, tvari koje značajno usporavaju oksidacijsko kvarenje ulja.

Predmet istraživanja ovog rada bio je ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja i dodatka ekstrakta kadulje na oksidacijsku stabilnost ulja biljke *Camelina sativa*. Procesni parametri koji su ispitivani su: frekvencija elektromotora, nastavak za izlaz pogače i temperatura zagrijavanja glave preše. Schaal Oven testom pri 63°C te Rancimat testom pri 110°C određena je oksidacijska stabilnost ulja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

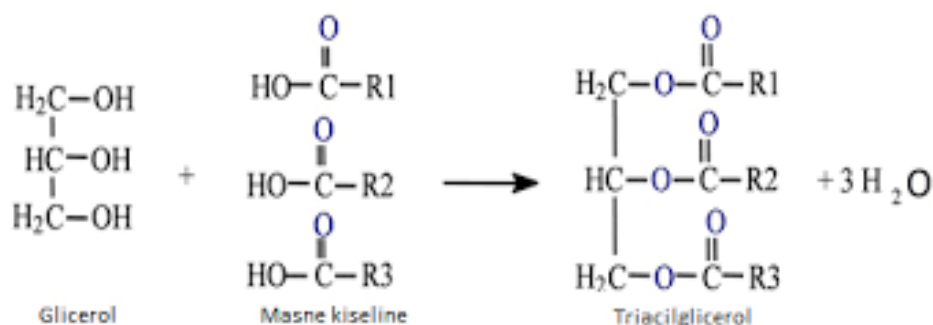
Masti i ulja su organske tvari biljnog ili animalnog podrijetla, a sadrže estere trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina te se nazivaju trigliceridi ili triacilgliceroli (Marcone, 2006.). Pripadaju skupini lipida, organskih tvari koje karakterizira netopljivost u vodi i topljivost u organskim otapalima. Biljna ulja sadrže veći postotak nezasićenih masnih kiselina i stoga su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju. S druge strane, masti su krutine jer u svom sastavu imaju velik udio zasićenih masnih kiselina. Biljna ulja se dobivaju iz sjemenki ili plodova biljke te uz triacilglicerole i masne kiseline sadrže određeni udio negliceridnih sastojaka kao što su fosfolipidi, liposulubilni vitamini, voskovi, pigmenti, steroli, tragovi metala (Mandić, 2007.). Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41/12) jestiva biljna ulja se prema tehnološkom postupku proizvodnje dijele na rafinirana, hladno prešana i nerafinirana ulja.

S obzirom na sastav i strukturu lipidi se dijele na:

- jednostavne lipide;
- složene lipide;
- derivate lipida.

Jednostavni lipidi

Grupa jednostavnih lipida je najčešća u prirodi, a njoj pripadaju triacilgliceroli (trigliceridi) masnih kiselina (**Slika 1**). Osim toga, ovoj grupi pripadaju i voskovi koji su definirani kao esteri viših masnih alkohola i viših masnih kiselina (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).



Slika 1 Primjer nastajanja molekule triacilglicerola

Složeni lipidi

Složeni lipidi uključuju fosfolipide, aminolipide, glukolipide, sulfolipide te negliceridne sastojke prirodnih ulja. Negliceridni sastojci biljnih ulja su karotenoidi, liposulubilni vitamini, fosfolipidi, tokoferoli, steroli, voskovi, pigmenti, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi, ketoni te tragovi metala. Tokoferoli, fosfolipidi i steroli su sastavnice prisutne u svim uljima i mastima. Neki od ovih sastojaka (liposulubilni vitamini, karotenoidi, tokoferoli) su karakteristični za pojedina ulja i pokazuju pozitivan učinak, dok prisutnost voskova i tragova metala uzrokuje neželjene pojave i smanjuje kakvoću ulja. Njihov udio u prirodnim uljima i mastima je 1-2 %, a iznimka su biljna ulja od soje i pamuka s udjelom od 3,5-4% (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Derivati lipida

U grupu derivata lipida spadaju masne kiseline, vitamin E, vitamin D, alkoholi (steroli), ugljikovodici (karoteni). Masne kiseline imaju velik utjecaj na fizikalna i kemijska svojstva ulja jer predstavljaju reaktivni dio molekule triacilglicerola (Swern, 1972.). Ovisno o broju ugljikovih atoma u molekuli, broju i položaju dvostrukih veza te zasićenosti atoma ugljika, masne kiseline se razvrstavaju u nekoliko grupa (Sadadinović, 2008.). Prema broju ugljikovih atoma masne kiseline razlikujemo:

- kratkolančane masne kiseline (do 8 ugljikovih atoma);
- masne kiseline srednjeg lanca (8 do 12 ugljikovih atoma);
- dugolančane masne kiseline (iznad 12 ugljikovih atoma) (Swern, 1972.).

Obzirom na stupanj zasićenosti, masne kiseline mogu biti:

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

Zasićene masne kiseline, opće formule $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, su masne kiseline koje u svom sastavu nemaju dvostruke veze između atoma ugljika. Imaju jednostavan zasićeni (parafinski) lanac, ravnog oblika, u kojem je svaki atom ugljika zasićen atomom vodika. Zbog ravnog oblika lanca mogu se gusto slagati, a rezultat toga slaganja je kruto agregatno stanje masti pri sobnoj temperaturi.

Bitno je istaknuti da su zasićene masne kiseline slabo reaktivne za reakciju na lancu. U prirodnim uljima i mastima su najčešće zastupljene sa 4-22 atoma ugljika (**Tablica 1**) u svom sastavu, dok se sa više atoma ugljika (24 i 26) pojavljuju u voskovima. Zasićene masne kiseline s neparnim brojem atoma ugljika prisutne su u tragovima (Sadadinović, 2008.).

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline i njihove karakteristike (Moslavac, 2013.).

NAZIVI	BROJ C ATOMA	FORMULA	MOLEKULARNA TEŽINA	TALIŠTE °C	NALAZIŠTE
Maslačna	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	88,10	-7,9	Maslac
Kaprnska	6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	116,15	-3,4	Maslac, masti kokosa, palme i slično
Kaprilna	8	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	144,21	16,7	Maslac, palme, sjeme uljarica, masti kokosa
Kaprina	10	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	172,26	31,6	Maslac, masti kokosa i kitova
Laurinska	12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	200,31	44,2	Sjemenke iz porodice lovora, mliječna mast
Miristinska	14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	228,36	53,9	Većina životinjskih i biljnih masti
Palmitinska	16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	256,42	63,1	Sve životinjske i biljne masti
Stearinska	18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	284,47	69,6	Svugdje gdje je prisutna palmitinska
Arhidonska	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	312,52	75,3	Arašidovo i riblja ulja
Behenska	22	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	340,57	79,9	Arašidovo, repičino i gorušičino ulje
Lignocernska	24	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	368,62	84,2	Arašidovo ulje i životinjske masti
Cerotinska	26	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$	396,68	87,7	Pčelinji i drugi voskovi

Nezasićene masne kiseline su masne kiseline koje u svom sastavu sadržavaju dvije ili više dvostrukih veza.

Prema broju dvostrukih veza u lancu razlikujemo:

- mononezasićene masne kiseline (jedna dvostruka veza);
- polinezasićene masne kiseline (više dvostrukih veza).

Zbog jedne dvostruke veze u svom sastavu, mononezasićene masne kiseline su manje reaktivne u odnosu na polinezasićene s većim brojem dvostrukih veza (Rac, 1964.; Rade i

Škevin, 2004.). Najznačajnija mononezasićena masna kiselina je oleinska, dok su od polinezasićenih značajne linolna, linolenska, eleostearinska i arahidonska (**Tablica 2**).

Tablica 2 Najvažnije polinezasićene masne kiseline i njihove karakteristike (Moslavac, 2013.)

NAZIVI	BROJ C ATOMA	BROJ DVOSTRUKIH VEZA	FORMULA	MOLEKULARNA TEŽINA	TALIŠTE °C	NALAZIŠTE
Linolna	18	2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	280,44	-5	U većini biljnih i životinjskih masti
Linolenska	18	3	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	278,42	-10	Ulje lana, soje, oraha i konoplje
Eleostearinska	18	3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	278,42	48	Tungovo ulje
Arahidonska	20	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	304,46	-49,5	Masti mozga, jetre i drugih organa
Klupanodonska	22	5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	330,48	-78	Ulja riba

Masne kiseline koje organizam ne može sam sintetizirati, već ih je potrebno unijeti hranom nazivaju se esencijalne masne kiseline (EMK). Vrlo su bitne za organizam jer su bogat izvor energije, sastavnica lipoproteina krvne plazme, gradivni elementi fosfolipida te prekursori važnih kemijskih spojeva. Pripadaju skupini polinezasićenih masnih kiselina (npr. linolna i α -linolenska) sa 18, 20 i 22 atoma ugljika sa 2 do 6 dvostrukih veza. S obzirom na položaj dvostruke veze od metilnog kraja lanca razlikujemo omega-3 (ω -3) i omega-6 (ω -6) skupinu. Najvažniji predstavnik omega-3 skupine je α -linolenska masna kiselina i njezini derivati eikosapentaenska kiselina (EPA), dokosapentaenska kiselina (DPA) i dokosaheksaenska kiselina (DHA). Navedene kiseline najčešće sadrži riblje ulje te uljarice kao što su lan, uljana repica te *Camelina sativa* (Volmut, 2010.).

2.1.1. *Camelina sativa* ulje

Camelina sativa L. je jednogodišnja biljka uljarica iz porodice *Brassicaceae* (krstašice), poznata i kao divlji lan, podlanak, lažni lan, zlatni užitak, njemački sezam ili sibirsko uljno sjeme. Ova uljarica je kultivirana prije više od 2000 godina u Poljskoj i Skandinaviji, ali nakon 2. Svjetskog rata u velikim razmjerima je smanjen njen uzgoj. Biljka je izuzetno otporna na niske temperature, dobro podnosi redukciju vode te joj nije potrebno posebno tlo za rast (Ratusz i sur., 2016.). Drobljenjem i prešanjem ove uljarice, prema nekim istraživačima, dobiva se visokokvalitetno ulje sa udjelom ulja od 30-40 % (Abramović i Abram, 2005). Interes za ulje podlanka proizlazi iz više razloga:

- izuzetnog je okusa i mirisa;
- boje;
- kemijskog sastava;
- dugog perioda trajnosti (Imbrea, 2011.).

Hladno prešano ulje podlanka je bogato polinezasićenim masnim kiselinama (40-60 %), od toga najveći je udio omega-3 masne kiseline (α -linolenska) koja čini 35-40 % i omega-6 masne kiseline (linolne) s udjelom od 15-18 % (Ratusz i sur., 2016.). Udio pojedinih masnih kiselina zastupljenih u ulju podlanka navedeni su u **Tablici 3.** Zbog idealnog omjera omega-3 i omega-6 masnih kiselina (3:1), ulje *Cameline sative* je uz konopljinu ulje (*Cannabis sativa*) poznato kao biljno ulje "broj 1" u zaštiti kardiovaskularnog sustava i drugih oboljenja (Zubr, 1997; Abramović i Abram, 2005; Imbrea i sur., 2011). Simopoulos (2008.) je istraživao djelovanje omega-3 masnih kiselina (EPA i DHA) na zdravstveno stanje eskima koji su se isključivo hranili ribom i morskim plodovima i došao do zaključka kako je značajno reduciran broj srčanih oboljenja, astme, multiple skleroze te dijabetesa.

Tablica 3 Sastav masnih kiselina *Camelina sativa* ulja prema različitim istraživačima (Abramović i Abram, 2005.).

MASNE KISELINE	SADRŽAJ MASNIH KISELINA (%)			
	Abramović i sur. (2005)	Budin i sur. (1995)	Eidhin i sur. (2003)	Zubr i sur. (2002)
PALMITINSKA (16:0)	6,43±0,01	5,7-8,4	5,5	5,3-5,6
STEARINSKA (18:0)	2,57±0,01	1,4-3,5	2,3	2,3-2,7
OLEINSKA (18:1)	17,40±0,30	14,2-3,5	14,9	14,0-16,9
LINOLNA (18:2) $\omega=6$	16,90±0,10	19,0-24,0	15,8	13,5-16,5
α-LINOLEINSKA (18:3) $\omega=3$	35,20±0,40	27,1-34,7	38,9	34,9-39,7
ARAHIDONSKA (20:0)	1,24±0,05	1,1	0,4	1,2-1,5
EIKOSADIENSKA (20:2)	2,12±0,02	2,0	2,1	1,7-2,0
EIKOSATRIENSKA (20:3)	1,61±0,03	1,5	1,3	1,3-1,7
ERUKA (22:1)	1,62±0,03	0,0-4,0	2,4	2,6-3,0

Ulje podlanka ima specifičanu aromu kojoj doprinose octena, maslačna i izovalerinska kiselina u kombinaciji sa aldehydima, ketonima i ostalim aromatskim spojevima. Negliceridni sastojci tokoferoli i steroli su odgovorni za oksidacijsku stabilnost ulja tj. značajno povećavaju njegovu trajnost. Najveći utjecaj se pripisuje tokoferolima jer djeluju kao prirodni antioksidansi te na taj način usporavaju ili inhibiraju autooksidaciju nezasićenih masnih kiselina. Najznačajniji tokoferoli i steroli u biljnom ulju *Cameline sativa* istaknuti su u **Tablici 4** (Zubr, 1997; Szterk i sur., 2010; Paterson, 1989).

Tablica 4 Udio tokoferola i sterola u *Camelina sativa* ulju

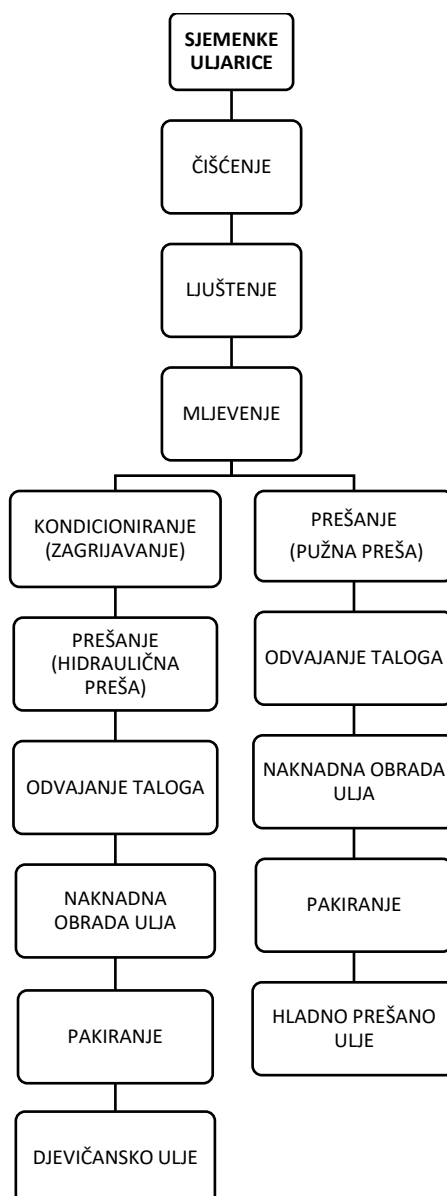
TOKOFEROLI U CAMELINA SATIVA ULJU (mg/kg)		STEROLI U CAMELINA SATIVA ULJU (mg/kg)	
α -tokoferol	28,07	Sitosterol	1884
β -tokoferol	-	Kampesterol	893
γ -tokoferol	742	Brasikasterol	133
δ -tokoferol	20,47	Stigmasterol	103
Plastokromanol	14,94	Kolesterol	188

Zbog bogatog kemijskog sastava i niza pozitivnih učinaka, ulje *Cameline sative* našlo je široku primjenu ne samo kao dodatak prehrani već i u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Također, primjenjuje se u kemijskoj industriji za proizvodnju biodizela (Ratusz i sur., 2016.). Kao nusprodukt prešanja sjemenki *Cameline sative* dobiva se pogača koja sadrži 10-14% zaostalog ulja i oko 40% proteina te se može iskoristiti u proizvodnji krmiva za stoku i perad, a njihovi proizvodi (jaja, mliječni proizvodi, goveđe meso) obogaćeni su omega-3 masnim kiselinama (Pilgeram i sur., 2007.)

2.2. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz određenih sirovina, prešanjem, na temperaturi do 50°C. Kako bi se dobilo finalno ulje dobre kvalitete, sirovo ulje može se pročistiti pranjem vodom, filtriranjem, centrifugiranjem, taloženjem (sedimentacijom) i dekantiranjem (Pravilnik o jestivim uljima i mastima NN 41/12).

U procesu proizvodnje hladno prešanih i nerafiniranih biljnih ulja osnovni preduvjet je osigurati sirovinu odgovarajuće kvalitete. Prije samog postupka izdvajanja ulja, sirovina se podvrgava operacijama čišćenja, sušenja, ljuštenja i mljevenja kako bi izdvajanje ulja bilo jednostavnije te kako bi se dobila što bolja kvaliteta ulja. Osim toga, na prešanje može ići i sirovina bez ljuštenja i mljevenja, a to ovisi o vrsti sirovine. Kod proizvodnje hladno prešanog ulja *Cameline sative*, prešanje se provodi bez prethodnog mljevenja jer su sjemenke izuzetno sitne pa dodatno mljevenje i usitnjavanje nije potrebno. Tehnološki proces proizvodnje hladno prešanih i nerafiniranih ulja prikazan je na **Slici 2**.



Slika 2 Blok shema proizvodnje djevičanskog i hladno prešanog biljnog ulja (Dimić i sur., 2002.)

2.2.1. Ljuštenje sjemenki

Nakon postupka čišćenja i sušenja sjemenki uljarica potrebno je provesti tehnološki postupak ljuštenja. Proces ljuštenja se temelji na uklanjanju tvrde ljuske sa sjemenki, a na koji način će se provesti ovisi o čvrstoći ljuske i njoj priljubljenosti na jezgru sjemenke. Ovaj postupak se provodi zbog poboljšanja kvalitete ulja i pogače te porasta kapaciteta i iskorištenja preše. Ovisno o vrsti uljarice primjenjuju se različite ljuštilice, a to su: mlin čekićar za orahe, valjci, rotirajuće ploče, ljuštenje sjemenki primjenom “pneumatskog udara”

(Deublein, 1988.). Razdvajanje ljuske od jezgre sjemenke provodi se upotrebom sita, strujanjem zraka ili električnog polja (Dimić, 2005.)

2.2.2. Mljevenje sjemenki

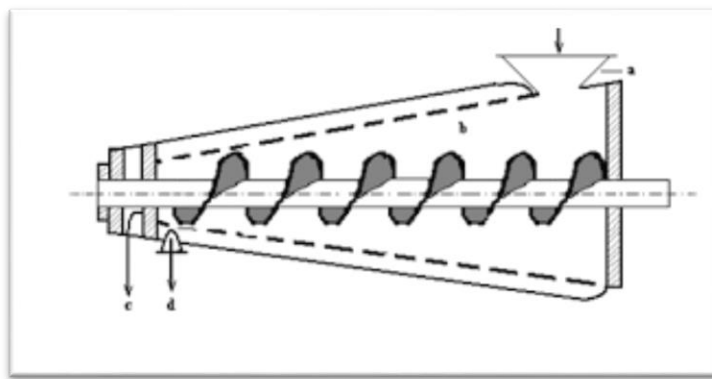
Mljevenje je postupak kojim se omogućuje dobivanje odgovarajuće granulacije usitnjenih sjemenki određenih uljarica, što u konačnici utječe na efikasnost prešanja. Mljeti se mogu cijele sjemenke sa ljuskom, samo jezgra ili kombinacijom (Moslavac, 2013.). Cilj mljevenja je razaranje stanice s ciljem lakšeg izdvajanja ulja iz sjemenki. Mlinovi na valjke su najčešće korišteni uređaji za mljevenje sjemenki uljarica.

2.2.3. Proizvodnja sirovog ulja prešanjem

Prešanje je tehnološki proces tijekom kojeg se iz prethodno pripremljene sirovine, primjenom visokih tlakova, izdvaja ulje (Moslavac, 2013.). Proces hladnog prešanja sastoji se od dvije osnovne faze: pripreme sirovine za izdvajanje ulja i izdvajanje ulja mehaničkim putem. Prva faza uključuje čišćenje, ljuštenje i mljevenje sirovine, međutim, ljuštenje i mljevenje nije nužno, a to ovisi od vrste sirovine (Dimić, 2005.).

Druga faza se temelji na izdvajanju ulja mehaničkim putem primjenom preša. Najčešće se primjenjuju kontinuirane pužne preše, a mogu se koristiti kao predpreše i završne preše. Pužne preše koje se koriste za predprešanje imaju stupanj djelovanja 50-60% u odnosu na sadržaj ulja, dok za završno prešanje stupanj djelovanja preše iznosi 80-90% (Dimić i Turkulov, 2000.).

Osnovni elementi kontinuiranih pužnih preša (**Slika 3**) su vodoravni puž, koš oko puža, uređaj za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače, zupčani prijenosnik te kućište preše. Princip rada pužne preše je taj da pužnica potiskuje sjemenje iz većeg zatvorenog prostora u manji suženi zatvoreni prostor prilikom čega dolazi do sabijanja materijala, povećanja tlaka i na kraju cijedenja sirovog ulja. Reguliranje debljine pogače u preši se postiže konstrukcijom izlaznog konusa, a preko različite debljine pogače regulira se radni tlak u preši (Rac, 1964.).



Slika 3 Shema kontinuirane pužne preše (Rac, 1964.)

a – ulaz materijala, b – perforirano konusno kućište s pužnom osovinom, c – izlaz isprešane pogače, d – izlaz ulja

Nakon postupka hladnog prešanja, dobiveno sirovo ulje sadrži određeni udio netopljivih nečistoća koje mogu negativno utjecati na organoleptička svojstva te kvalitetu ulja, stoga ih je potrebno ukloniti.

Odvajanje nečistoće moguće je izvesti na nekoliko načina: sedimentacijom ili taloženjem, filtracijom, filtracijskim centrifugama te centrifugalnim separatorima.

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Jestiva biljna ulja su prehrambeni proizvodi koji su podložni određenim kemijskim, enzimskim te mikrobiološkim procesima koji naposljetku dovode do kvarenja ulja. Koji proces kvarenja će nastupiti ovisi o vrsti ulja, načinu i uvjetima skladištenja ulja. Kvarenjem ulja dolazi do stvaranja štetnih razgradnih produkata koji utječu na organoleptička svojstva ulja, a neki od produkata (peroksidi, polimeri) štetno utječu na zdravlje ljudi. Također, kvarenjem se mijenja prehrambena vrijednost biljnih ulja što u konačnici dovodi do gubitka biološki aktivnih tvari poput vitamina i EMK (Oštrić-Matijašević I Turkulov, 1980.).

Kako bi očuvali ulje od kvarenja tijekom proizvodnje i skladištenja potrebno je poznavati uzrok kvarenja, mehanizam nastanka te način sprječavanja procesa kvarenja (Čorbo, 2008.).

Ovisno o uzroku kvarenja biljnih ulja razlikuju se:

- Enzimski i mikrobiološki procesi kvarenja (hidrolitička razgradnja i β -ketooksidacija);
- Kemijski procesi kvarenja (autooksidacija, termooksidativne promjene i reverzija).

2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Enzimski procesi kvarenja karakteristični su za sirovinu jer sjeme disanjem oslobađa toplinu što u konačnici dovodi do povećanja temperature i aktivnosti autohtonih enzima pa je potrebno pravilno skladištiti sirovine. S druge strane, mikrobiološki procesi kvarenja su karakteristični za neke vrste ulja i masti te proizvode koji sadrže masti u većim količinama. Osim prisustva enzima i mikroorganizama, procesu kvarenja pogoduje povoljna sredina za njihov rast i razvitak (prisustvo vode, temperatura, pH i dr.).

U enzimске i mikrobiološke procese kvarenja spadaju hidrolitička razgradnja i β -ketooksidacija (Moslavac, 2013.).

Hidrolitička razgradnja

Tijekom procesa hidrolitičke razgradnje, uz prisustvo vode i enzima lipaze dolazi do cijepanja esterske veze između masne kiseline i alkohola glicerola u molekuli triacilglicerola te nastaju slobodne masne kiseline (SMK). SMK dovode do porasta kiselosti ulja, a ovisno o količini oslobođenih masnih kiselina nastaju monogliceridi, digliceridi i alkohol glicerol. Do procesa hidrolitičke razgradnje najčešće dolazi u samoj sirovini te u proizvodima koji sadrže veći udio vode. Proces kvarenja se ubrzava pri višim temperaturama, a na temperaturama višim od 80°C i nižim od -20°C dolazi do inaktivacije enzima lipaze čime prestaje hidrolitička razgradnja biljnog ulja (Rade i sur., 2001.).

Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena u ulju prati se određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina (SMK), a dozvoljeni udio SMK u hladno prešanim i nerafiniranim uljima je max. 2% (izraženih kao oleinska kiselina), dok je u rafiniranim uljima dozvoljeno max. 0,3% izraženih kao oleinska kiselina (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

β -ketooksidacija

Reakcija se temelji na djelovanju mikroorganizama (najčešće plijesni roda *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*), uz prisutnost kisika, na zasićene masne kiseline (uglavnom kraćeg ili srednjeg lanca), odnosno na metilnu skupinu u β -položaju prema karboksilnoj skupini. Posljedica ove reakcije je stvaranje β -keto kiselina kao primarnog produkta i metil ketona kao sekundarnih produkata. Nastali metil ketoni daju neugodan okus i miris biljnom ulju, a zbog djelovanja nekih mikroorganizama može doći i do

obojenja ulja jer stvaraju pigmente. Reakciju β -ketooksidacije moguće je spriječiti, a to se postiže tako da se mikroorganizmima onemoguće povoljni uvjeti za razvoj npr. pasterizacijom, sterilizacijom, dodatkom određenih aditiva i dr.

2.3.2. Kemijski procesi

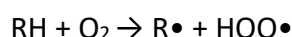
Autooksidacija

Autooksidacija je proces kvarenja koji nastaje djelovanjem kisika iz zraka na dvostruke veze nezasićene masne kiseline ulja ili masti prilikom čega dolazi do stvaranja slobodnih radikala. Brzina autooksidacije ovisi o udjelu višestruko nezasićenih masnih kiselina, sastavu ulja, uvjetima čuvanja te o prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju reakciju kvarenja. Proces autooksidacije ubrzavaju prooksidansi, a to su: prisutnost kisika, svjetlost, povišena temperatura, ioni metala te SMK, pigmenti i sekundarni produkti oksidacije. S druge strane, antioksidansi i sinergisti usporavaju proces oksidacijskog kvarenja. Također, niže temperature, odsutnost kisika, svjetla i iona metala usporavaju navedenu reakciju.

Autooksidacija masti je lančana reakcija stvaranja slobodnih radikala, a odvija se u tri faze:

Faza-inicijacija, početak reakcije

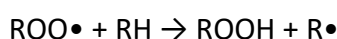
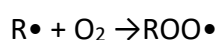
Prva faza započinje tako što se kisik iz zraka veže na dvostruku vezu nezasićene masne kiseline (RH) masti, nastaju slobodni radikali ($R\bullet$) i izdvaja se vodik.



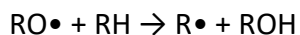
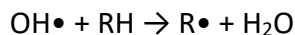
Faza-propagacija, tijek reakcije

U drugoj fazi, nastali slobodni radikali masnih kiselina ($R\bullet$) reagiraju sa kisikom stvarajući peroksi-radikale ($ROO\bullet$), koji oduzimaju vodik iz molekula masnih kiselina i oslobađaju nove radikale masnih kiselina ($R\bullet$) te nastaju hidroperoksidi ($ROOH$). Hidroperoksidi su primarni produkti oksidacije koji su vrlo nestabilni te se dalje razgrađuju na slobodne radikale. Reaktivni slobodni radikali ($RO\bullet$, $ROO\bullet$) djeluju na nove lance masnih kiselina i stvaraju hidroperoksidi i slobodne radikale (započinje lančana reakcija).

Stvaranje hidroperoksida:



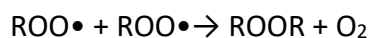
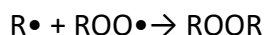
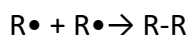
Razgradnja hidroperoksida:



Razgradnjom hidroperoksida nastaju sekundarni produkti oksidacije: aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i dr., i već u vrlo malim količinama ulju daju neugodan (užegli) miris i okus (Shahidi, 1997.).

Faza-terminacija, završetak reakcije

U fazi terminacije, nastali slobodni radikali međusobno reagiraju te stvaraju inaktivne i stabilne polimere (R-R, ROOR) i time završava proces autooksidacije (Koprivnjak, 2006.).



Termooksidacijske promjene masti

Zagrijavanjem ulja pri visokim temperaturama (iznad 150°C), uz prisutnost zraka i pare nastaju štetni oksidacijski produkti (hidroperoksidi i njihovi razgradni produkti) te produkti termooksidacije koji uključuju cikličke MK, polimere triacilglicerola, dimere i polimere MK te druge hlapljive ili nehlapljive spojeve. Nazasićene masne kiseline, osobito linolna, su vrlo podložne stvaranju ovih polimera stoga se ulja koja sadrže veći udio istih nakon 10-20 sati zagrijavanja pri temperaturama 170-180°C ne smiju više koristiti za prženje (Chang i sur., 1978.). Stupanj termooksidacijskih promjena ovisi o vrsti ulja, vremenu i temperaturi zagrijavanja. Određivanjem jednog broja i složenim kromatografskim metodama dobiva se informacija o termooksidacijskim promjenama ulja.

Reverzija

Reverziju definira pojava neugodnog mirisa na sirovinu ili ribu, a uzrokuju je razgradni produkti nekih negliceridnih sastojaka ili linolenske kiseline. Tipična je za sojino i repičino ulje. Ovaj proces je moguće ublažiti pravilnim odabirom uvjeta procesa rafinacije uz dodatak limunske kiseline i djelomičnom hidrogenacijom s ciljem uklanjanja linolenske kiseline (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

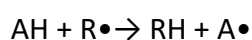
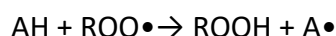
Budući da su različita biljna ulja manje ili više podložna procesu oksidacijskog kvarenja (autooksidaciji), potrebno je te procese usporiti ili stabilizirati. Održivost biljnih ulja i masti može se definirati kao vrijeme kroz koje se mogu očuvati od autooksidacije. Reakciju autooksidacije usporava: primjena nižih temperatura, pakiranje biljnog ulja u odgovarajuću ambalažu, uklanjanje kisika te dodavanje određene količine antioksidanasa i sinergista koji znatno produžuju održivost ulja (Ergović Ravančić, 2017.).

2.4.1. Antioksidansi

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja može se poboljšati dodatkom antioksidanasa, a definiraju se kao tvari koje inhibiraju i usporavaju oksidacijsko kvarenje jestivih ulja te produljuju vrijeme stabilnosti ulja od 3 do 6 puta (Yanishlieva i Marinova, 2001.).

Mehanizam djelovanja antioksidanasa bazira se na dvije reakcije:

Antioksidans (AH) donira atom vodika (H), koji se veže na slobodni radikal peroksida ($\text{ROO}\bullet$) ili radikal masne kiseline ($\text{R}\bullet$).



Dobiveni slobodni radikal antioksidansa ($\text{A}\bullet$) se veže na slobodni radikal ($\text{ROO}\bullet$ ili $\text{R}\bullet$).



Navedene reakcije produžuju oksidacijsku stabilnost biljnih ulja jer nastaju stabilne molekule koje prekidaju lančanu reakciju oksidacije. Međutim, ukoliko je u uljima i mastima već

započela autooksidacija, tj. već su nastali hidroperoksidi, dodatak antioksidansa neće imati značajnog učinka. Također, izuzetno je važno da vrijednost peroksidnog broja bude niska (<1). Antioksidans inhibira autooksidaciju dok se ne potroši, a koliko će trajati ovisi o vrsti i koncentraciji antioksidansa te o vrsti jestivog ulja i načinu njegova čuvanja.

Utjecaj antioksidansa, odnosno njegovo antioksidacijsko djelovanje izražava se antioksidacijskim indeksom (AI). AI je pokazatelj povećanja oksidacijske stabilnosti masti ili ulja u koje je dodan antioksidans, a izražava se formulom:

$$\text{Antioksidacijski indeks (AI)} = \frac{S_2}{S_1}$$

gdje je:

S_2 - održivost masti s dodanim antioksidansom;

S_1 – održivost masti bez dodanog antioksidansa (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Danas je poznat veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste za povećanje oksidacijske stabilnosti ulja. Najčešće korišteni sintetski antioksidansi su butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT) te alkil esteru galne kiseline (propil galat, butil galat, oktil galat i dodecil galat). Maksimalno dopušteni udio u uljima za BHA je do 0,02%, a za ostale sintetske antioksidanse do 0,01%. Sintetski antioksidansi su manje učinkovitiji u procesu smanjenja oksidacijskog kvarenja nego oni prirodnog tipa, stoga se predlaže upotreba jestivih biljaka kao izvor prirodnog antioksidansa (Inatani i sur., 2014.; Özcan i Arslan, 2011.).

Najzačajniji prirodni antioksidansi su tokoferoli, karotenoidi, fenolne kiseline, flavonoidi, ali i ekstrakti biljaka poput kadulje, zelenog čaja, ružmarina, nara i dr. Na temelju provedenih istraživanja o antioksidacijskom djelovanju nekih vrsta biljki i njihovih derivata, kao što su ekstrakti i eterična ulja, dokazala su da prirodni antioksidansi, uz pravilu primjenu, doprinose zdravlju organizma. Jedan od izvora prirodnih antioksidansa je biljka kadulja. Kadulja (*Salvia officinalis* L.) je poznata kao jedna od najznačajnijih aromatskih biljki. Poznato je da ekstrakti kadulje sadrže bogat izvor sekundarnih metabolita, kao što su polifenoli i terpeni. Fenolni spojevi (flavonoidi, lignani i stilbeni) i fenolne kiseline su u najvišoj mjeri nositelji antioksidacijskih svojstava kadulje. Jasicka-Misiak i sur. (2018.) izvještavaju da fenolne kiseline čine 55-60% od ukupnih fenolnih spojeva u uzorku kadulje. Glavni antioksidacijski učinak u kadulji imaju derivati kafeinske kiseline (ružmarinska kiselina) te flavoni (luteolin-3-

glikozid). Osim ružmarinske kiseline, karnosolna kiselina i njeni derivati, su važni antioksidansi. Karnosol i karnosolna kiselina dobro vežu slobodne radikale peroksida te su bolji inhibitori lipidne peroksidacije u mikrosomalnim i liposomalnim sustavima nego sintetski antioksidansi (propil galat). Osim antioksidacijskog svojstva, značajan je i antimikrobni, antialergijski, antitumorni i antibiotski učinak (Dent i sur., 2017.; Aruoma i sur., 1992.).

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje jer nemaju sposobnost izravnog prevođenja slobodnih radikala u stabilne molekule. Njihova uloga je da uz neki prisutni antioksidans poboljšavaju (produljuju) njegovo djelovanje te na taj način usporavaju ili inhibiraju oksidacijsko kvarenje ulja. Bitno je naglasiti da treba poznavati koji sinergist ima sinergističko djelovanje prema kojem antioksidansu. Najčešće korišteni sinergisti su limunska, askorbinska i octena kiselina te lecitin.

Mehanizam djelovanja sinergista je sljedeći:

- vežu ione metala u komplekse te ih inaktiviraju i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje;
- doniraju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i na taj način mu produžuju vijek trajanja;
- spajaju se s radikalom antioksidansa i tako sprječavaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Koprivnjak, 2006.).

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Za određivanje stupnja oksidacije biljnih ulja koristi se više različitih metoda kako bi se dobila kompletna informacija o stupnju oksidacijskih promjena ulja (Crapiste i sur., 1999).

Metode koje se koriste dijele se na tri grupe:

- kemijske metode;
- fizikalne metode;
- senzorske metode.

2.5.1. Kemijske metode

Pod kemijske metode spadaju one metode kojima se određuju primarni i sekundarni produkti oksidacije masti i ulja.

Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj je jedan od pokazatelja oksidacijskog stanja biljnih ulja, a predstavlja indikator svježine, odnosno užeglosti neke masti ili ulja. Neadekvatnim skladištenjem masti ili ulja, pod utjecajem prooksidansa kao što su: kisik iz zraka, svjetlost, toplina, tragovi metala, dolazi do vezanja kisika na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina te nastajanja primarnih produkata oksidacije, peroksida i hidroperoksida (Dimić i Turkulov, 2000.).

U praksi se najčešće primjenjuju jodometrijske metode Lea i Wheeler-a, a baziraju se na titracijskom određivanju joda, kojeg peroksidi oslobađaju iz kalij-jodida. Također, za određivanje Pbr, koristi se i kolorimetrijska metoda koja se zasniva na oksidaciji Fe (II) soli u Fe (III) soli te mjerenju inteziteta nastale boje (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.; Rade i sur., 2001.).

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41/12), maksimalno dopuštena vrijednost Pbr za hladno prešana i nerafinirana ulja je 7 mmol O₂/kg, dok je za biljna rafinirana ulja 5 mmol O₂/kg.

Anisidinski broj (Abr)

Razgradnjom primarnih produkata oksidacije, hidroperoksida, nastaju organski spojevi sa karbonilnom skupinom (aldehidi i ketoni) koji predstavljaju sekundarne produkte oksidacije. Nastali nehlapljivi karbonilni spojevi negativno utječu na kvalitetu ulja, odnosno na organoleptička svojstva i oksidacijsku stabilnost (održivost) biljnog ulja.

Anisidinskim brojem (Abr) se može izravno odrediti količina nastalih nehlapljivih karbonilnih spojeva. Određivanje Abr bazira se na reakciji viših nezasićenih aldehida (2,4-dienal i 2-enal) sa p-anisidinom u kiselom mediju uz nastanak Schiff-ove baze. Vrijednost Abr je pokazatelj oksidacijske stabilnosti biljnog ulja te što mu je manja vrijednost, ulje ima bolju održivost. Iako nije zakonski propisano, drži se da bi ulja dobre kvalitete trebala imati vrijednost Abr manju od 10 (Dimić i Turkulov, 2000.; Rade i sur., 2001.).

Totox broj (TB)

Ukupna oksidacijska vrijednost biljnih ulja (OV) ili Totox broj određuje se sumom peroksidnog i anisidinskog broja, a izračunava se prema formuli:

$$TB = 2 \text{ Pbr} + \text{Abr}$$

S obzirom da se pomoću Pbr-a dobije trenutno stanje o održivosti ulja, a preko Abr-a informacija o "oksidacijskoj prošlosti" biljnog ulja, TB je odličan pokazatelj oksidacijskog stanja i kvalitete ispitivanog ulja.

2.5.2. Fizikalne metode

U **Tablici 5** su prikazane fizikalne metode te ispitivani parametri za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000.).

Fizikalna metoda	Ispitivani parameter
UV-spektroskopija	Konjugirani dieni, trieni
IR-spektroskopija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi)
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehidi i sekundarni produkti
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

2.5.3. Senzorske metode

Sekundarni produkti oksidacije ulja i masti (aldehidi, ketoni) negativno utječu na kvalitetu ulja, uzrokuju neugodan miris i okus po užglosti koji se određuju senzorskim metodama. Organoleptičke metode su bitne za ispitivanje kvalitete biljnih ulja, odnosno stupnja oksidacije ulja, ali zbog subjektivnog i nedovoljno točnog određivanja teži se za primjenom bržih, točnijih i jednostavnijih metoda.

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST ULJA

Jestiva biljna ulja su sklona nepoželjnim promjenama koje uzrokuju kvarenje ulja i stoga imaju ograničeni rok trajanja. Oksidacijsko kvarenje je najučestalije, a karakterizira ga oksidacija ugljikovodičnog lanca masne kiseline. Brzina autooksidacije ovisi o nizu čimbenika kao što su: sastav biljnog ulja, uvjeti pod kojima se skladišti ulje, prisutnost tvari koje ubrzavaju reakciju, antioksidansi (Polvillo, 2004.).

Vrlo je važno poznavati oksidacijsku stabilnost ili održivost ulja jer predstavlja vremenski period kroz koji je moguće sačuvati ulje od oksidacijskog kvarenja i omogućuje utvrđivanje roka trajanja za pojedino biljno ulje. Postoje brojni testovi koji se primjenjuju u praksi, a temelje se na ubrzanoj oksidaciji ulja pomoću nekog od čimbenika koji uzrokuju proces kvarenja ulja (Dimić, 2005.).

Analitičke metode za ispitivanje oksidacijske stabilnosti ili održivosti masti i ulja prikazane su u **Tablici 6**.

Tablica 6 Analitičke metode i ispitivani parametri oksidacijske stabilnosti masti i ulja

Analitička metoda	Ispitivani parameter
Schaal Oven test (Oven test)	Peroksidi, senzorske promjene
AOM test ili Swift test	Peroksidi
Rancimat test	Niže molekularne kiseline, provodljivost
Metoda apsorpcije kisika	Apsorbirani kisik
Test na bazi fluorescentnog svjetla	Peroksidi, senzorske promjene

2.6.1. Schaal Oven test

Schaal Oven test se svrstava u jednu od najstarijih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja. Princip ove metode je zagrijavanje uzoraka biljnog ulja u termostatu pri konstantnoj temperaturi 60°C ili 63°C određeno vrijeme te se svakih 24 sata prati porast vrijednosti peroksidnog broja ili promjena organoleptičkih svojstava ulja.

Rezultati Schaal Oven testa prikazani su kao:

- vrijednost Pbr nakon određenog vremenskog perioda trajanja ispitivanja pri 63°C (uglavnom 4 dana);
- broj dana za koje Pbr biljnog ulja postigne određenu vrijednost;
- vrijeme (u danima) za koje se senzorskim ispitivanjima utvrdi pojava užeglosti (Dimić i Turkulov, 2000.).

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

Princip AOM testa je zagrijavanje uzoraka ulja pri temperaturi od 97,8°C i prolaz stuje zraka kroz njih u Swift uređaju. U određenim vremenskim intervalima, ulje se uzorkuje, odnosno određuje se peroksidni broj (Pbr). Stabilnost ili održivost ulja se obično određuje do Pbr 5 mmola O₂/kg, što je ujedno i granica ispravnosti biljnih ulja. Također, sat vremena provođenja Swift ili AOM testa odgovara oko 20 dana čuvanja ulja pri sobnoj temperaturi. Nakon 8 sati AOM metode, vrijednost Pbr kvalitetnih biljnih ulja mora biti manja od 5 mmol O₂/kg (Rade i sur., 2001.).

Također, u nedostatku originalne Swift aparature često se koristi metoda određivanja održivosti ulja na 98°C (Test održivosti na 98°C), koja je pokazala dobru poveznicu sa Swift testom.

2.6.3. Rancimat test

Rancimat testom se ispituje oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja primjenom Rancimat uređaja, a bazira se na ubrzanoj oksidaciji ulja (kvarenju) na povišenim temperaturama (100, 110, 120°C) i konstantnom upuhivanju zraka kroz uzorak prilikom čega nastaju hlapljivi spojevi na osnovi kojih se određuje indukcijski period (IP). Kratkolančane hlapljive organske kiseline (mravlja, octena, propionska i dr.) nastale oksidacijom ulja uvode se u demineraliziranu vodu te se indirektno prati tijekom oksidacije ulja mjerenjem porasta vodljivosti. Dobiveni hlapljivi produkti se određuju konduktometrijski sa automatskim registriranjem vodljivosti vode u funkciji vremena.

Na temelju količine izdvojenih produkata određuje su induksijski period (IP). Vrijednost induksijskog perioda (u satima) pokazatelj je otpornosti ulja prema oksidacijskom kvarenju te što je on duži, ulje ima bolju održivost tj. oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986.).

Također, vrijeme indukcije se definira kao indeks održivosti biljnog ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001.).

2.6.4. Test održivosti na 98 °C

Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja primjenom testa održivosti na 98°C temelji se na određivanju peroksidnog broja (Pbr) uzorcima koji se drže u sušioniku na konstantnoj temperature 98°C. Određivanje Pbr uzorka se provodi svakih sat vremena. Jedan sat provedbe testa održivosti na 98°C odgovara 10-15 dana čuvanja ulja pri sobnoj temperaturi.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak diplomskog rada bio je:

- ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja (veličina nastavka za izlaz pogače, temperatura grijača glave preše, frekvencija elektromotora) na iskorištenje i kvalitetu *Camelina sativa* ulja;
- odrediti oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja *Cameline sative* sa i bez dodatka prirodnog antioksidansa.

U svrhu određivanja utjecaja dodatka antioksidansa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja korišten je prirodni antioksidans ekstrakt kadulje. Ekstrakt kadulje proizveden je vodenom i etanolnom ekstrakcijom te korišten u istraživanju u udjelu 0,1%, 0,2% i 0,3%. Određivanje oksidacijske stabilnosti *Camelina sativa* ulja provedeno je Schaal Oven testom pri 63°C i Rancimat testom na 110°C.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

Sjemenke *Camelina sativa* L.

Sjemenke podlanka (*Camelina sativa* L.) korištene za proizvodnju hladno prešanog ulja u ovom istraživanju porijeklom su sa obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva (OPG) Vučemilović. Očišćene, osušene i nesamljevene sjemenke podlanka prikazane su na **Slici 4**.



Slika 4 Sjemenke podlanka (*Camelina sativa* L.)

Antioksidansi

U ovom radu ispitan je utjecaj dodatka prirodnog antioksidansa ekstrakta kadulje na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja. Osušeni listovi biljke kadulje (*Salvia officinalis* L.) prikazani su na **Slici 5** usitnjeni su na laboratorijskom mlinu. Nakon usitnjavanja odvojeno je 10 g kadulje te natopljeno u 100 mL odabranog otapala, odnosno priprema je izvedena u omjeru 1:10 (prema Europskoj farmakopeji). Otapala koja su korištena za pripremu uzoraka su: voda, 65%-tni i 96%-tni alkohol etanol. Tinktura je pripremljena na dva načina: klasičnim i primjenom ultrazvuka u ultrazvučnoj kupelji. Ekstrakti pripremljeni klasičnim načinom čuvani su pri sobnoj temperaturi u tamnom prostoru tijekom 24 i 96 sata uz miješanje svaki dan. Nadalje, primjenom ultrazvuka frekvencije 37 Hz dobiven je ekstrakt kadulje na 30°C tijekom 60 minuta. Nakon toga, ekstrakti kadulje su profiltrirani radi uklanjanja mogućih grubih nečistoća te je provedeno koncentriranje na rotacionom vakuum uparivaču pri 15°C do konačnih 10 mL ekstrakta. Nakon svega navedenog, ekstrakti su skladišteni u tamnom prostoru pri sobnoj temperaturi do daljnje upotrebe.



Slika 5 Osušeni listovi kadulje (*Salvia officinalis* L.)

3.2.2. Metode rada

3.2.2.1 Proizvodnja ulja primjenom kontinuirane pužne preše

Eksperimentalni rad započinje postupkom hladnog prešanja sjemenki podlanka na laboratorijskoj kontinuiranoj pužnoj preši prikazanoj na **Slici 6.** tvrtke „ElektroMotor Šimon“, iz Srbije. Kapacitet preše je 20-25 kg/h sirovine sa snagom elektromotora 1,5 kW.



Slika 6 Proizvodnja sirovog ulja i izlaz pogače na kontinuiranoj pužnoj preši

Prije samog postupka prešanja analitički je određen udio ulja u sjemenkama (39,25%) i udio vlage (8,01%). Masa polazne sirovine pojedinog uzorka pri prešanju bila je 3 kg, a sjemenke su konstantno dodavane kako bi se spriječio prazan hod preše i začepljenje glave preše. Tijekom prešanja sjemenki podlanka provedeno je 7 uzastopnih pokusa pri različitim procesnim parametrima, a to su: različite veličine otvora glave preše za izlaz pogače (5, 7, 10 mm), zatim temperature zagrijavanja izlaznog dijela glave preše (55, 75, 95°C) te različite brzine pužnice pomoću frekvencije elektromotora (25, 35, 40 Hz). Princip rada pužne preše je primjena snažne pužnice koja potiskuje sjemenke iz većeg zatvorenog prostora u manji što dovodi do porasta tlaka te konačno cijeđenja ulja. Ovim načinom je dobiveno sirovo ulje koje je sakupljeno u menzuru pomoću koje je očitani volumen ulja neposredno nakon prešanja te

izmjerena temperature (**Slika 7**). Nakon postupka hladnog prešanja, sirovo ulje *Cameline sativa* je preneseno u staklenke (**Slika 8**), gdje se taložilo prirodnim putem u trajanju od 12 dana u tamnom prostoru na sobnoj temperaturi. Nakon tog perioda ulje je podvrgnuto vakuum filtraciji preko Büchner-ovog lijevka (**Slika 9**) s ciljem što efikasnijeg uklanjanja netopljivih nečistoća iz ulja. Nakon završene vakuum filtracije očitana je volumen ulja (hladno prešano ulje podlanka) koji predstavlja finalni proizvod.



Slika 7 Mjerenje volumena i temperature sirovog ulja



Slika 8 Sirovo ulje *Cameline sative* u staklenkama i pogače



Slika 9 Vakuum filtracija sirovog ulja i proizvodnja hladno prešanog ulja *Cameline sative*

3.2.2.2 Određivanje parametara kvalitete sjemenke *Camelina sativa*

Određivanje udjela ulja u sjemenkama *Camelina sativa*

Udio ulja u sjemenkama podlanka i u pogači određen je standardnom metodom ekstrakcije organskim otapalom po Soxhlet-u. Aparatura koja je korištena za ekstrakciju sastoji se od tikvice, ekstraktora i hladila. U ovom radu kao organsko otapalo korišten je petroleter. U tuljak za ekstrakciju je odvagano 5 g usitnjenog uzorka, zatvoreno vatom te stavljeno u ekstraktor. U ekstraktor je dodano 150 mL otapala te je spojen sa hladilom i tikvicom i provedena je ekstrakcija. Po završetku ekstrakcije otapalo je predestilirano, a zaostalo ulje u tikvici se suši, hladi te važe. Udio ulja se izračunava prema izrazu:

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

a – masa tikvice s uljem (g);

b – masa prazne tikvice (g);

c – masa uzorka koji se ispituje (g).

Izračunavanje stupnja djelovanja prešanja

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

Količina sirovog ulja dobivenog prešanjem računa se prema formuli (Dimić, 2005.):

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

U- količina prešanog ulja (%);

U_o - udio ulja u sirovini (%);

U_p – udio ulja u pogači (%);

a- suha tvar u sirovini (%);

b- suha tvar u pogači (%).

Formula za izračunavanje Stupnja djelovanja prešanja (P) je:

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

U-količina prešanog ulja (%);

U_o-udio ulja u sirovini (%).

3.2.2.3 Određivanje parametara kvalitete ulja

Primjenom standardnih metoda određeni su osnovni parametri kvalitete ulja: slobodne masne kiseline, peroksidni broj, udio vlage te udio netopljivih nečistoća.

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

SMK su vrlo važan parametar kvalitete ulja jer se određivanjem njegovog udjela u uljima i mastima prati stupanj hidrolitičkih promjena (povećanje kiselosti). Povećani udio SMK ukazuje na nepravilno skladištenje sirovine. Primjenom standardne metode (HRN EN ISO 660:1996) određene su slobodne masne kiseline u uzorku ulja *Cameline sativa*, a postupak se temelji na titraciji ulja s 0,1 mol/L otopinom NaOH. Odvaja se 5 g uzorka ulja i dodaje 50 mL neutralne smjese etera i etanola, promućka te doda nekoliko kapi indikatora fenolftaleina i provede titracija s 0,1 M otopinom NaOH. Titracija je završena kada dođe do promjene boje. Udio slobodnih masnih kiselina je izražen kao % oleinske kiseline, a formula za izračunavanje SMK je:

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

gdje je:

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

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

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

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje peroksidnog broja (Pbr) po Wheeleru

U ovom ispitivanju Pbr je određen standardnom metodom (ISO 3960:2007), odnosno jodometrijskom metodom koja se bazira na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalij-jodida koji se određuje titracijom s otopinom natrij tiosulfata. U tikvicu se odvaja oko 1 g uzorka ulja i doda 10 mL smjese ledene octene kiseline i kloroforma, promiješa te doda 0,2 mL otopine kalij-jodida. Nadalje, uzorak se točno jednu minutu ručno mućka, zatim razrijedi sa 20 mL prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom. Na kraju se dodaje 0,5 mL otopine škroba kao indikatora i sve skupa se odmah titrira sa 0,01 M otopinom $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, do promjene boje (**Slika 10**). Izvođenje slijepog pokusa je na isti način,

ali bez dodatka masti ili ulja. Rezultat se izražava kao broj milimola aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1kg ulja ($\text{mmol O}_2/\text{kg}$), a peroksidni broj računa se prema formuli:

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

V_1 – volumen otopine natrij- tiosulfata, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol/L}$ utrošen za titraciju uzorka ulja (mL);

V_0 – volumen otopine natrij- tiosulfata, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol/L}$ utrošen za titraciju slijepe probe (mL);

m – masa uzorka ulja (g)



Slika 10 Titracija ulja s $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Određivanje vlage u ulju

Količina vlage važan je pokazatelj kvalitete biljnih ulja. Prisustvo vlage u ulju, pri određenim uvjetima, može uzrokovati hidrolitičke promjene što dovodi do porasta kiselosti ulja, odnosno povećava se udio SMK te samim time pogoršava kvaliteta ulja. Osim toga, može doći do zamućenja ulja te smanjenja senzorske kvalitete. Metoda pomoću koje se određuje vlaga u ulju zasniva se na isparavanju vode i hlapljivih tvari iz ulja zagrijavanjem u sušioniku pri točno određenim uvjetima. U prethodno osušenu, ohlađenu i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem izvaže se 5-10 g uzoraka ulja te se stavi u sušionik na sušenje pri 103°C tijekom 2 sata. Tijekom sušenja u sušioniku poklopac je podignut. Nakon toga posudica se zatvori,

ohladi u eksikatoru na sobnu temperaturu i izvaže. Navedeni postupak (sušenje, hlađenje i vaganje) ponavlja se dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja ne bude manji od 0,002 g. Dolazi do gubitka mase, a on se određuje vaganjem. Udio vlage izračunava se prema izrazu:

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

m_0 - masa staklene posudice (g);

m_1 - masa staklene posudice i uzorka prije sušenja (g);

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

Određivanje netopljivih nečistoća

Za određivanje netopljivih nečistoća korištena je standardna metoda ISO 663 (1992). U ulju se najčešće nalaze mehaničke netopljive nečistoće, a predstavljaju ih mineralne tvari ili organske npr. dijelovi biljke uljarica. Njihov udio u uljima dobre kakvoće je često niži od 0,03%. U Erlenmeyerovu tikvicu sa brušenim grlom izvaže se 20 g uzoraka ulja i pomiješa sa 100 mL n-heksana, zatim se dobivena otopina profiltrira kroz stakleni lijevak sa perforiranim dnom (**Slika 11**). Zaostali netopljivi talog se suši do konstantne mase i važe.

Udio netopljivih nečistoća izračunava se prema formuli:

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = (m_2 - m_1 / m_0) \times 100$$

m_0 - masa uzorka (g);

m_1 - masa osušenog filter-lijevka (g);

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



Slika 11 Postupak filtriranja ulja preko staklenog lijevka s perforiranim dnom

3.2.2.4 Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Priprema uzorka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja

U staklene čašice izvagana je određena količina antioksidansa (**Slika 12**) te dodano 50 g hladno prešanog ulja *Cameline sativa* te je smjesa homogenizirana staklenim štapićem. Uzorci koji su se koristili u ovom istraživanju i koncentracije dodanih antioksidanasa prikazane su u **Tablici 7**.



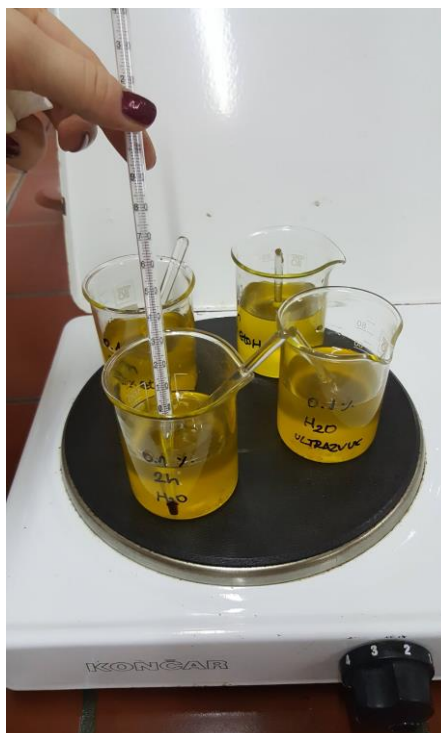
Slika 12 Priprema antioksidanasa za ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Uzorci su zagrijavani, uz stalno miješanje, pri temperaturi od 70 do 80°C (**Slika 13**). Nakon što je postignuta željena temperatura, potrebno ju je održavati 30 minuta i paziti da ne prijeđe 80°C. Nakon postupka zagrijavanja uzorci su ohlađeni na sobnoj temperaturi te stavljeni u ventilacijski sušionik s konstantnom temperaturom od 63°C. Ovim započinje proces ispitivanja oksidacijske stabilnosti ulja *Cameline sativa*.

Tablica 7 Prikaz dodanih antioksidanasa te njihove koncentracije

UZORCI	KONCENTRACIJA ANTIOKSIDANSA (%)		
Hladno prešano ulje <i>Cameline sativa</i> (kontrolni uzorak)	-		
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 24h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 96% EtOH, 24h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, H ₂ O, 24h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 96% EtOH, 96h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, H ₂ O, 96h	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, ultrazvuk	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, 96% EtOH, ultrazvuk	0,1	0,2	0,3
HPL ulje + ekstrakt kadulje 1:10, H ₂ O, ultrazvuk	0,1	0,2	0,3

HPL- hladno prešano ulje *Camelina sativa*; EtOH- etanol



Slika 13 Zagrijavanje i miješanje uzoraka s dodanim antioksidansima na 70°C

3.2.2.5 Određivanje antioksidacijske aktivnosti ekstrakta kadulje

DPPH metoda

Antioksidacijska aktivnost ekstrakta lista kadulje određena je spektrofotometrijski DPPH metodom koja mjeri sposobnost nekog antioksidansa da neutralizira stabilni DPPH radikal ($\text{DPPH}\cdot$). Princip ove metode je redukcija sintetičkog 2,2-difenil-1-pikrihidrazil radikala ($\text{DPPH}\cdot$) otopljenog u alkoholnoj otopini u prisutnosti antioksidansa (AH) koji donira jedan vodikov atom i "hvata" slobodni $\text{DPPH}\cdot$ radikal te nastaje neradikalni oblik DPPH-H i stabilizirani fenoksi radikal ($\text{A}\cdot$). Količina inhibiranog $\text{DPPH}\cdot$ radikala dokazuje veću ili manju antioksidacijsku aktivnost ispitivanog uzorka.

U 1,2 mL ekstrakta lista kadulje ($c=1$ mg/mL) dodano je 0,5 mL otopine $\text{DPPH}\cdot$ u metanolu (0,3 mmol $\text{DPPH}\cdot$ /L). Dobivena reakcijska otopina ostavljena je na sobnoj temperaturi i tamnom mjestu 30 minuta, a nakon toga vremena je u 1,2 mL reakcijske otopine dodano 0,5 mL metanola te je spektrofotometrijski izmjerena apsorbancija ($A_{\text{ekst.}}$) pri valnoj duljini od 517 nm u odnosu na slijepu probu (1,2 mL uzorka s 0,5 mL metanola, bez dodatka otopine $\text{DPPH}\cdot$). Važno je istaknuti da je otopina $\text{DPPH}\cdot$ korištena za ispitivanje antioksidacijske

aktivnosti (AA) uvijek svježe pripremana neposredno prije provođenja analize te korištena unutar 24 sata, a između mjerenja čuvana je u hladnjaku na +4°C prekrivena aluminijskom folijom. Apsorbancija DPPH· otopine (A_{DPPH}) očitavala se pod istim uvjetima kao i uzorci u odnosu na slijepu probu.

Inhibicija DPPH· uslijed antioksidacijske aktivnosti (AA) ispitivanih ekstrakata izračunata je u postotku (%) prema sljedećoj formuli:

$$\% \text{ inhibicije DPPH} = (A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ekst.}} / A_{\text{DPPH}}) \times 100$$

A_{DPPH} = apsorbancija otopine DPPH· (nm);

$A_{\text{ekst.}}$ = apsorbancija ispitivanog ekstrakta (nm).

Schaal Oven test

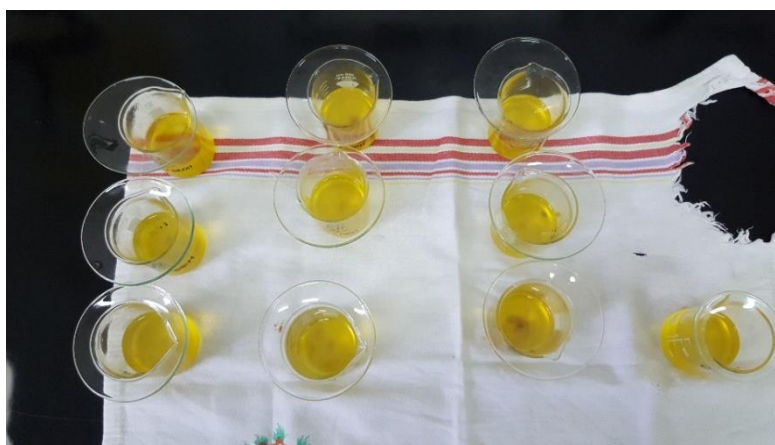
Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja *Cameline sativa*, sa i bez dodatka antioksidansa, ispitana je Schaal Oven testom. Princip ovog testa je zagrijavanje uzoraka ulja u termostatu pri konstantnoj temperaturi 63°C (**Slika 14**) te praćenju porasti vrijednosti peroksidnog broja ili senzorske promjene koje nastaju oksidacijom ulja u trajanju od 3 dana. Prije ispitivanja peroksidnog broja potrebno je dobro homogenizirati uzorke staklenim štapićem. Nakon toga, u čaše je izvagano 1 g uzorka (2 paralele) te određen peroksidni broj, a uzorci ulja su ponovno vraćeni u termostat.

Rezultat Schaal Oven testa primjenjivan na ulju *Cameline sativa* prikazan je kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O₂/kg).



Slika 14 Sušionik zagrijan na 63°C

Uzorci ulja *Cameline sativa* na kraju provedbe Oven testa prikazani su na **Slikama 15, 16 i 17**.



Slika 15 Uzorci ulja s dodatkom 0,1 % antioksidansa



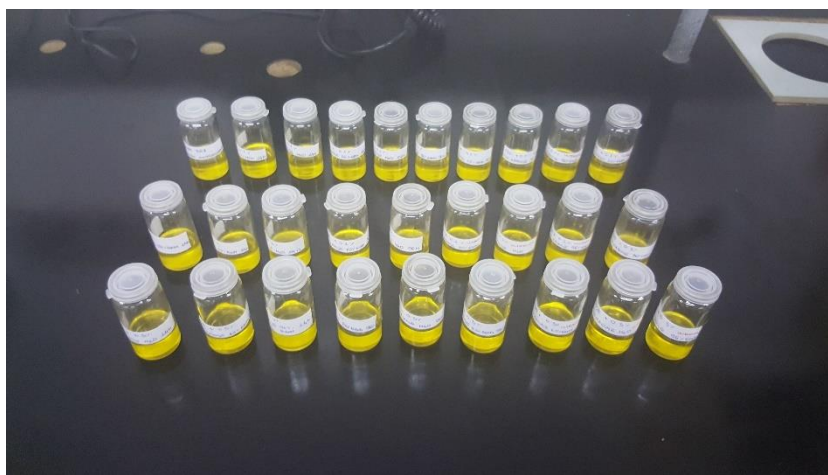
Slika 16 Uzorci ulja s dodatkom 0,2 % antioksidansa



Slika 17 Uzorci ulja s dodatkom 0,3 % antioksidansa

Rancimat test

Priprema uzorka je na isti način kao i za Oven test. Nakon pripreme, uzorci su prebačeni u male staklene bočice (**Slika 18**). Ispitivanje je provedeno u laboratoriju Tvornice ulja Čepin. Ovaj test se temelji na ubrzanom kvarenju biljnih ulja uz povišenu temperaturu te konstantan dovod zraka u uzorak ulja. Test se provodio na 110°C i protoka zraka 20 L/h, a rezultat je izražen kao indukcijski period (IP) u satima.



Slika 18 Uzorci ulja pripremljeni za Rancimat test

4. REZULTATI

Tablica 8 Utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače kod prešanja *Cameline sativa* na iskorištenje hladno prešanog ulja. Udio ulja u sjemenkama *Cameline sativa* je 39,25%, a udio vode 8,01%.

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen finalnog ulja (12 dana taloženje i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (kg)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 5 mm F = 25 Hz T = 75 °C	3	998	820	45	2,170	17,19	8,77	55,85
N = 7 mm F = 25 Hz T = 75 °C	3	912	770	39	2,210	18,78	9,22	51,52
N=10 mm F = 25 Hz T = 75 °C	3	810	720	36	2,258	26,82	8,68	31,16

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator elektomotora, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Tablica 9 Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja sjemenki *Cameline sativa* na iskorištenje hladno prešanog ulja

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen finalnog ulja (12 dana taloženje i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (kg)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N= 7 mm F = 25 Hz T = 75 °C	3	912	770	39	2,210	18,78	9,12	51,52
N= 7 mm F = 35 Hz T = 75 °C	3	862	743	35	2,520	21,43	8,79	44,94
N= 7 mm F = 40 Hz T = 75 °C	3	779	645	36	2,428	24,06	8,61	38,29

Tablica 10 Utjecaj temperature zagrijavanja glave preše na izlazu pogače kod prešanja sjemenki *Cameline sativa* na iskorištenje hladno prešanog ulja

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen finalnog ulja (12 dana taloženje i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (kg)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 7mm F = 25 Hz T = 55 °C	3	895	702	37	2,189	22,67	8,73	41,78
N = 7mm F = 25 Hz T = 75 °C	3	912	770	39	2,210	18,78	9,22	51,52
N = 7 mm F = 25 Hz T = 95 °C	3	1015	840	43	2,112	16,69	9,18	56,92

Tablica 11 Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja *Cameline sativa*

Parametar kvalitete	Vrijednost
Peroksidni broj (Pbr), mmol O ₂ /kg	0,49
Slobodne masne kiseline (SMK), %	0,28
Jodni broj, g J ₂ /100 g	151,79
Saponifikacijski broj, mg KOH/g ulja	189,22
Anisidinski broj (Abr)	0,46
Totox broj (TV)	1,44
Voda, %	0,024
Netopljive nečistoće (NN), %	0,066

Tablica 12 Antioksidacijska aktivnost ekstrakata lista kadulje određena spektrofotometrijski DPPH metodom

Redni broj	Opis tinkture	DPPH (%) c=125 µg/mL	Ukupni polifenoli (mg GAE/L) c=1 mg/mL
1.	1:10 H ₂ O, 24 h	7,045±0,383	18,282±0,444
2.	1:10 65 % EtOH, 24 h	47,510±0,888	43,410±3,109
3.	1:10 96 % EtOH, 24 h	23,497±0,546	18,538±0,769
4.	1:10 H ₂ O, 96 h	15,345±0,192	8,795±0,444
5.	1:10 65 % EtOH, 96 h	73,737±0,711	68,795±1,175
6.	1:10 96 % EtOH, 96 h	55,404±0,293	47,256±1,601
7.	1:10 H ₂ O, ultrazvuk, 1 h	57,728±0,443	62,897±1,936
8.	1:10 65 % EtOH, ultrazvuk, 1 h	73,220±0,523	58,026±1,601
9.	1:10 96 % EtOH, ultrazvuk, 1 h	30,874±0,064	26,744±4,237

Tablica 13 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja *Cameline sativa* sa i bez dodanog antioksidansa, određena Schaal Oven testom na 63°C tijekom 140 sati praćenja

	Uzorak	Vrijeme (h)	40 sati			104 sati			140 sati		
		Udio AO (%)	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3
			Vrijednost Pbr (mmol O ₂ /kg)								
	Hladno prešano ulje <i>Cameline sativa</i>		3,85			8,00			17,16		
1.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, 24 h		2,99	3,19	3,06	6,38	7,92	5,83	15,94	16,99	16,53
2.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, 24 h		3,66	2,98	2,47	6,13	6,64	5,72	14,50	16,99	16,01
3.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, 24 h		3,17	3,71	3,53	8,42	7,89	6,83	17,25	17,91	18,09
4.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, 96 h		3,42	2,87	2,97	5,80	6,59	5,45	13,88	16,87	16,08
5.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, 96 h		2,49	3,18	2,47	6,04	5,42	5,90	13,93	13,68	16,09
6.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, 96 h		3,78	3,66	3,37	6,90	7,25	7,15	15,00	17,76	16,58
7.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, ultrazvuk		2,63	2,94	2,70	7,18	6,22	6,75	13,95	14,65	16,50
8.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, ultrazvuk		3,24	2,74	1,97	5,88	6,22	4,01	16,67	16,79	13,98
9.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, ultrazvuk		3,40	3,38	3,06	7,00	6,31	6,25	14,50	16,29	16,08

Tablica 14 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja *Cameline sative* sa i bez dodanog antioksidansa, određena Rancimat testom na 110°C i protoka zraka 20 L/h

	Uzorak	Indukcioni period (h)			
		BEZ AO	0,1 %	0,2 %	0,3 %
	Hladno prešano ulje <i>Cameline sative</i>	0,65			
1.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, 24 h		0,90	0,89	0,99
2.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, 24 h		0,86	0,85	1,25
3.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, 24 h		0,82	3,37	3,31
4.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, 96 h		1,36	0,71	3,50
5.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, 96 h		0,93	2,97	3,62
6.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, 96 h		-	2,91	1,00
7.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 65 % EtOH, ultrazvuk		0,72	3,32	1,14
8.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, 96 % EtOH, ultrazvuk		0,76	1,09	0,86
9.	Ulje + ekstrakt kadulje, 1:10, H ₂ O, ultrazvuk		0,90	1,05	0,76

AO- antioksidans

5. RASPRAVA

Tijekom procesa prešanja, značajan utjecaj na iskorištenje i kvalitetu ulja ima udio vode u sjemenkama, stoga prije samog procesa prešanja određen je udio ulja u sjemenkama koji iznosi 39,25% te udio vode 8,01%.

Rezultati ispitivanja utjecaja procesnih parametara (veličina otvora za izlaz pogače, frekvencija elekromotora, temperatura grijača glave preše) na iskorištenje i kvalitetu hladno prešanog ulja *Camelina sativa* prikazani su u **Tablicama 8-10**.

Tijekom hladnog prešanja sjemenki *Camelina sativa*, prvo je ispitan utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače, a korišteni su nastavci promjera otvora $N = 5, 7$ i 10 mm. U **Tablici 8** prikazan je utjecaj nastavka na glavi preše koji definira promjer izlaza pogače na iskorištenje sirovog i finalnog hladno prešanog ulja *Camelina sativa*. Korištenjem nastavka veličine otvora $N = 5$ mm i prešanjem pri konstantnim uvjetima frekvencije elektromotora $F = 25$ Hz i temperature zagrijavanja glave preše $T = 75^{\circ}\text{C}$, dobiveno je 998 mL sirovog ulja temperature 45°C . Nakon taloženja prirodnim putem u trajanju od 12 dana i vakuum filtracije volumen dobivenog hladno prešanog ulja je iznosio 820 mL. Stupanj djelovanja preše iznosio je 55,85%, a masa proizvedene pogače (nusprodukt prešanja) je 2,170 kg, dok je udio zaostalog ulja u pogači 17,19%. Primjenom nastavka veličine otvora 7 mm proizvedeno je manje sirovog ulja (912 mL) i finalnog ulja (770 mL). Temperatura sirovog ulja je iznosila 39°C . Udio ulja zaostalog u pogači iznosio je 18,78%, a stupanj djelovanja preše je 51,52%. Kod posljednjeg ispitivanja utjecaja veličine otvora glave preše upotrebljen je nastavak promjera 10 mm, a dobiveni su sljedeći rezultati: volumen sirovog ulja (810 mL) sa temperaturom 36°C , volumen finalnog ulja (720 mL), stupanj djelovanja preše (31,16%) te udio zaostalog ulja u pogači (26,82%). Vidljivo je da veličina nastavka za izlaz pogače ima značajan utjecaj na volumen dobivenog ulja. Primjenom nastavka veličine otvora 5 mm dobiven je veći volumen sirovog i finalnog ulja te manji udio zaostalog ulja u pogači u odnosu na primjenu nastavka veličine 7 i 10 mm. Razlog tome je taj što se primjenom nastavka manjeg promjera postiže veći procesni tlak tijekom procesa prešanja sjemenki podlanka, to u konačnici rezultira većim iskorištenjem ulja te manjim udjelom zaostalog ulja u pogači. Također, u rezultatima je vidljivo da se upotrebom nastavka većeg promjera stupanj djelovanja preše smanjuje.

U **Tablici 9** prikazan je utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) na proizvodnju sirovog i finalnog ulja *Camelina sativa*. Frekvencije elektromotora koje su korištene tijekom prešanja su 25, 35 i 40 Hz, uz konstantnu temperaturu grijača glave preše (75°C) i nastavka za izlaz pogače (7 mm). Prešanjem sjemenke *Camelina sativa* brzinom pužnice 25 Hz proizvedeno je 912 mL sirovog ulja temperature 39°C, a nakon sedimentacije u trajanju od 12 dana i vakuum filtracije volumen finalnog ulja iznosio je 770 mL. Stupanj djelovanja preše iznosio je 51,52%, a udio zaostalog ulja u pogači 18,78%. Povećanjem brzine pužnice (frekvencije elektromotora) na 35 i 40 Hz vidljivo je smanjenje volumena sirovog i finalnog ulja. Primjenjujući brzinu pužnice 35 Hz dobiveno je 862 mL sirovog ulja i 743 mL finalnog ulja, dok je pri prešanju brzinom pužnice 40 Hz volumen sirovog ulja 779 mL, a finalnog 645 mL. Razlog zbog čega se tijekom procesa hladnog prešanja sjemenki pri manjim brzinama pužnice povećava iskorištenje ulja je taj što se masa sirovine duže vrijeme zadržava u sustavu pod tlakom što omogućuje efikasnije cijedenje ulja. Osim toga, porastom brzine pužnice stupanj djelovanja preše se smanjuje, a rezultat toga je veći udio zastalog ulja u pogači.

Utjecaj temperature zagrijavanja glave preše (55, 75, 95°C) na iskorištenje ulja *Cameline sative* prikazan je u **Tablici 10**. Nastavak na glavi preše koji je korišten pri ovim ispitivanjima je 7 mm, a brzina pužnice je podešena na 25 Hz. Rezultati ovog ispitivanja pokazuju da se porastom temperature zagrijavanja glave preše povećavaju volumen i temperatura sirovog ulja te količina finalnog hladno prešanog ulja *Cameline sative*, a udio zaostalog ulja u pogači postepeno smanjuje. Najveća količina sirovog ulja (1015 mL) i finalnog ulja (840 mL) proizvedena je pri temperaturi 95°C uz niži udio zaostalog ulja u pogači (16,69 %) i najveći stupanj djelovanja preše (56,92%). Razlog zbog kojeg raste količina dobivenog ulja s porastom zagrijavanja glave preše je taj da se tijekom prešanja povećava procesni tlak što u konačnici rezultira boljim cijedenjem ulja. Osim toga, porastom temperature se snižava viskozitet ulja što dovodi do većeg iskorištenja ulja tijekom procesa prešanja.

Hladno prešano ulje *Camelina sativa* proizvedeno iz svih faza pomiješano je i upotrebljeno za ispitivanje osnovnih parametara kvalitete prema Pravilniku za jestiva ulja i masti (NN 41/12). U **Tablici 11** prikazani su rezultati osnovnih parametara kvalitete hladno prešanog ulja podlanka. Navedeni rezultati ukazuju na to da je proizvedeno hladno prešano ulje *Camelina sativa* dobre kvalitete te su parametri kvalitete u skladu s Pravilnikom. Uz osnovne parametre kvalitete ispitane su i karakteristike za identifikaciju ulja podlanka (saponifikacijski

i jodni broj). Izračunata vrijednost za jodni broj je 151,79 g J₂/100g ulja, dok je vrijednost saponifikacijskog broja 189,22 mg KOH/g ulja. Izračunate vrijednosti anisidinskog broja koji ukazuju na "oksidacijsku prošlost" ulja i Totox broja (predstavlja ukupnu oksidacijsku vrijednost ulja) pokazuju da je hladno prešano ulje podlanka izrazito dobre kvalitete.

Antioksidacijska aktivnost ekstrakata lista kadulje određena spektrofotometrijski DPPH metodom i sadržaj ukupnih polifenola istih prikazana je u **Tablici 12**. Najveću antioksidacijsku aktivnost pokazao je uzorak ekstrakta kadulje pripremljen maceracijom s etanolom (65%-tni) tijekom 96 sati. Navedeni uzorak je tijekom provođenja DPPH metode inhibirao najveću količinu DPPH• radikala upravo iz razloga što ima najveći udio ukupnih polifenola (68,795±1,175 mg GAE/L).

U **Tablici 13** prikazana je oksidacijska stabilnost dobivenog hladno prešanog ulja *Camelina sativa*, sa i bez dodatka prirodnog antioksidansa ekstrakta kadulje, određena Schaal Oven testom pri 63°C i prikazana porastom Pbr kroz 140 sati trajanja testa. Početna vrijednost peroksidnog broja (Pbr) iznosila je 0,49 mmol O₂/kg ulja. Rezultati pokazuju da se vrijednost Pbr-a tijekom 140 sati provođenja testa povećavala ovisno o dodanom antioksidansu i njegovoj koncentraciji.

Dodatkom različito pripremljenih uzoraka različitih koncentracija (0,1%, 0,2% i 0,3%) prirodnog antioksidansa ekstrakta kadulje u hladno prešano ulje podlanka željela se povećati oksidacijska stabilnost ulja na duži vremenski period. Prema rezultatima dobivenim Schaal Oven testom vidljivo je da je uzorak hladno prešanog ulja *Camelina sativa* sa dodatkom ekstrakta kadulje (0,3%), pripremljenim s 96% EtOH na ultrazvuku kroz sat vremena, pokazao najveću stabilnost ili održivost prema oksidacijskom kvarenju što se očituje u najnižoj vrijednosti Pbr (13,98 mmol O₂/kg nakon završetka testa). S obzirom da je postignuta niža vrijednost peroksidnog broja u odnosu na čisto ulje bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak, Pbr je 17,16 mmol O₂/kg nakon završetka testa) dokazan je antioksidacijski učinak ekstrakta. S druge strane, prema rezultatima u tablici zapaženo je da je najveća vrijednost Pbr (18,09 mmol O₂/kg nakon završetka testa) postignuta dodatkom ekstrakta kadulje udjela 0,3%, pripremljenim maceracijom u vodi kroz 24 sata, što pokazuje da ovaj uzorak nema antioksidacijski učinak tj. djeluje kao prooksidans jer je vrijednost Pbr veća od Pbr kontrolnog uzorka (17,16 mmol O₂/kg) nakon završetka testa.

Nakon završetka provedbe Oven testa ispitana su senzorska svojstva tretiranih uzoraka. Uzorci sa dodatkom 0,1% ekstrakta kadulje (ekstrakt dobiven maceracijom s vodom) nakon drugog dana uzorkovanja pokazuju blago zamućenje (**Slika 15**). Nakon završetka provedbe testa (nakon 140 sati) svi uzorci sa udjelom antioksidansa 0,1% gube miris svojstven ulju *Camelina sativa*, a kod uzoraka u kojima je ekstrakt kadulje dobiven maceracijom s vodom pojavio se talog, osobito kod onog dobivenog ultrazvukom. Uzorci ulja u koje je dodano 0,2% ekstrakta kadulje (**Slika 16**) pokazuju veće zamućenje nakon drugog dana uzorkovanja nego uzorci sa 0,1% ekstrakta kadulje, a prilikom homogenizacije uzoraka pojavljuju se smeđe niti taloga. Konačno, uzorci ulja sa 0,3% dodanog ekstrakta kadulje (**Slika 17**) imaju veći talog nego oni sa 0,1% i 0,2% dodanog antioksidansa, a osobito oni dobiveni maceracijom s vodom.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja *Camelina sativa* određena Rancimat testom kod 110°C i protoka zraka 20 L/h, a izražena indukcijskim periodom (IP) u satima prikazana je u **Tablici 14**. Vrijednost indukcijskog perioda (IP) kod svih uzoraka je veća od vrijednosti IP-a kontrolnog uzorka (hladno prešano ulje *Camelina sativa* bez dodatka antioksidansa; IP= 0,65 h). Najbolju oksidacijsku stabilnost ili održivost je pokazao uzorak (ulje + ekstrakt kadulje (0,3%), 1:10, 96%-tni etanol, 96 h) sa vrijednosti IP= 3,62 h. Nadalje, kod uzoraka u kojima je ekstrakt kadulje dobiven primjenom ultrazvuka vrijednost indukcijskog perioda kod udjela antioksidansa 0,2% je veća nego kod udjela od 0,1 i 0,3%. S druge strane, ekstrakti kadulje koji su pripremljeni maceracijom s etanolom (65%-tni i 96%-tni) u udjelu 0,3% u uzorku hladno prešanog ulja imaju veći IP nego oni u koncentraciji 0,1 i 0,2%.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja utjecaja hladnog prešanja i dodatka ekstrakta kadulje na oksidacijsku stabilnost i iskorištenje ulja *Camelina sativa*, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Veličina otvora glave preše za izlaz pogače utječe na iskorištenje tijekom hladnog prešanja sjemenki podlanka.
2. Primjenom nastavka za izlaz pogače promjera 5 mm proizveden je veći volumen sirovog i hladno prešanog ulja podlanka, uz manji udio zaostalog ulja u pogači i veći stupanj djelovanja preše u odnosu na nastavke 7 mm i 10 mm pri konstantnim uvjetima temperature glave preše i frekvencije elektromotora.
3. Frekvencija elektromotora koja regulira brzinu pužnice utječe na iskorištenje proizvedenog ulja podlanka. Primjenom niže frekvencije elektromotora (25 Hz), dobiveno je više sirovog ulja i hladno prešanog ulja, manje zaostalog ulja u pogači te veći stupanj djelovanja preše u odnosu na 35 i 40 Hz.
4. Temperatura zagrijavanja glave preše utječe na iskorištenje hladno prešanog ulja podlanka. Primjenom temperature 95°C dobivena je veća količina ulja u odnosu na 55°C i 75°C.
5. Proizvedeno hladno prešano ulje podlanka je dobre kvalitete, a osnovni parametri kvalitete ulja su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima.
6. Najveću antioksidacijsku aktivnost pokazao je uzorak ekstrakta kadulje pripremljen maceracijom s etanolom (65%-tni) tijekom 96 sati jer sadrži najveću količinu ukupnih polifenola.
7. Dodatkom prirodnog antioksidansa u hladno prešano ulje podlanka došlo je do porasta oksidacijske stabilnosti ulja.
8. Uzorak hladno prešanog ulja *Camelina sativa* sa dodatkom ekstrakta kadulje (0,3%), pripremljenim s 96% EtOH na ultrazvuku kroz sat vremena, pokazao je najveću stabilnost ili održivost prema oksidacijskom kvarenju što se očituje u najnižoj vrijednosti Pbr.
9. Najlošiju zaštitu od oksidacijskog kvarenja nakon 140 sati provedbe Oven testa pokazuje ekstrakt kadulje udjela 0,3%, pripremljen maceracijom s vodom kroz 24 sata, jer u ispitivanom ulju djeluje kao prooksidans (ubrzava oksidaciju ulja).

10. Provedbom Rancimat testa, najbolju oksidacijsku stabilnost pokazao je uzorak (ulje + ekstrakt kadulje (0,3%), 1:10, 96%-tni etanol, 96 h) jer je imao najveću vrijednost induksijskog perioda (IP).

7. LITERATURA

- Abramovič H, Abram V: Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil. *Food Technology and Biotechnology*, 43: 63–70, 2005.
- Aruoma OI, Halliwell B, Aeschbach R, Loligers J: Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*, 2: 257-268, 1992.
- Budin JT, William Breene M, Putnam DH: Some Compositional properties of *Camelina* (*Camelina sativa* L. Crantz) seeds and oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72: 309-315, 1995.
- Chang S, Peterson, R. J., Ho, C.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55, 718, 1978.
- Crapiste GH, Brevedan MIV, Carelli AA: Oxidation of Sunflower Oil during Storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 1437-1443, 1999.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*, Bemust, Sarajevo, 2008.
- Dent M, Bursać Kovačević D, Bosiljkov T, Dragović-Uzelac V: Polyphenolic Composition of Antioxidant Capacity of Indigenous Wild Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.). *Croatica Chemica Acta* 90 (3):451-459, 2017.
- Deublein D: Zerkleinerungsmaschinen für die Olsaatenaufbereitung. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 1988.
- Dimić E: *Hladno ceđena ulja*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 88-91, 2005.
- Dimić E, Radoičić, J., Lazić, V., Vukša, V.: *Jestiva nerafinisana ulja suncokreta – Problemi i perspektive*, Tematski Zbornik, Novi Sad, 2002.
- Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2000.
- Eidhin DN, Burke J, O'Beirne D: Oxidative Stability of ω 3 –rich camelina oil and camelina oilbased spread compared with plant and fish oils and sunflower spread. *Journal of Food Science*, 68: 345-353, 2003.
- Ergović Ravančić M, *Tehnologija ulja i masti – priručnik za vježbe*, Veleučilište u Požegi, Požega, 2017.
- Hrvatski zavod za norme: Upravljanje okolišom, HRN EN ISO 659: 2009.

Imbrea F, Jurcoane S, Halmajan HV, Duda M, Botos L: Camelina sativa: a new source of vegetal oils. Romanian Biotechnological Letters, 16: 6263–6270, 2011.

Inatani R, Nakatani N, Fuwa H, Antioxidative: Effect of the Constituents of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and Derivatives. Agricultural and Biological Chemistry 47:3, 521528, 2014.

Jasicka-Misiak I, Poliwoda A, Petecka M, Buslovych O, Shlyapnikov VA, Wieczorek PP: *Antioxidant phenolic compounds in Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. Ecological Chemistry and Engineering S, 25 (1), 133-142, 2018.

Koprivnjak O: *Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola*, Poreč, MIH, 2006.

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, Journal of the American Oil Chemist Society 63, 792-793, 1986.

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

Marcone M: *Analytical Techniques in Food Biochemistry*. In Food Biochemistry and Food Processing. Blackwell Publishing, USA, 2006.

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

Moslavac T: *Tehnologija ulja i masti*, nastavni materijali, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, 2013.

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

Özcan Musa M, Arslan D: Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. Food Chemistry, 129, 171-174, 2011.

Paterson HBW: Handling and storage of oilseeds, fats and meal. Food Chemistry, 52: 249253, 1989.

Pilgeram AL, Sands DC, Boss D, Dale N, Wichman D, Lamb P, Lu C, Barrows R, Kirkpatrick M, Thompson B, Johnson DL: Camelina sativa, A Montana Omega-3 and Fuel Crop.

[online]<<https://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu07/pdfs/pilgeram129-131.pdf>>2007, Pristupljeno 10. ožujka 2014.

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 Chemist Society* 81, 2004.

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

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

Ratusz K, Popis E, Ciemniewska-Zytkiewicz H, Wroniak M: Oxidative stability of camelina (*Camelina sativa* L.) oil using pressure differential scanning calorimetry and Rancimat method, 2016.

Sadadinović J: *Organska tehnologija*, Ars grafika, Tuzla, 2008.

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

Simopoulos, AP: The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233: 674-688, 2008.

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

Szterk A, Roszko M, Sosinska E, Derewiaka D, Lewicki PP: Chemical Composition and Oxidative Stability of Selected Plant Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87: 637-645, 2010.

Škevin D: Utjecaj prirodnih antioksidanasa na održivost i svojstva djevičanskog maslinovog ulja sorte oblica i buharica, doktorski rad, Prehrambeno – biotehnološki fakultet Zagreb, 2003.

Teh S. S., Birch J: Physicochemical and quality characteristics of cold-pressen hemp, flax and canola seed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30 (26-31), 2013.

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

Web 1: Jašić M, *Tehnologija hrane*, Lipidi, <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>, [15.06.2018.]

Web 2: October fields, organic White Sage Leaves <https://www.octoberfields.com/shop/herbal-products/dried-herbs/organic-white-sage-leaves-salvia-alpine-dried-grown-in-maine/>, [15.06.2018.]

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

Zubr J: Oil-seed crop: *Camelina sativa*. Industrial Crops and Products, 6:113-119, 1997.

Zubr J, Matthäus B: Effects of growth conditions on fatty acids and tocopherols in *Camelina sativa* oil, Ind. Crops Prod. 15: 155-162. 2002.