

# Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog ulja šafranike

---

Vrban, Dino

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:109:926002>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



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

**Dino Vrban**

**PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA  
ŠAFRANIKE**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 2018.

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

**Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva****Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija**Nastavni predmet:** Tehnologija masti i ulja**Tema rada** je prihvaćena na XI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2017./2018. održanoj 28. rujna 2018.**Mentor:** prof. dr. sc. Tihomir Moslavac**PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA ŠAFRANIKE***Dino Vrban, 445-DI*

**Sažetak:** Šafranika (*Chartamus tinctorius* L.) je biljka sa dugom povijesti kultivacije koja ima sve veću primjenu u proizvodnji jestivih ulja. Ulje šafranike podložno je oksidacijskim promjenama koje utječu na njegovu nutritivnu vrijednost, kao i kemijska i senzorska svojstva.

U ovom radu ispitivana je održivost hladno prešanog ulja šafranike uz dodatak antioksidanasa od kojih su korišteni ekstrakti maslinove komine: HPβ CD, RAMEB CD, NATIVE, EKSCIPIJENS\*\* (HPβ CD), EKSCIPIJENS\*\* (RAMEB CD) u koncentracijama 0,1% i 0,3%, te BHA (butil hidroksianisol) i PG (Propil galat) u koncentraciji 0,01%. Test održivosti ulja šafranike proveden je testom ubrzane oksidacije ulja Schaal Oven testom na temperaturi 63 °C i Rancimat testom.

Održivost ulja šafranike prikazana je peroksidnim brojem tijekom četiri dana provođenja Schaal Oven testa. Ispitivani antioksidansi pozitivno utječu na održivost ulja šafranike. Najveću učinkovitost na održivost ulja šafranike je pokazao PG u koncentraciji 0,01% u odnosu na druge primjenjene antioksidanse. EKSCIPIJENS\*\* (RAMEB CD) u koncentraciji od 0,3% pokazao je slabiju zaštitu ulja u odnosu na druge ispitivane antioksidanse.

**Ključne riječi:** Ulje šafranike, antioksidansi, održivost ulja, Schaal Oven test, Rancimat test**Rad sadrži:** 50 stranica  
17 slika  
13 tablica  
23 literaturnih referenci**Jezik izvornika:** hrvatski**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

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

**Datum obrane:** 9. listopada 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

### Graduate program of Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

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

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

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

### THE IMPACT OF ANTIOXIDANTS ON THE SUSTAINABILITY OF COLD-PRESSED SAFFLOWER OIL

*Dino Vrban, 445-DI*

**Summary:** Safflower (*Chartamus tinctorius* L.) is a plant with a long history of cultivation that has been increasingly used in the production of edible oils. Of course, like any other vegetable oil, safflower oil is subject to oxidative changes that affect its nutritional value, as well as chemical and organoleptic properties.

In this study we investigated the sustainability of cold-pressed safflower oil with the addition of antioxidants from which olive extracts were used: HP $\beta$  CD, RAMEB CD, NATIVE, EKSCIPIJENS \*\* (HP $\beta$  CD), EKSCIPIJENS \*\* (RAMEB CD) at concentrations of 0.1% and 0.3%, and BHA (butylhydroxyanisole) and PG (Propyl galate) at a concentration of 0.01%. Oil's sustainability test was performed by the accelerated oil oxidation test, Schaal-oven test, at a temperature of 63 °C and the Rancimat test.

The stability of safflower oil is shown by peroxide number during four days of Schaal-oven testing. Examined antioxidants positively affect the sustainability of safflower oil. The highest effectiveness of safflower oil sustainability was demonstrated by PG at a concentration of 0.01% compared to other antioxidants. EKSCIPIJENS \*\* (RAMEB CD) at a concentration of 0.3% showed lower oil protection than other tested antioxidants.

**Key words:** safflower oil, antioxidants, oil sustainability, Schaal Oven test, Rancimat test

**Thesis contains:** 50 pages  
17 figures  
13 tables  
23 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

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

**Defense date:** October 9, 2018

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

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. JESTIVA BILJNA ULJA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>7</b>
2.2.1. Ulje šafranike.....	8
<b>2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>17</b>
2.4.1. Antioksidansi .....	17
2.4.2. Sinergisti.....	21
2.4.3. Prooksidansi .....	22
<b>2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA</b> .....	<b>24</b>
<b>2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA</b> .....	<b>28</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>31</b>
3.2.1. Materijali.....	31
3.2.1.1 Hladno prešano ulje šafranike .....	31
3.2.1.2 Antioksidansi .....	32
3.2.2. Metode rada.....	32
3.2.2.1 Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja .....	32
3.2.2.2 Priprema uzorka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti.....	34
3.2.2.3 Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Oven testom.....	36
3.2.2.4 Rancimat test.....	37
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>38</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>43</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>46</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>48</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

Abr	Anisidinski broj
BHA	Butil hidroksianisol
DG	Dodecil galat
EDTA	Etilendiamin tetra-octena kiselina
EMK	Esencijalne masne kiseline
HAH	Hrvatska agencija za hranu
IP	Indukcijski period
OG	Oktil galat
OV	Totox broj
Pbr	Peroksidni broj
PF	Zaštitni faktor
PG	Propil galat
PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
ZMK	Zasićene masne kiseline
SMK	Slobodne masne kiseline
TBHQ	Tercijarni butilhidrokinon
TBK	Test tiobarbiturne kiseline

## **1. UVOD**

Prešanje je postupak mehaničke ekstrakcije kojim se iz prethodno pripremljenih sirovina izdvaja ulje primjenom visokih tlakova. Ujedno je i najstariji način proizvodnje ulja, uz manji kapacitet prerade sirovine. Primjenom postupka prešanja na temperaturi do 50 °C dobivamo sirovo ulje koje sadrži uljni talog, krute čestice, nečistoće. Nadalje, takvo sirovo ulje je potrebno pročititi postupcima taloženja i filtracije kako bi kao krajnji produkt dobili hladno prešano ulje. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja koje uključuje pranje vodom, dekantiranje, filtriranje i centrifugiranje. Dobiveno hladno prešanje ulje je potrebno pravilno i adekvatno skladištiti kako ne bi došlo do njegovog kvarenja. Kako bi zaštitili ulje od kvarenja potrebno je poznavati oksidacijsku stabilnost ulja da bi što preciznije mogli definirati rok trajnosti ulja. Najčešće je oksidacijsko kvarenje ulja, a to je zapravo proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masne kiseline. Oksidacijsko kvarenje biljnih ulja tijekom primjene ili skladištenja dovodi do niza nepoželjnih reakcija poput polimerizacije, hidrolize, izomerizacije, ciklizacije i dr. (Dimić, 2005.). Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije i narušavanja njegovih senzorskih svojstava i kvalitete. Oksidacijska stabilnost ulja određuje se metodama koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja, od kojih se u praksi koriste Rancimat test, AOM test i Schaal Oven test.

Antioksidansi su tvari, najčešće prisutne u malim koncentracijama, koje usporavaju proces oksidacijskog kvarenja ulja i produžuju stabilnost, a mogu biti prirodni i sintetski.

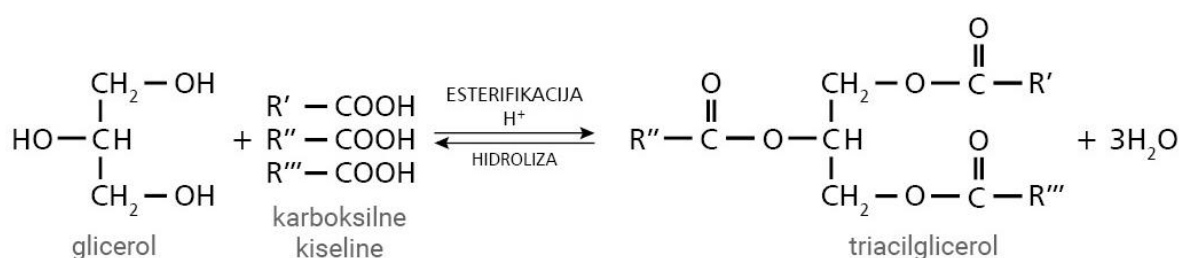
Zadatak ovog diplomskog rada je bio proizvedeno hladno prešano ulje šafranike na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek ispitati na osnovne parametre kvalitete i ispitati oksidacijsku stabilnost ulja sa i bez dodatka antioksidanasa. Na taj način utvrditi utjecaj dodatka pojedinog prirodnog i sintetskog antioksidansa na održivost hladno prešanog ulja šafranike. U radu je ispitivana održivost hladno prešanog ulja šafranike uz dodatak prirodnih antioksidansa od kojih su korišteni razni ekstrakti maslinove komine: HP $\beta$  CD, RAMEB CD, NATIVE, EKSCIPIJENS\*\* (HP $\beta$  CD), EKSCIPIJENS\*\* (RAMEB CD) u koncentracijama 0,1% i 0,3% te sintetski BHA (butil hidroksianisol) i PG (propil galat) u koncentraciji 0,01%. Test održivosti ulja šafranike proveden je testom ubrzane oksidacije ulja Schaal Oven testom, na temperaturi 63 °C u trajanju četiri dana.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Jestive masti i ulja pripadaju grupi spojeva koji imaju zajednički naziv lipidi (grč. lipos – masti). Masti i ulja su organski spojevi biljnog ili životinjskog podrijetla, netopljivi u vodi, ali topljivi u organskim otapalima, kao primjerice u heksanu. Prema kemijskom sastavu, masti i ulja su esteri alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina, tzv. triglicerida (triacilglicerola). Reaktivni dio molekule triglicerida su masne kiseline koje utječu na kemijska i fizikalna svojstva masti i ulja, pa prema tome masti koje sadrže više zasićenih masnih kiselina su pri sobnoj temperaturi u čvrstom agregatnom stanju, dok su ulja koja sadrže više nezasićenih masnih kiselina u tekućem agregatnom stanju.



**Slika 1** Reakcija sinteze estera triglicerida

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

- Jednostavne lipide;
- Složene lipide;
- Derivate lipida.

### Jednostavni lipidi

Jednostavni lipidi su trigliceridi masnih kiselina, koji se najčešće mogu naći u prirodi uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa, te voskova. Voskovi su esteri viših masnih kiselina i viših masnih alkohola (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.). Na **Slici 1** je prikazana reakcija nastajanja triglicerida.

### Složeni lipidi

Složeni lipidi obuhvaćaju fosfolipide, glikolipide, aminolipide, sulfolipide. Negliceridne sastojke prirodnih ulja čine voskovi, karoteni, fosfatidi, steroli, liposolubilni vitamini (A, D, E),

tokoferoli, pigmenti (klorofil, gosipol), aldehidi, ketoni, tragovi metala, masni alkoholi i glikozidi. U prirodnim uljima udio negliceridnih sastojaka je najčešće od 1 do 2%. Izuzetno, kod sojinog i pamukovog ulja taj udio je i do 3,5% (Oštrić-Matijašević i Turkuov, 1980.).

### **Derivati lipida**

Derivati lipida obuhvaćaju masne kiseline, ugljikovodike (karotene), sterole (alkohole), vitamin D, vitamin E (Swern, 1972.).

U prirodnim uljima i mastima dolazi jako veliki broj masnih kiselina, prevladavaju masne kiseline nerazgranatog lanca, s parnim brojem ugljikovih atoma i s jednom karboksilnom skupinom. Masne kiseline se međusobno razlikuju prema broju ugljikovih atoma u molekuli, zasićenosti ili nezasićenosti ugljikovog atoma te po broju i položaju dvostrukih veza. U molekuli svake masne kiseline (RCOOH) ima dva dijela: ugljikovodična skupina R i karboksilna skupina COOH. Karboksilna skupina je karakteristična po hidroksilnoj OH i karbonilnoj skupini C=O (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Masne kiseline se razlikuju prema:

- broju ugljikovih atoma u molekuli;
- zasićenosti (broju dvostrukih veza);
- esencijalnosti i neesencijalnosti;
- prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko nezasićene veze.

Podjela masnih kiselina s obzirom na broj ugljikovih atoma u ugljikovodičnom lancu:

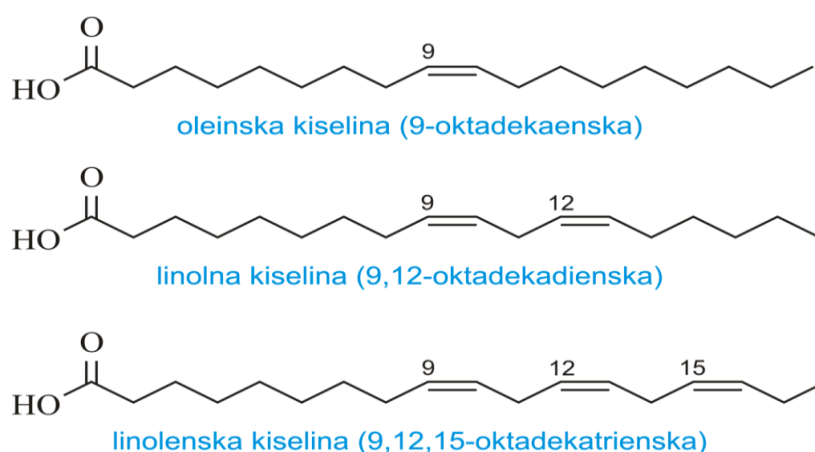
- masne kiseline kratkog lanca (do 8 ugljikovih atoma);
- masne kiseline srednjeg lanca (od 8 do 12 ugljikovih atoma);
- masne kiseline dugačkog lanca (više od 12 ugljikovih atoma).

Podjela masnih kiselina prema stupnju nezasićenosti:

- nezasićene masne kiseline (s jednom i više dvostrukih veza);
- zasićene masne kiseline (ne sadrže dvostruke veze).

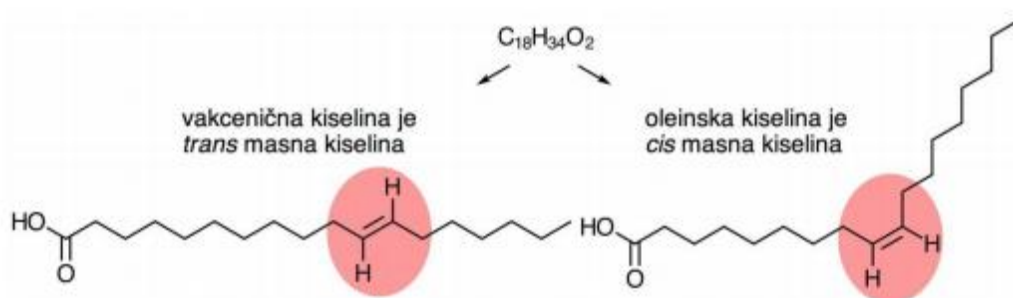
## Nezasićene masne kiseline

Ovisno o broju dvostrukih veza, dijele se na mononezasićene (imaju jednu dvostruku vezu) i polinezasićene (imaju dvije ili više dvostrukih veza). Oleinska kiselina je najčešće prisutna mononezasićena kiselina u biljnim uljima, te je manje podložna oksidaciji u odnosu na polinezasićene masne kiseline (Rade i Škevin, 2004.). Od polinezasićenih masnih kiselina su najčešće prisutne linolna (18 : 2,  $\omega$ -6), linolenska (18 : 3,  $\omega$ -3) i arahidonska kiselina (20 : 4,  $\omega$ -6) koje su ujedno i esencijalne masne kiseline (EMK).



**Slika 2** Nezasićene masne kiseline

Nezasićene masne kiseline mogu biti u cis i trans geometrijskom izomernom obliku. Prirodne nezasićene masne kiseline su u cis konfiguraciji, a trans konfiguracija nastaje tijekom procesiranja, zagrijavanja, te hidrogenacije biljnih ulja (O'Brien, 2004.). Trans nezasićene masne kiseline termodinamički su znatno stabilnije u odnosu na cis oblike. Kod hladno prešanih i nerafiniranih biljnih ulja trans izomera ne smije biti čak niti u tragovima, iz razloga što proces rafinacije nije primjenjivan kao ni primjena povišene temperature.



**Slika 3** Cis i trans konfiguracija masnih kiselina

## Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline (ZMK) su one kod kojih su svi ugljikovi atomi u lancu međusobno povezani jednostrukim vezama, te zasićeni vodikovim atomima. Najvažnije svojstvo im je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu, te ih u većem udjelu nalazimo u mastima životinjskog podrijetla koje su na sobnoj temperaturi u čvrstom stanju. Masne kiseline od C<sub>4</sub> do C<sub>22</sub> se nalaze u prirodnim uljima i mastima, dok masne kiseline s više od C<sub>24</sub> atoma dolaze u voskovima.

Povećanjem broja ugljikovih atoma u lancu masne kiseline raste i njihova točka topljenja. U biljnim i animalnim mastima najviše su zastupljene: laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska kiselina. Zasićene masne kiseline s neparnim brojem ugljikovih atoma se pojavljuju u tragovima u prirodnim mastima kao i masne kiseline s brojem ugljikovih atoma većim od C<sub>24</sub> (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Tablica 1** Najzastupljenije zasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv	Sistematsko ime	Formula
4	Maslačna	n-butanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
6	Kapronska	n-heksanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
8	Kaprilna	n-oktanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
10	Kaprinska	n-dekanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
12	Laurinska	n-dodekanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
14	Miristinska	n-tetradekanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
16	Palmitinska	n-heksadekanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
18	Stearinska	n-oktadekanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
20	Arahinska	n-eikosanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH
22	Behenska	n-dokosanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> COOH
24	Lignocerininska	n-tetrakosanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>22</sub> COOH
26	Cerotinska	n-heksakosanska	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>24</sub> COOH

## 2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

Za proizvodnju biljnih ulja koristi se veliki broj biljaka no samo njih 12 ima veći značaj u proizvodnji, pa prema tome ulja možemo podijeliti na sljedeći način:

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmينو ulje, avokado, i dr.
2. Ulja i masti iz sjemenki 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 (pamukovo ulje, palmino ulje);
  - ulje oleinske i linolne kiseline (ulje šafranike, suncokreta, sezama, repice, buče, kukuruznih klica);
  - ulja linolenske kiseline (*Camelina sativa* L., lan, konoplja).
3. Ulja prema porijeklu biljke:
- ulja iz leguminoza (soja, kikiriki);
  - Ulja krstašica (repica, gorušica).

### 2.2.1. Ulje šafranike

Šafranika (*Carthamus tinctorius* L.) je biljka koja je uzgajana još prije 4000 godina u Egiptu, također i stoljećima uzgajana u Indiji i zemljama Mediterana, a u novije vrijeme dosta raširena u SAD i Australiji. Hrvatski naziv šafranika je dobila zbog slične gastronomske upotrebe kao i šafran (*Crocus sativus* L.), kao čija zamjena se najčešće i koristi. Prženjem sjemenki šafranike nastaje fina aroma i okus slično kikiriki i orahovom maslacu.



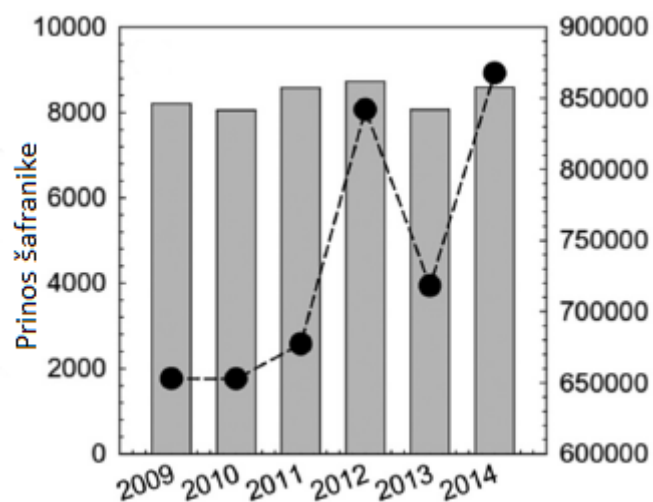
Slika 4 Šafranika (*Carthamus tinctorius* L.)

Jednogodišnja grmolika biljka iz porodice glavočika čija uspravna, razgranata stabljika doseže visinu do 1,5 m. Karakteriziraju je kožasti, jajoliki i nazubljeni tamnozeleni listovi, a krasi ju cvijet žute do narančaste boje koji sušenjem prelazi u crvenu boju. Od cvjetova se može dobiti žuta boja za bojanje tkanine, pa je prema tome naziv roda *Carthamus*, kojem pripada šafranika, dobio ime koje potječe iz arapske riječi *karthami* što znači bojiti. Broj cvjetova po cvatu (promjera 10 – 35 mm) biljke može biti i do 100, od čega svaki cvijet daje plod u obliku sjemena koje nalikuje sjemenu suncokreta. Biljka cvate od srpnja pa sve do rujna. Razmnožava se sjemenom koje brzo klija, te traži puno sunca s dubokom i dobro dreniranom zemljom. Može biti uzgajana gotovo u svim dijelovima svijeta u raznovrsnim okruženjima radi njezine sposobnosti da se odupre suši, snažnim vjetrovima, olujama i poplavama. Vretenasti korijen ove biljke, čini ju idealnim usjevom za sušno poljoprivredno zemljište ili područja s sezonskim oborinama.



**Slika 5** Sjemenke šafranike

Pojedina biljka može imati prinos od 1000 do 2500 sjemenki. Prinos sjemenki ovisi o klimatskim uvjetima, pa će tako u sušnom razdoblju prinos biti oko 400 kg/ha a tijekom razdoblja navodnjavanja i do 5 t/ha (Patterson, 1989.). Pri uobičajenim uvjetima uzgoja prinos sjemena varira u širokom rasponu od 549 kg/ha u Indiji, do 1786 kg/ha u SAD, dok je ukupna svjetska proizvodnja šafranike 1995. godine iznosila 900 000 t, od čega je u Indiji proizvedeno 460 000 t. Iste godine u zemljama EU je proizvedeno oko 10 000 t (Bockisch, 1998; Hui, 1996.).



**Slika 6** Porast proizvodnje šafranike od 2009. do 2014. godine (FAOSTAT, 2015.)

Ranije komercijalne sorte šafranike su imale udio ulja oko 30%, a čak 70% je bio udio ljuske u sjemenu. Kod novih sorti udio ljuske u sjemenu je smanjen do ispod 45%, a sadržaj ulja je povećan i kreće se od 35 do 55%. Sadržaj proteina u sjemenu šafranike iznosi od 17 do 25% (Patterson, 1989; Hui, 1996; Bockisch, 1998).

Sjemenke šafranike se moraju skladištiti u suhim uvjetima s optimalnim udjelom vlage od 5 do 8%. U silos se može stavljati samo sjeme koje ima udio vlage ispod 5%, a u manjim skladištima sjeme i do 8% udjela vlage. Sjeme se kod prerade djelomično ljušti. S obzirom da je ljuska veoma čvrsta, ljuštenje je otežano. Ljuska se koristi za proizvodnju celuloze i izolacijskog materijala (Bockisch, 1998.).

**Tablica 2** Sastav i fizikalno-kemijska svojstva ulja sjemenki šafranike

Pokazatelj	Bockisch	Hui	H.L.S kompanija
Relativna zapreminska masa (t °/voda t °C)	t = 25 0,919 – 0,924	t = 20 0,922 – 0,927	t = 15 0,925 – 0,928
Indeks refrakcije ( $n_D^t$ )	t = 25 1,473 – 1,467	t = 40 1,467 – 1,470	t = 40 1,467 – 1,469
Jodni broj (g/100g)	141 – 147	130 – 150	140 – 150
Saponifikacijski broj (mgKOH/g)	186 – 194	186 – 198	188 – 194
<b>Sastav masnih kiselina (% m/m)</b>			
C <sub>16:0</sub> – palmitinska	4 – 6	2 – 10	4
C <sub>18:0</sub> – stearinska	1 – 2	1 – 10	3
C <sub>18:1</sub> – oleinska	12 – 16	7 – 42	20
C <sub>18:2</sub> – linolna	75 – 79	55 – 81	70
C <sub>18:3</sub> – linolenska	0	<1	-



Ulje sjemenki šafranike je zlatnožute boje, pogodnih senzorskih svojstava. Boja ulja potječe od  $\beta$ -karotena, čiji se sadržaj kreće oko 13 mg/kg. U ulju su prisutni i tokoferoli, pretežno u  $\alpha$  obliku u količini od oko 400 mg/kg (Patterson, 1989.).

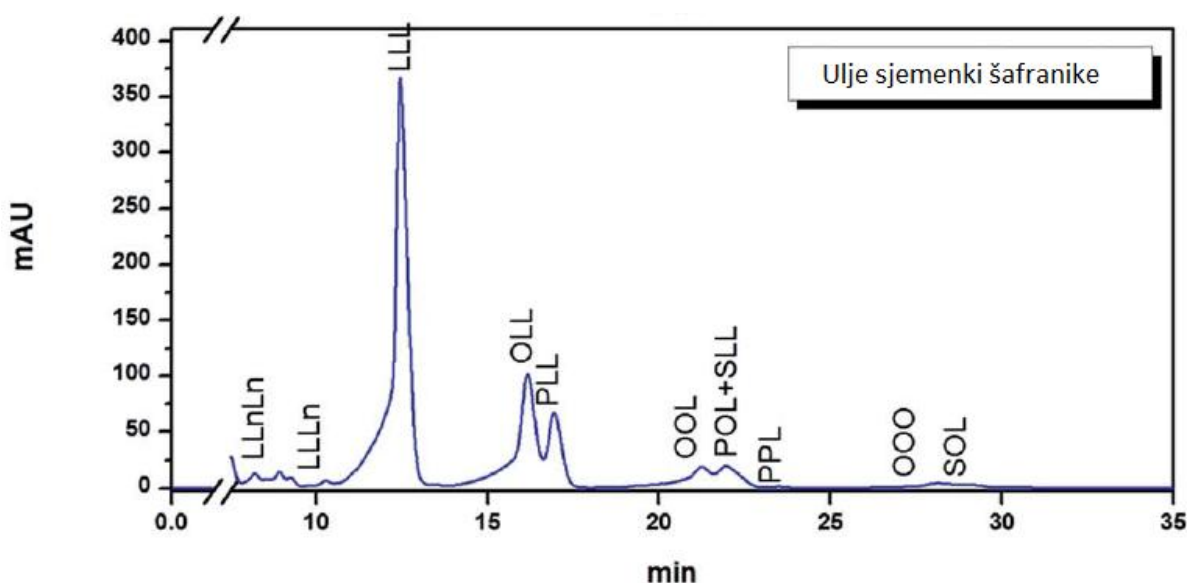
Do danas su selekcijama sorti stvorena dva tipa ulja šafranike:

- ulje šafranike linolnog tipa bogato omega-6 masnim kiselinama;
- ulje šafranike oleinskog tipa bogato omega-9 masnim kiselinama.

U odnosu na sva druga komercijalno jestiva ulja, ulje šafranike ima najveći sadržaj esencijalne linolne kiseline čiji sadržaj može iznositi i do 80%. Zbog visokog sadržaja linolne kiseline održivost ulja šafranike je slaba, pa je stoga potrebno ulje držati na hladnom mjestu nakon otvaranja, te što prije upotrijebiti. Nadalje, selekcionirane su i nove sorte šafranike sa srednjim udjelom oleinske kiseline do 60%, kao i sorte sa visokim sadržajem od 76 do 81% zbog sve većih zahtjeva potrošača za uljima koja imaju manji stupanj nezasićenosti.

Ranija istraživanja na životinjama su pokazala da ulje šafranike utječe na način da smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti, pa tako i na razinu lipida u krvi zbog visokog udjela oleinske, linolne i linolenske kiseline (Topkafa, 2016.).

U studiji provedenoj 2016. godine na sveučilištu Selcuk u Turskoj kromatografski je određeno deset triglicerida (LLnLn, LLnL, LLL, OLL, PLL, OOL, POL, SLL, PPL, OOO, SOL; naziv triglicerida je skraćen pomoću Ln, L, O, P i S koji predstavljaju kratice linolenske, linolne, oleinske, palmitinske i stearinske kiseline) u ulju sjemena šafranike uzgojenog u Turskoj.



**Slika 7** Sadržaj triglicerida u ulju šafranike turskog podrijetla (Topkafa, 2016.)

Na **Slici 7** je vidljivo kako ulje šafranike ima uvjerljivo najveći udio triglicerida koji se sastoji od linolne kiseline, iz čega možemo povezati zaključak za raniju tvrdnju da zbog visokog udjela iste kiseline, održivost ulja je znatno slabija u odnosu na druga ulja. Također potvrđuje tvrdnju da zbog visokog sadržaja linolne, oleinske i linolenske kiseline se smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti.

Učinci smanjenja razine kolesterola su uglavnom posljedica prisutnosti serotoninskih derivata, flavona i lignina u ulju šafranike. Navedeni polifenoli također poboljšavaju cjelokupnu razinu lipida u organizmu koja može biti slabija zbog nedostatka estrogena. Serotonin u ekstraktu sjemena šafranike sprječava oksidaciju LDL-a i time aterosklerozu (Koyama i sur., 2009).

### **2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA**

Biljna ulja su proizvodi podložni raznim nepoželjnim promjenama, pa se u njima događaju kemijski, enzimski i mikrobiološki procesi koji ograničavaju njegovu trajnost, odnosno uzrokuju kvarenje ulja. Do koje vrste kvarenja će doći i koliko intenzivno će ono biti ovisi o vrsti ulja i njegovoj kvaliteti, te o uvjetima čuvanja. Svi ti nepoželjni procesi narušavaju organoleptička svojstva ulja, te smanjuju nutritivnu vrijednost jer dolazi do gubitka aktivnih tvari kao što su vitamini, provitamini, esencijalne masne kiseline. Pri tome, nastaju i nepoželjni spojevi poput peroksida i polimera. Da bismo spriječili kvarenje ulja, potrebno je u svakoj fazi provoditi kontrolne mjere počevši već od žetve sirovine, skladištenja sjemena, proizvodnje ulja, pa sve do skladištenja gotovog proizvoda (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Kvarenja biljnih ulja uzrokovana kemijskim procesima su:

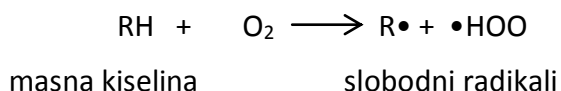
- autooksidacija;
- termooksidacijske promjene;
- reverzija.

### Autooksidacija masti i ulja

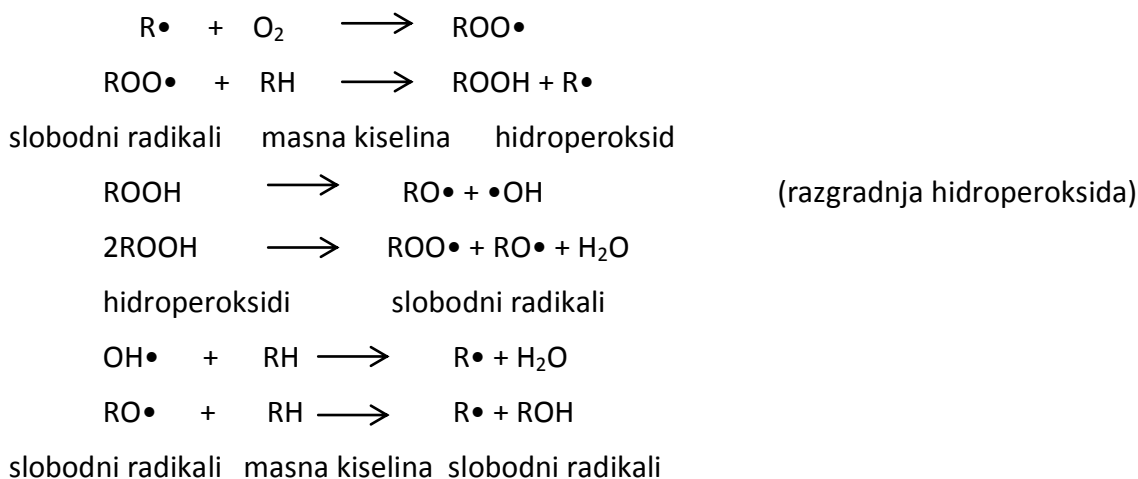
Kvarenje biljnih ulja uzrokovano procesom oksidacije je najčešći tip kvarenja svih biljnih ulja i proizvoda u kojima se nalaze ulja. Predstavlja proces djelovanja kisika na dvostruke veze nezasićenog lanca masne kiseline uz nastajanja slobodnih radikala. Brzina procesa ovisi o vrsti i kvaliteti ulja, sastavu masnih kiselina, uvjetima skladištenja, načinu obrade ulja, temperaturi i svjetlosti te prisustvu sastojaka koji ove procese ubrzavaju ili usporavaju (metalni ioni, otopljeni kisik, antioksidansi, pigmenti).

U procesu autooksidacije nastaju primarni i sekundarni produkti. Primarni produkti su hidroperoksidi, a sekundarni: aldehidi, ketoni, kiseline, alkoholi i dr. Nastaju razgradnjom primarnih produkata oksidacije, te daju neugodan, užegnut miris i okus uljima čak i u vrlo malim koncentracijama. Većina ovih spojeva je reaktivna i uzrokuje nove lančane reakcije oksidacije *in vivo* (Shahidi, 1997.). U nastavku je prikazan mehanizam autooksidacije uz nastale produkte (Oštić- Matijašević i Turkulov, 1980.).

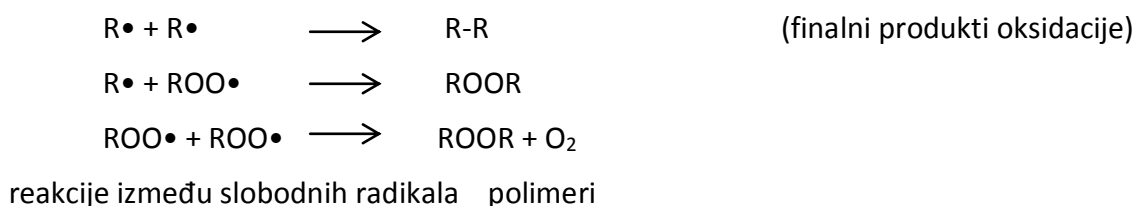
#### Početak reakcije: (1)



#### Tok reakcije: (2)



#### Završetak reakcije: (3)



### Termooksidacijske promjene

Do navedenih promjena dolazi prilikom zagrijavanja ulja na visokim temperaturama, većim od 150 °C, uz prisustvo zraka i vodene pare. Stupanj termooksidacijskih promjena ovisi o vrsti ulja, postignutoj temperaturi i vremenu izloženosti temperaturi. Prilikom zagrijavanja ulja pri povišenim temperaturama, nakon određenog vremena, dolazi do nastanka produkata oksidacije hidroperoksida i njihovih razgradnih produkata. Međutim, ponajviše nastaju produkti termooksidacije kao što su cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri triglicerida, oksipolimeri i veliki broj ostalih spojeva. Povećanjem stupnja nezasićenosti rezultira porastom broja nastalih produkata termooksidacije. Ulja koja sadrže linolnu kiselinu iznad 50% puno brže podliježu promjenama, jer je stvaranje ranije navedenih produkata veoma brzo. Nakon 10 do 20 sati zagrijavanja pri 170 do 180 °C ulja postaju neupotrebljiva, pa se stoga preporučuje da za prženje hrane budu korištena ulja koja imaju niži sadržaj linolne kiseline, kako bi stupanj termooksidacijskih promjena bio što niži. Cikličke masne kiseline i polimeri su nepoželjni produkti termooksidacije, pa je potrebno provoditi kontrolu ulja tijekom prženja, te ukoliko se utvrde promjene u ulju potrebno ga je zamijeniti svježim. Proizvod tijekom prženja apsorbira 25 do 40% ulja i nije svejedno kakva kvaliteta ulja će se naći u proizvodu poslije prženja.

Termooksidacija uzrokuje promjene u izgledu i sastavu ulja (tamnija boja, porast viskoznosti), dok se druge promjene određuju kemijskim i fizikalnim metodama. Najpouzdanija metoda za određivanje dimera i polimera tijekom zagrijavanja je određivanje jednog broja, odnosno praćenje njegovog pada. Tijekom termooksidacijskih promjena se povisuje udio slobodnih masnih kiselina, broj osapunjenja i peroksidni broj, a kad se jodni broj snizi za 5 %, ulje se gotovo sigurno više ne smije koristiti za prženje hrane.

Da bi se spriječile termooksidacijske promjene ulja primjenjuju se aditivi koji su u pojedinim zemljama dozvoljeni. Najčešće se koriste silikoni. Primjena ovog aditiva još uvijek je upitna (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

## Reverzija

Pojava, karakteristična za neka ulja, kod kojih se poslije kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan miris (na sirovinu, riblji, koji je osobito naglašen pri zagrijavanju ulja). Najčešće se javlja u ulju soje i uljane repice. Unatoč intenzivnom radu uzrok reverzije još uvijek nije potpuno poznat, kao ni njegovo sprječavanje. Utvrđeno je, da miris reverzije nije posljedica autooksidacije ulja, jer se miris karakterističan za reverziju bitno razlikuje od mirisa oksidiranih, užeglih ulja.

U praksi su poznata dva načina, koja u određenoj mjeri, ublažavaju problem reverzije:

- pravilan odabir uvjeta rafinacije da bi se dobilo kvalitetno ulje i dodatak limunske kiseline;
- djelomična selektivna hidrogenacija da se ukloni linolna kiselina.

Pojavu reverzije znatno ubrzava i svjetlo, pa je potrebno ulje pakirati u ambalažu koja ga štiti od utjecaja svjetla. Ovi postupci nisu riješili problem reverzije, ali ga jesu ublažili (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

## Mikrobiološki i enzimski procesi koji dovode do kvarenja ulja

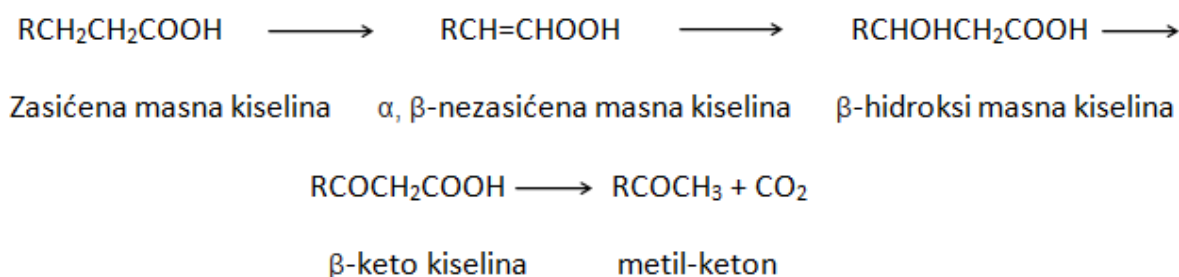
Ovu vrstu kvarenja uzrokuju mikroorganizmi i enzimi ukoliko postoje odgovarajući uvjeti za njihovo djelovanje (vlažnost, temperatura, pH vrijednost). Proces koji uzrokuju enzimi bitno se razlikuju od onih do kojih dolazi djelovanjem mikroorganizama. Kvarenje ulja u sirovinama uglavnom je uzrokovano prirodno prisutnim enzimima u biljkama. Disanjem sjemena oslobađa se toplina, što povećava temperaturu i aktivnost autohtonih enzima. Mikrobiološki i enzimski procesi kvarenja se dijele na  $\beta$ -ketooksidaciju i hidrolitičku razgradnju. Značajni su za neka ulja i proizvode s visokim sadržajem ulja i masti (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

## $\beta$ -ketooksidacija

Mikrobiološki proces kvarenja ulja kojeg uzrokuju:

- plijesni (*Aspergillus* i *Penicillium*);
- bakterije (*Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*).

Ova vrsta kvarenja je karakteristična za masti i ulja kojima u sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca, pri čemu nastaju  $\beta$ -keto kiseline kao primarni produkt i metil ketoni kao sekundarni produkti reakcije. Mikroorganizmi, u prisustvu kisika iz zraka, napadaju zasićene masne kiseline i to metilensku skupinu u  $\beta$ -položaju prema karboksilnoj skupini. Metil ketoni i pri malim koncentracijama narušavaju organoleptička svojstva ulja i masti.  $\beta$ -ketoooksidaciju je moguće spriječiti pasterizacijom, sterilizacijom, snižavanjem pH vrijednosti ispod 5 te primjenom aditiva ili konzervanasa.



**Slika 8** Proces  $\beta$ -ketoooksidacije

Ukoliko je prisutna voda, iz  $\beta$ -keto kiseline mogu nastati i dvije masne kiseline umjesto metil ketona.

Djelovanjem nekih vrsta mikroorganizama, koji uzrokuju ovu vrstu kvarenja, stvaraju se i pigmenti (žuti, crveni, plavo-zeleni) što ima za posljedicu „obojenje“ masti. U praksi je česta pojava „ružičaste“ masti uz neugodan miris i okus (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### Hidrolitička razgradnja

Reakcija hidrolize triglicerida djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisustvo vode i povišene temperature. Hidrolizom se cijepa esterska veza masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triglicerida, što dovodi do nastanka slobodnih masnih kiselina (SMK). Slobodne masne kiseline povećavaju kiselost ulja, te nastanak diglicerida, monoglicerida i glicerola. Inaktivacija lipolitičkih enzima se postiže temperaturama višim od 80 °C ili nižim od -20 °C, pri ovim temperaturama je zaustavljen proces hidrolitičke razgradnje ulja (Rade i sur., 2001.).

Stupaj nastalih hidrolitičkih promjena se prati određivanjem SMK u ulju. U rafiniranim uljima slobodnih masnih kiselina može biti do 0,3% izraženih kao postotak oleinske kiseline (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

Važno je spriječiti povećanje sadržaja SMK u ulju sjemena, budući da se višak SMK mora ukloniti u procesu rafinacije. Tijekom neutralizacije, faze rafinacije uklanjaju se SMK, te se gubi i određena količina neutralnog ulja, iskorištenje na jestivom ulju je smanjeno. Stoga je važno spriječiti porast SMK u sjemenu uljarica (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

## **2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA**

Oksidacijska stabilnost biljnih ulja ovisi ponajviše o sastavu masnih kiselina, jer su polinezasićene puno reaktivnije i sklonije oksidaciji, od mononezasićenih i zasićenih masnih kiselina. Također ovisi i o raspodjeli masnih kiselina u molekuli triglicerida, kao i o prisutnosti različitih komponenti u ulju koje mogu utjecati nepovoljno na održivost ulja (SMK, metali i sl.) i koje mogu utjecati povoljno (tokoferoli, karotenoidi, fenolne skupine i sl.). Stabilnost, odnosno otpornost biljnih ulja prema oksidacijskom kvarenju može se poboljšati dodatkom antioksidanasa, a to su tvari koje inhibiraju autooksidacijsko kvarenje ulja. Do danas je poznat velik broj prirodnih i sintetskih antioksidansa koji se koriste kao inhibitori autooksidacije biljnih ulja. Na zaustavljanje oksidacije ulja najvažniju ulogu imaju tvari koje deaktiviraju slobodne radikale.

### **2.4.1. Antioksidansi**

Antioksidansi su tvari koje, prisutne u vrlo malim koncentracijama, produljuju održivost biljnih ulja i usporavaju oksidacijsko kvaranje. Poznat je veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste. Djelovanje antioksidansa ovisi o:

- vremenu kada će se dodati;
- sastavu masnih kiselina u ulju;
- udjelu antioksidansa već prisutnih u ulju;
- svojstvima antioksidansa;
- dodanoj koncentraciji antioksidansa;
- uvjetima čuvanja ulja.

Antioksidans ima zaštitno djelovanje sve dok se ne potroši njegova cjelokupna količina prisutna u ulju. Antioksidacijsko djelovanje antioksidansa se može odrediti preko

stabilizacijskog ili zaštitnog faktora (PF). Zaštitni faktor pokazuje koliko se puta povećava održivost ulja dodatkom odgovarajućeg antioksidansa.

$$\text{Zaštitni faktor (PF)} = IP_x / IP_k \quad (4)$$

$IP_x$  – indukcijski period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa (h)

$IP_k$  – indukcijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h)

Vrijeme indukcije predstavlja broj sati potrebnih da ulje postigne peroksidni broj od 5 mmol  $O_2$ /kg.

Povećanje koncentracije antioksidansa, u nekim slučajevima, povećava održivost ulja, dok u drugim djeluju u smjeru smanjenja oksidacijske stabilnosti (Bandoniene i sur., 2000.).

Antioksidansi mogu djelovati u različitim fazama, jednoj ili više njih, oksidacijskog kvarenja od kojih su:

- inicijacija autooksidacije;
- propagacija autooksidacije;
- stvaranje singlet kisika;
- razaranje hidroperoksida na kratkolančane spojeve neugodnog mirisa i okusa;
- stadiji u kojem se radikali peroksida i hidroperoksida pregrađuju i daju izomerne spojeve (razgradni produkti neugodnog okusa).

Prema mehanizmu njihovog djelovanja antioksidanse dijelimo na:

- primarne;
- sekundarne.

Primarni antioksidansi rade na principu radikal-akceptora ili tzv. „hvatača“ radikala, tj. doniraju vodikov atom slobodnom radikalu ili idu u reakciju zajedno sa slobodnim radikalima stvarajući stabilan inaktivni produkt koji se ne može uključiti u proces oksidacije. U fazi inicijacije „hvataju“ alkil radikale ( $R\bullet$ ), te u fazi propagacije hvataju peroksi radikale ( $ROO\bullet$ ). Antioksidansi imaju vodikov atom kojeg daju slobodnom radikalu ili reagiraju zajedno s radikalima. Konačni produkti su stabilni, te ne ulaze u proces oksidacije. Indukcijski period je vrijeme kada nastaju slobodni radikali, a antioksidansi djeluju.





AH – amini ili fenoli, B – polinezasićeni spojevi poput  $\beta$ -karotena

**Tablica 3.** Skupina primarnih antioksidanasa

Prirodni antioksidansi	Sintetski antioksidansi
Karotenoidi	Butil hidroksianisol
Flavonoidi	Buti hidroksitoluen
Fenolne kiseline	Etoksiquin
Tokoferoli i tokotrienoli	Propil galat
	Tercijarni butilhidrokinon

Sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidacijsku aktivnost u prisustvu neke druge manje komponente, kao primjerice limunska kiselina postaje aktivna kada postoji prisutnost metalnih iona, dok askorbinska kiselina u prisustvu tokoferola. U ovu skupinu antioksidansa se ubrajaju: EDTA (etilendiamin tetra-octena kiselina), fosforna kiselina, limunska kiselina i neke aminokiseline. Koriste se i u kombinaciji s primarnim antioksidansima.

Antioksidanse također dijelimo i prema podrijetlu:

- prirodni antioksidansi;
- sintetski antioksidansi.

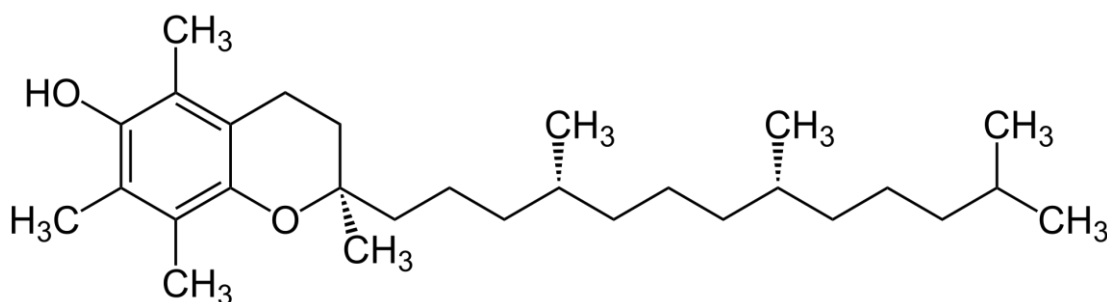
### Prirodni antioksidansi

Nalazimo ih među aminokiselinama i dipeptidima, među proteinima topljivim u vodi, hidrolizatima proteina, fosfolipidima, tokoferolima i njihovim derivatima, karotenoidima, askorbinska kiselina, anorganskim solima i dr.

Od prirodnih antioksidansa najpoznatiji su i najčešće primjenjivani tokoli, koji uključuju tokoferole i tokotrienole. Tokoferoli su prirodno prisutni u svim mastima i uljima kao neosapunjive frakcije, dok su prema kemijskom sastavu molekularni ciklički alkoholi, metil derivati alkohola tokola. Poznato je osam tokola, od čega četiri tokoferola koji se razlikuju

prema rasporedu metilnih skupina i četiri tokotrienola koji su slični tokoferolima, samo što za razliku od tokoferola posjeduju tri nezasićene veze u lancu. Tokoli se u biljnim uljima prirodno nalaze u koncentraciji od 200 do 800 ppm. Najznačajniji tokoferoli su  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol i  $\delta$ -tokoferol. Razlikuju se po antioksidacijskom i biološkom djelovanju, te imaju izomere koji se razlikuju brojem i položajem metilne skupine na pobočnom lancu.

Najbolje vitaminsko djelovanje ima  $\alpha$  – tokoferol, prikazan na **Slici 9**, koji je dobio naziv vitamin E. Vitamin E se degradira na povišenoj temperaturi i u prisustvu UV svjetlosti.  $\alpha$ -tokoferol štiti nezasićene masne kiseline od procesa oksidacije i sprječava stvaranje slobodnih radikala. Koncentrati tokoferola se dobivaju iz prirodnih ulja, te dodani u velikim količinama mogu imati djelovanje i kao prooksidansi. Najbolje antioksidacijsko djelovanje pokazuju  $\gamma$  – tokoferol i  $\delta$  – tokoferol, dok tokotrienoli imaju generalno snažnije antioksidacijskom djelovanje od tokoferola.



**Slika 9**  $\alpha$ -tokoferol

U prirodne antioksidanse također ubrajamo i biljne ekstrakte (ekstrakt sjemenki grožđa, češnjaka, zelenog čaja, ružmarina i dr.).

### Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi su uglavnom fenoli koji se dobivaju kemijskim putem i prirodno se ne nalaze u hrani. Ubrajamo ih u skupinu aditiva, stoga je njihovo dodavanje u hranu strogo propisano i kontrolirano Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 62/2010.

Najpoznatiji i najviše korišteni sintetski antioksidansi, prikazani u **Tablici 4** uz fizikalna svojstva, su: butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), esteri galne kiseline: propil galat (PG), butil galat (BG), oktil galat (OG), dodecil galat (DG), te tercijarni butilhidrokinon (TBHQ) (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Tablica 4** Fizikalna svojstva sintetskih antioksidansa (Shahidi, 2005.)

Svojstva	BHA	BHT	Dodecil galat (DG)	Propil galat (PG)	TBHQ
Izgled	Čvrst kao vosak	Bijeli kristal	Bijeli kristal	Bijeli kristal	Bjelkasti-žučkastosmeđi kristali
Vrelište	264 – 270	265	-	Iznad 148 se razgrađuje	300
Talište	50 – 52	69 – 70	146 – 148	146 – 148	126 – 128
Kukuruzno ulje	30	30	0	0	5 – 10
Glicerol	1	0	-	25	<1
Svinjska mast	30 – 40	50	-	1	5 – 10
Voda	0	0	<1	<1	<1
Sinergizam	BHT, galati	BHA	BHA	BHA	-

BHA – E320 – ima dobru topljivost u mastima te stabilnost u prženim i pečenim proizvodima. Bolju učinkovitost ima prema životinjskim mastima u odnosu na biljna ulja. Ima sinergističko djelovanje sa butiliranim hidroksitoluenom i propil galatom. Može se koristiti u koncentraciji od maksimalno 200 ppm.

PG – E310 – manja mu je topljivost u odnosu na BHA i BHT. Budući da se gubi njegova djelotvornost pri temperaturama iznad 148 °C, nije pogodan za ulja koja se koriste za prženje. Najčešći je galat koji se koristi, te se može dodati u maksimalnoj koncentraciji od 100 ppm. Ima dobru učinkovitost u kombinaciji s BHA.

#### 2.4.2. Sinergisti

Kemijski spojevi koji ne posjeduju antioksidacijsko djelovanje, no dodani uz neke antioksidanse produljuju njihovo djelovanje do čak 3 puta. Najčešće korišteni sinergisti uz antioksidanse su:

- limunska;
- askorbinska;
- octena kiselina;

- monoizopropil citrat;
- askorbil palmitat i
- lecitin.

Valja napomenuti da ne odgovara nužno svaki sinergist svakom antioksidansu, već je moguće da određeni sinergisti uz antioksidanse djeluju nepovoljno, te ubrzavaju proces autooksidacije.

Postoje tri načina djelovanja sinergista:

- vežu tragove metala – inaktiviraju ih i isključuju njihovo prooksidacijsko djelovanje na proces autooksidacije;
- daju H atom antioksidansu, reduciraju ga i time regeneriraju, te produžuju vrijeme njegova trajanja;
- sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida, sinergisti se vežu s radikalom antioksidansa i sprječavaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### 2.4.3. Prooksidansi

Čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije, odnosno skraćuju induksijski period autooksidacije ili ga potpuno uklanjaju i kataliziraju proces oksidacije. Neki od najčešćih prooksidanasa kao uzroka kvarenja ulja i masti su:

- temperatura;
- svjetlo;
- tragovi metala (Cu, Fe, Ni i dr.);
- pigmenti.

Prisustvo samo jednog od ovih prooksidanasa znatno ubrzava autooksidaciju, stoga je potrebno masti i ulja čuvati na hladnom, oko 5 °C, na tamnom uz odgovarajuću ambalažu i skladištenje, te da ulje ne sadrži tragove metala (što se postiže pravilnim vođenjem procesa rafinacije). Važno je i da mast ima nizak peroksidni broj (<1), da ne sadrži sekundarne produkte oksidacije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### Temperatura

Porastom temperature proces autooksidacije se ubrzava, a sniženjem smanjuje, ali se nikada ne može u potpunosti spriječiti. Proces autooksidacije se događa čak i pri temperaturama nižim od -20 °C. Upravo to je razlog zbog kojeg određeni proizvodi užegnu čak i nakon nekog vremena čuvanja pri niskim temperaturama.

Povišena temperatura ubrzava i djelovanje kisika na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida. Utjecaj temperature na brzinu oksidacije osobito je izražen kod biljnih ulja koja imaju visoki sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (Oštrić-Matijašević, 1980.).

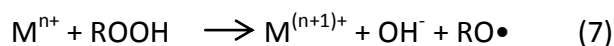
### Svjetlost

Svjetlost kraće valne duljine (< 380 nm) u većoj mjeri ubrzava oksidaciju, jer pospješuje reakciju autooksidacije te razgradnju hidroperoksida. Za održivost jestivih ulja i masti važan je utjecaj i vidljivog dijela spektra koji opet djeluje u smjeru ubrzavanja autooksidacije, ali ipak u manjoj mjeri u usporedbi s nižim valnim duljinama.

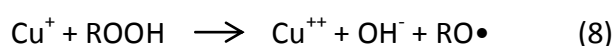
Jedan od načina za sprječavanje utjecaja svjetla na autooksidaciju i povećanje održivosti ulja je pakiranje ulja u ambalažu nepropusnu na svjetlo (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### Tragovi metala

Metali prisutni i u vrlo malim koncentracijama su izraziti prooksidansi. Dovoljan je 0,1 ppm Cu ili 1 ppm Fe za smanjenje održivosti ulja na više od pola. Tragovi metala djeluju kao prooksidansi samo u slučaju kada su već nastali hidroperoksidi. Kod djelovanja iona metala na hidroperokside dolazi do stvaranja hidroksi iona i slobodnih radikala.



ili u slučaju bakra (Cu)

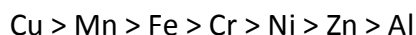


Može doći i do redukcije metala:



Slobodni radikali nastali u ovim reakcijama nastavljaju lančanu reakciju oksidacije ulja.

Prooksidacijsko djelovanje pojedinih metala nije isto:



Budući da su u ulju redovito prisutni tragovi metala (osobito Cu i Fe), njihov negativan utjecaj se može spriječiti dodatkom kemijskih spojeva, inaktivatora metala, koji vežu tragove metala u komplekse. Ovi spojevi su poznati pod nazivom helati. Stvaraju s metalom cikličku strukturu, u kojoj je metal vezan između dva atoma jedne molekule. Ion metala, vezan na ovakav način djeluje katalitički na razgradnju hidroperoksida. Poznati inaktivatori metala su: limunska, askorbinska i fosforna kiselina, lecitin i dr. (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### **Pigmenti**

Pigmenti poput klorofila i hem spojeva su izraziti prooksidansi biljnih ulja ili proizvoda koji sadrže ove pigmente. Sastavni su dio određenih proizvoda poput koncentratu juha, proizvoda od mesa i slično, pa nije moguće isključiti njihov prooksidacijski utjecaj. Zbog toga se kod izrade ovih proizvoda, mora koristiti mast koja ima  $P_{br} < 1$  i dobru održivost (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

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

Poznat je veliki broj metoda za određivanje stupnja oksidacije ulja. Poznavanje stupnja oksidacije važno je kako bi se što preciznije i pouzdanije odredila kvaliteta ulja, na temelju čega se procjenjuje može li se ulje koristiti u prehrani, te koliko dugo se može skladištiti. Ne postoji jedna metoda koja može dati dovoljno precizne i točne podatke o stupnju oksidacije ulja. Iz tog razloga se istovremeno primjenjuje više metoda i na bazi dobivenih rezultata se dobiva uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena. Metode koje se primjenjuju za određivanje održivosti ulja rade na principu ubrzane oksidacije ulja pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces.

Metode koje se koriste za određivanje stupnja oksidacijskih promjena dijele se na:

- fizikalne metode;
- kemijske metode;
- organoleptičke metode.

### Fizikalne metode

UV spektrofotometrija je fizikalna metoda koja se temelji na praćenju ovisnosti apsorbancije o valnoj duljini zračenja koje je prošlo kroz analiziranu otopinu. Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u UV području zračenja. Maksimum apsorbancije na 232 nm pokazuju primarni produkti oksidacije, dok sekundarni produkti pokazuju maksimum na 270 nm, te je njihov odnos izražen kao R vrijednost:

$$R - \text{vrijednost} = A_{232 \text{ nm}} / A_{270 \text{ nm}} \quad (10)$$

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

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

Ulje je lošije kvalitete što je vrijednost R niža. Navedena metoda se primjenjuje za određivanje oksidacijskog stupnja kod sirovih ulja.

Pomoću plinske kromatografije određuju se aldehidi, u prvom redu aldehyd 3-cis heksanal, koji je nositelji neugodnog mirisa po užegloj masti. Moguće ih je odrediti ukoliko je njihov sadržaj veći od 1 ppm. Metoda se koristi sve češće za praćenje oksidacijskih promjena nezasićenih masnih kiselina, uspješna je za čista ulja i masti, dok je praćenje kompleksnih lipidnih sustava ovom metodom otežano. Ostale fizikalne metode se primjenjuju za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja, koji su prikazani u **Tablici 5**.

**Tablica 5** 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
Nuklearna magnetna rezonancija (NMR)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi i ketoni
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehidi i sekundarni spojevi
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri i polarni spojevi

## Kemijske metode

Podjela kemijskih metoda kojima se određuje stupanj oksidacijskih promjena masti su:

- metode kojima se određuju primarni produkti oksidacije, tj. hidroperoksidi;
- metode kojima se određuju sekundarni produkti oksidacije nastali razgradnjom hidroperoksida.

Kemijske metode, navedene u **Tablici 6**, koje se najčešće primjenjuju za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja.

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

Kemijska metoda	Ispitivani parametri
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehidi
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbolnilni spojevi
Kreis test	Epoksaldehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj	Ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije

### Peroksidni broj

Slovi za jednu od najstarijih i najčešće primjenjivanih metoda za ispitivanje oksidacijskog stupnja masti. Ovom metodom se određuju primarni produkti oksidacije. Za određivanje sadržaja peroksida najčešće se koristi Lea i Wheeler metoda. To su jodometrijske metode koje se temelje na određivanju količine joda kojeg, iz kalijevog jodida oslobađaju peroksidi. Peroksidni broj rafiniranih ulja nakon procesa dezodorizacije mora biti 0 mmol O<sub>2</sub>/kg kako bi se ulje moglo duže čuvati i skladištiti (Gunstone, 2004.) Za rafinirana jestiva ulja dozvoljen je peroksidni broj do 5 mmol O<sub>2</sub>/kg, dok je za hladno prešana i nerafinirana ulja dozvoljen peroksidni broj do 7 mmol O<sub>2</sub>/kg (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).



**TBK vrijednost (test tiobarbiturne kiseline)**

Metoda kod koje se određuje stupanj oksidacijskih promjena ulja na temelju sadržaja sekundarnih produkata oksidacije. Kod navedene kolorimetrijske metode određivanja, tiobarbiturna kiselina reagira s malonaldehidom i pri tome se stvara crvena boja čiji se intenzitet očitava na 532 nm valne duljine.

**Anisidinski broj (Abr)**

Prikazuje udio sekundarnih produkata oksidacije, a temelji se na reakciji p-anisidina s višim nezasićenim aldehidima (2,4-dienal i 2-enal). Anisidinski broj nam daje sadržaj nehlapljivih aldehida, te se na temelju tog broja može odrediti tzv. „oksidativna prošlost ulja“. Sadržaj nehlapljivih produkata se vrlo malo mijenja tijekom rafinacije. S obzirom na udio ovih spojeva u jestivom biljnom ulju, moguće je procijeniti kvalitetu i stupanj nastalih oksidacijskih promjena sirovog ulja.

Što je veći anisidinski broj slabija je održivost ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Totox broj (OV)**

Predstavlja oksidacijsku vrijednost ulja, koja se dobiva iz peroksidnog broja (Pbr) i anisidinskog broja (Abr):  $OV = 2 Pbr + Abr$  (11)

Oksidacijska vrijednost daje dobar uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena ulja, jer daje sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Kreis test**

Najstarija metoda za određivanje oksidacijskog stupnja masti. Temelji se na obojenoj reakciji floroglucina s produktima oksidacije, prvenstveno s epihidrinaldehidom, pri čemu se stvara crvena boja čiji se intenzitet mjeri na 540 nm. Ova metoda se sve manje koristi u praksi, jer intenzitet boje koji je nastalo u ovoj reakciji, ne odgovara potpunom stupnju oksidacije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.)

### Organoleptičke (senzorske) metode

Organoleptičke metode temelje se na određivanju pojave neugodnog mirisa, užeglog mirisa nastalog uslijed stvaranja razgradnih, sekundarnih produkata oksidacije. Ovi razgradni produkti čak i u malim koncentracijama oko  $10^{-6}$  ppm daju neugodan i užegao miris ulju i masti. Radi se na eliminiranju subjektivnosti ovih metoda jer ispitivanja provodi veći broj stručnih članova komisije za ocjenjivanje. U industriji ulja i masti, redovna je praksa ispitivati kvalitetu ulja ovim metodama uz fizikalne i kemijske metode ispitivanja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

### 2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Održivost ili oksidacijska stabilnost ulja je vrijeme tijekom kojeg se ulja mogu sačuvati od autooksidacije. Poznavanje održivosti sirovih i jestivih ulja je važno zbog određivanja vremena tijekom kojeg se ulja mogu sačuvati od negativnih promjena koje utječu na kvalitetu. Metode koje se koriste za određivanje stabilnosti, temelje se na ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem nekog od čimbenika koji ubrzavaju ovaj proces. U praksi se najčešće primjenjuju metode kod kojih se oksidacija ubrzava utjecajem temperature. Održivost ulja je vrijeme u satima potrebno da uzorak ulja dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Tablica 7** Analitičke metode za određivanje održivosti ulja i masti (Dimić i Turkulov 2000.)

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

### **Oven test**

Prilikom izvođenja Oven testa uzorci biljnih ulja zagrijavaju se i održavaju na temperaturi od 60 °C ili 63 °C u termostatu tijekom 4 dana. U određenim vremenskim razmacima od 24 sata prati se porast peroksidnog broja kao i promjena senzorskih svojstava ulja. Za održivost ispitivanog ulja smatra se vrijeme izraženo u danima u kojima je peroksidni broj dostigao određenu vrijednost ili se utvrdila pojava užeglosti organoleptičkim ispitivanjima.

Rezultat Oven testa izražava se kao:

- broj dana u kojem peroksidni broj dostigne određenu vrijednost;
- vrijednost peroksidnog broja po završetku Oven testa (najčešće period od 4 dana);
- broj dana u kojem se pojavila užeglost ulja određena organoleptičkim ispitivanjem.

Rezultati dobiveni nakon provođenja Oven testa u trajanju od 4 dana odgovaraju održivosti ulja pri sobnoj temperaturi od 24 do 48 dana.

### **Rancimat test**

Rancimat testom se provodi ubrzana oksidacija ulja pri točno definiranim uvjetima. Oksidacijska stabilnost se određuje primjenom Rancimat uređaja pri povišenoj temperaturi (100 °C, 110 °C, 120 °C) uz kontinuirani dovod zraka. Hlapljivi spojevi koji nastaju oksidacijom ulja pri povišenoj temperaturi (kratkolančane hlapljive organske kiseline) se uvode u deioniziranu vodu. Hlapljivi spojevi se određuju konduktometrijski s automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena. Mjerenjem porasta vodljivosti indirektno se prati tijek oksidacije ulja. Indukcijski period (IP) u satima, određen na ovaj način, označava se kao indeks održivosti pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001.).

Ako vrijeme indukcije duže traje, ulje ima bolju održivost tj. oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986.).

Zaključno s time indukcijski period predstavlja otpornost biljnog ulja prema oksidacijskom kvarenju.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati oksidacijsku stabilnost (održivost) hladno prešanog ulja šafranike, te utjecaj dodatka pojedinačnih prirodnih i sintetskih antioksidanasa na njegovu održivost. Ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja, sa i bez dodatnog antioksidansa, provedeno je primjenom Oven testa na 63 °C u trajanju od četiri dan. Određeni su osnovni parametri kvalitete ulja (peroksidni broj, slobodne masne kiseline, udio vode i netopljive nečistoće) prije početka određivanja oksidacijske stabilnosti ulja šafranike uz primjenu standardnih metoda. Uzorci su praćeni tijekom četiri dana provedbe testa u termostatu, te se svakih 24 sata provodila analiza peroksidnog broja.

### 3.2. MATERIJAL I METODE

#### 3.2.1. Materijali

##### 3.2.1.1 Hladno prešano ulje šafranike

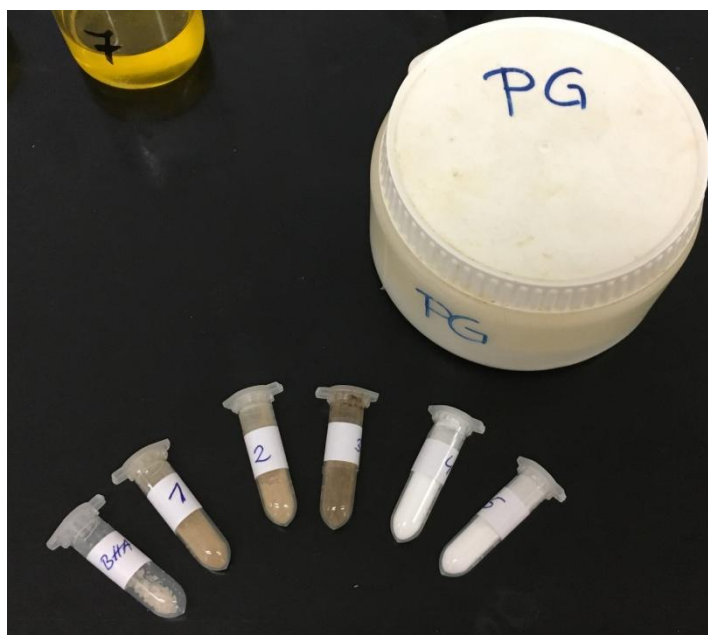
Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja šafranike korišteno je ulje proizvedeno u laboratoriju Tehnologije ulja i masti na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku, gdje je polazna sirovina bila neoljuštena sjemenka sorte Sabina iz OPG Vučemilović.



**Slika 10** Hladno prešano ulje šafranike za analizu parametara kvalitete

### 3.2.1.2 Antioksidansi

Prilikom ispitivanja održivosti hladno prešanog ulja šafranike korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi. Od prirodnih antioksidansa korišteni su ekstrakti maslinove komine tipovi: HP $\beta$  CD, RAMEB CD, NATIVE, EKSCIPIJENS\*\* (HP $\beta$  CD), EKSCIPIJENS\*\* (RAMEB CD) u koncentracijama 0,1% i 0,3%. Od sintetskih antioksidansa korišteni su BHA (butil hidroksianisol) i PG (propil galat) u koncentracijama od 0,01%.



Slika 11 Korišteni antioksidansi

### 3.2.2. Metode rada

#### 3.2.2.1 Određivanje osnovnih parametara kvalitete ulja

##### Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je pokazatelj oksidacijskog kvarenja ulja ili masti, odnosno on je indikator užeglosti ulja ili masti. Određivanje peroksidnog broja najčešća je metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije ulja. Peroksidni broj ulja šafranike određen je standardnom metodom (ISO: 3960: 1998) koja se temelji na sposobnosti peroksida da oslobodi jod iz otopine kalij jodida, a određuje se titracijom s otopinom natrij-tiosulfata. Peroksidni broj predstavlja mL 0,002 M otopine natrij tiosulfata potrebnog za redukciju one količine joda iz kalij jodida koju oslobode peroksidi iz 1 g masti ili ulja. Rezultat se izražava kao mmol O<sub>2</sub>/kg.

$$P_{br} = (V_1 - V_0) \cdot 5 / m \text{ (mmol O}_2\text{/kg)} \quad (12)$$

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

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

$m$  – masa uzorka ulja (g).

### Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Slobodne masne kiseline nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triglicerida i njihov udio ovisi o načinu dobivanja ulja, o upotrijebljenim sirovinama i uvjetima čuvanja, te se rezultat može izraziti kao: kiselinski broj, kiselinski stupanj ili udio (%) SMK izražen kao oleinska kiselina. Nastale slobodne masne kiseline određene su standardnom metodom (ISO 660: 1996) koja se temelji na titraciji s otopinom natrij-hidroksida  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$ . Određivanje SMK provodi se tako da se izvagani uzorak ulja prelije s neutralnom smjesom etera i etanola, te se promućka. Zatim se doda nekoliko kapi otopine fenolftaleina i titrira se sa 0,1 M otopinom NaOH sve do promjene boje.

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m \quad (13)$$

$V$  – utrošak otopine 0,1 mol/L natrij-hidroksida za titraciju uzorka (mL);

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

$m$  – masa uzorka za ispitivanje (g);

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

### Određivanje vlage u ulju

Pri određenim uvjetima i uz prisustvo vlage u ulju može doći do hidrolitičkih promjena, što rezultira porastom kiselosti ulja, odnosno povećava se udio slobodnih masnih kiselina. Isto tako, može doći do zamućenja ulja i smanjenja senzorske kvalitete ulja. Metoda za određivanje vlage i isparljivih tvari u ulju temelji se na isparavanju vode i hlapljivih tvari iz ulja zagrijavanjem u sušioniku pri točno definiranim uvjetima. Dolazi do gubitka mase (izražen u %) pri zagrijavanju na  $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , do konstantne mase, gdje se gubitak mase utvrđuje vaganjem.

Udio vlage u ulju računa se prema sljedećoj formuli:

$$\% \text{ vlage i hlapljivih tvari} = (m_1 - m_2 / m_1 - m_0) \cdot 100 \quad (14)$$

$m_0$  – masa staklene posudice (g);

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

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

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

Udio netopljivih nečistoća u ulju dobre kvalitete je često niži od 0,03 %. Količina netopljivih nečistoća 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 petroleter. Dobivena otopina se filtrira kroz 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:

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = (m_2 - m_1 / m_0) \cdot 100 \quad (15)$$

$m_0$  – masa uzorka (g);

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

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

### **3.2.2.2 Priprema uzorka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti**

U staklene čaše je izvagano po 50 g uzorka ulja šafranike uz dodatke pojedinačno ispitivanih prirodnih antioksidanasa u koncentracijama 0,1 i 0,3%, te sintetskih antioksidansa u koncentraciji 0,01% računatih na masu od 50 g ulja. Test oksidacijske stabilnosti je proveden u 2 paralele, te se iz dobivenih vrijednosti za konačni rezultat računala srednja vrijednost. Svi



uzorci ulja i antioksidansa su zagrijavani na temperaturu od 70 do 80 °C uz miješanje staklenim štapićem, te nakon postizanja temperaturnog raspona održavani 30 minuta uz neprestano miješanje kako bi se antioksidans otopio. Nakon toga su se uzorci hladili na sobnoj temperaturi prekriveni satnim stakalcem. Nadalje, nakon hlađenja, uzorci su stavljani u termostat marke Advantage-Lab na 63 °C. Uzorci su uzimani svakih 24 sata, te ispitivani na promjenu oksidacijske stabilnosti preko vrijednosti Pbr.

**Tablica 8** Udio prirodnih antioksidansa (ekstrakti maslinove komine) dodanih u ulje šafranike tijekom ispitivanja održivosti

Uzorak	Antioksidans	Udio antioksidansa (% na masu ulja)
Ulje šafranike (hladno prešano)	-	-
Ulje šafranike (hladno prešano)	HPβ CD	0,1
		0,3
Ulje šafranike (hladno prešano)	RAMEB CD	0,1
		0,3
Ulje šafranike (hladno prešano)	NATIVE	0,1
		0,3
Ulje šafranike (hladno prešano)	EKSCIPIJENS ** (HPβ CD)	0,1
		0,3
Ulje šafranike (hladno prešano)	EKSCIPIJENS ** (RAMEB CD)	0,1
		0,3

**Tablica 9** Udio sintetskih antioksidansa dodanih u ulje šafranike tijekom ispitivanja održivosti

Uzorak	Sintetski antioksidans	Udio antioksidansa (% na masu ulja)
Ulje šafranike (hladno prešano)	BHA	0,01
Ulje šafranike (hladno prešano)	PG	0,01

### 3.2.2.3 Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Oven testom

Kako bi se dobio uvid o kvaliteti ulja i mogućnosti skladištenja na duže vrijeme bez promjene svojstva ulja, u ovom radu je određivana oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja šafranike. Korišten je test ubrzane oksidacije ulja, tzv. Schaal Oven test (Oven test), tijekom četiri dana zagrijavanja ulja u termostatu pri konstantnoj temperaturi, uz dodatak prirodnih i sintetskih antioksidanasa za ispitivanje promjene stabilnosti ulja. Schaal Oven test je najčešće primjenjivan test za određivanje održivosti životinjskih i biljnih ulja. Uzorci ulja se ispituju zagrijavanjem na 63 °C u termostatu uz praćenje porasta vrijednosti Pbr i organoleptičkih promjena ulja nastalih oksidacijskim kvarenjem u određenim vremenskim razmacima. Najčešće se provodi u trajanju od 4 dana, te se svakih 24 sata određuje Pbr čistog ulja i ulja s dodanim antioksidansima. Test je veoma pogodan za usporedbu biljnih ulja prema oksidacijskoj stabilnosti, a dobiveni rezultati nam daju precizne podatke za procjenu održivosti ulja.



**Slika 12** Termostat Advantage-Lab zagrijan na 63 °C

Schaal Oven test je proveden na čistom uzorku hladno prešanog ulja šafranike, kao i na uzorcima ulja u koje su pojedinačno dodani prirodni i sintetski antioksidansi u različitim koncentracijama. Uzorci su u termostatu (Advantage-Lab) zagrijani i održavani na 63 °C, te se svakih 24 sata tijekom 4 dana pratio porast vrijednosti Pbr pomoću standardne metode. Prije uzimanja uzorci su bili dobro homogenizirani pomoću staklenog štapića, te nakon toga po 1 g odvagani u čaše u 2 paralele. Preostalo ulje je vraćeno u termostat na sljedećih 24 sata do uzorkovanja na istu temperaturu od 63 °C. Potom su čaše sa uzorcima od 1 g korištene za

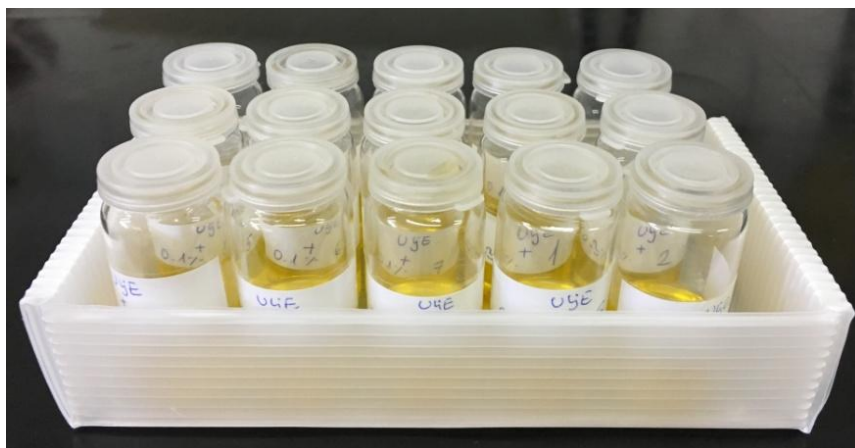
titracijsko određivanje peroksidnog broja. Prilikom praćenja porasta vrijednosti Pbr, dobio se uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena. Vrijednost peroksidnog broja izražava se kao mmol O<sub>2</sub>/kg.



Slika 13 Termostatirani uzorci

#### 3.2.2.4 Rancimat test

Za provođenje rancimat testa priređeno je 15 bočica sa uzorcima ulja šafranike od čega je 1 uzorak sa čistim uljem bez dodatka i preostalih 14 uz dodatak prirodnih i sintetskih antioksidanasa. Unutar 14 uzoraka smo imali 5 prirodnih antioksidanasa u koncentracijama 0,1% i 0,3%, a u preostala 4 uzorka su se nalazili sintetski antioksidansi u koncentracijama od 0,01% u 2 paralele. Nakon toga su uzorci spakirani i poslani na analizu u Čepinsku uljaru, odakle su mi prosljedili rezultate.



Slika 14 Pripremljeni uzorci za rancimat test

## **4. REZULTATI**

**Tablica 10** Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja šafranike

Parametri kvalitete	Vrijednost
Peroksidni broj (Pbr), mmol O <sub>2</sub> /kg	1,46
Slobodne masne kiseline (SMK), %	0,88
Udio vode (vlage), %	0,036
Netopljive nečistoće, %	0,11

**Tablica 11** Rezultati oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja šafranike određene Schaal oven testom pri temperaturi 63 °C uz dodatak prirodnih antioksidanasa (razni tipovi ekstrakta maslinove komine)

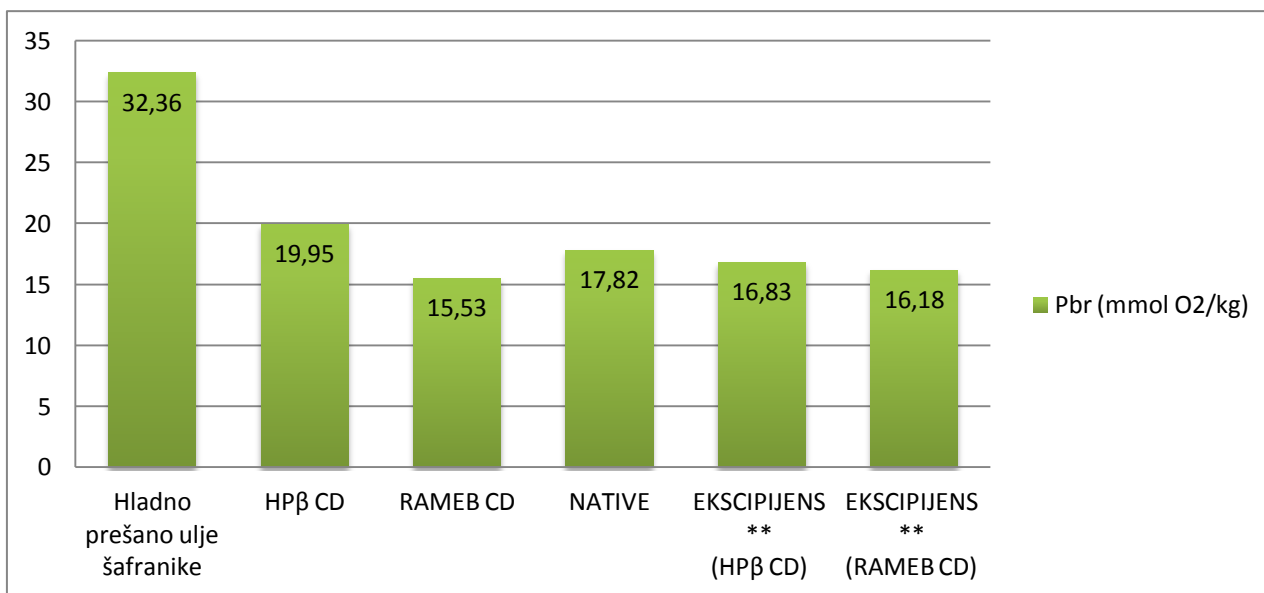
		Peroksidni broj Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)							
		0 dan	1 dan		2 dan		3 dan		4 dan
		0,1%	0,3%	0,1%	0,3%	0,1%	0,3%	0,1%	0,3%
Hladno prešano ulje šafranike		6,75		12,32		22,39		32,36	
HPβ CD		5,45	5,48	8,83	8,66	13,61	13,93	19,25	17,59
RAMEB CD		5,00	4,50	8,50	7,96	11,76	12,57	15,53	16,55
NATIVE		4,79	5,40	9,46	8,62	13,86	13,00	17,82	17,45
EKSCIPIJENS ** (HPβ CD)	1,46	4,78	5,82	9,27	9,81	13,24	13,66	16,83	17,21
EKSCIPIJENS ** (RAMEB CD)		5,22	7,68	9,75	14,93	12,75	23,76	16,18	29,00

**Tablica 12** Rezultati oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja šafranike određene Schaal Oven testom pri temperaturi 63 °C uz dodatak sintetskih antioksidanasa

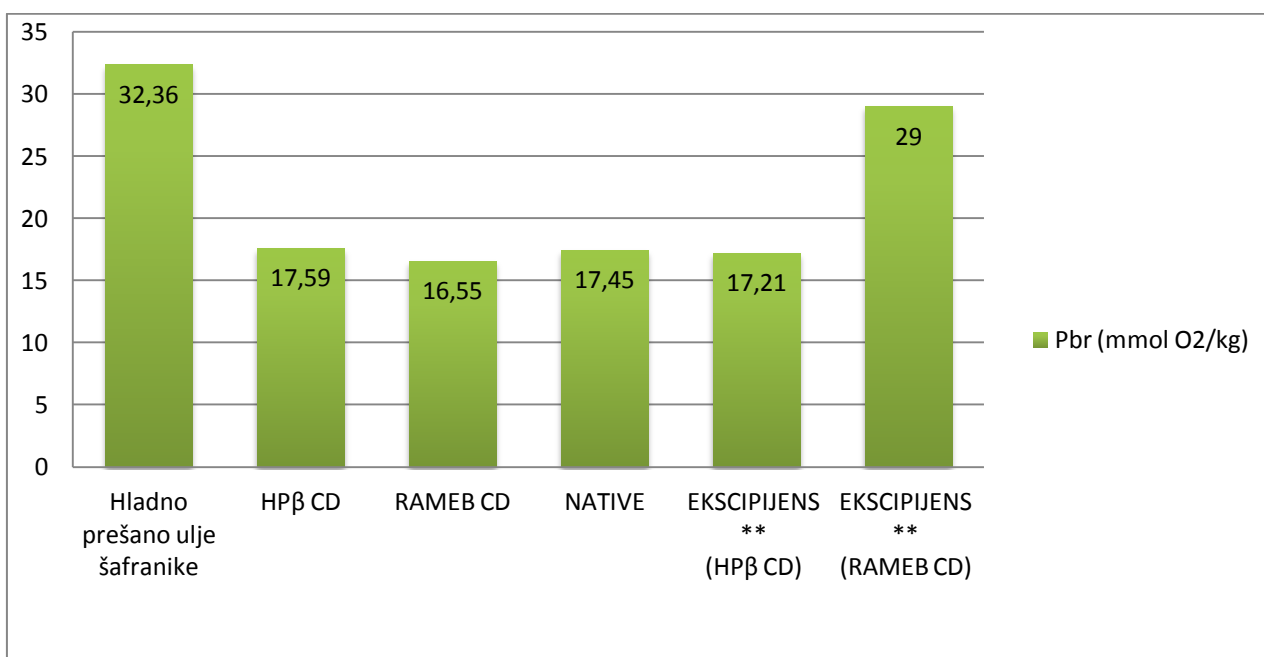
		Peroksidni broj Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)			
		0 dan	1 dan	2 dan	3 dan
BHA 0,01%	1,46	4,93	8,96	12,69	16,92
PG 0,01%		4,33	8,17	10,84	14,36

**Tablica 13** Rezultati Rancimat testa (temperatura 110 °C, protok zraka 20 L/h)

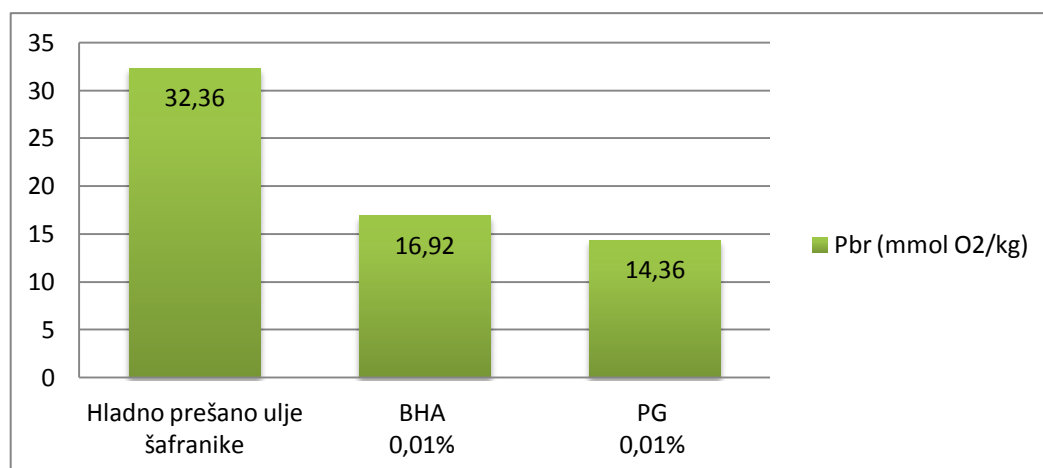
Uzorak	Indukcijski period IP (h)	
	0,1%	0,3%
Hladno prešano ulje šafranike	3,01	
HPβ CD	3,25	3,64
RAMEB CD	3,19	3,31
NATIVE	3,12	3,23
EKSCIPIJENS ** (HPβ CD)	3,61	3,29
EKSCIPIJENS ** (RAMEB CD)	2,91	2,86
BHA 0,01%	3,56	
PG 0,01%	5,02	



**Slika 15** Utjecaj prirodnih antioksidanasa u koncentraciji 0,1% na oksidacijsku stabilnost ulja šafranike nakon 4 dana Oven testa



**Slika 16** Utjecaj prirodnih antioksidanasa u koncentraciji 0,3% na oksidacijsku stabilnost ulja šafranike nakon 4 dana Oven testa



**Slika 17** Utjecaj sintetskih antioksidanasa u koncentraciji 0,01% na oksidacijsku stabilnost ulja šafranike nakon 4 dana Oven testa



## **5. RASPRAVA**

U **Tablici 10** prikazani su osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja šafranike (peroksidni broj – Pbr, slobodne masne kiseline – SMK, udio vode i netopljive nečistoće). Rezultati određivanja Pbr, SMK, udjela vode i netopljivih nečistoća pokazuju da je ulje šafranike jako dobre kvalitete. Dobiveni rezultati su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12).

Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja šafranike, sa i bez dodanih prirodnih i sintetskih antioksidansa, ispitivana Oven testom tijekom 4 dana praćenjem Pbr svakih 24 sata prikazana je u **Tablicama 11 i 12**, dok je na **Slikama 15 do 17** prikazan krajnji rezultat nakon završetka Oven testa.

Test oksidacijske stabilnosti svježe proizvedenog hladno prešanog ulja šafranike pokazuje da je ovo ulje dosta nestabilno tj. podložno je brzom oksidacijskom kvarenju, nakon 4 dana testa ima peroksidni broj (Pbr) 32,36 mmol O<sub>2</sub>/kg ulja. Dodatkom ispitivanih prirodnih antioksidanasa (0,1%) u ulje postignuta je zaštita od oksidacijskog kvarenja. Veća zaštita od oksidacije postignuta je dodatkom RAMEB CD (0,1%) gdje je nakon 4 dana testa dobivena niža vrijednost Pbr 15,53 mmol O<sub>2</sub>/kg. Dodatkom ovih antioksidanasa (0,3%) u ulje opet je veća zaštita ulja postignuta dodatkom RAMEB CD, gdje je nakon 4 dana testa dobivena niža vrijednost Pbr 16,55 mmol O<sub>2</sub>/kg što je vidljivo u **Tablici 11** i na **Slikama 15 i 16**.

Primjenom sintetskih antioksidanasa BHA i PG (0,01%) veća zaštita ulja od oksidacije ostvarena je sa PG (propil galatom) gdje je nakon 4 dana testa dobivena niža vrijednost Pbr 14,36 mmol O<sub>2</sub>/kg što je vidljivo u **Tablici 12** i na **Slici 17**.

Najveću učinkovitost na održivost ulja šafranike je pokazao PG u koncentraciji od 0,01% u odnosu na druge primijenjene antioksidanse, dok EKSCIPIJENS\*\* (RAMEB CD) u koncentraciji od 0,3% nije pokazao značajniju zaštitnu učinkovitost u odnosu na uzorak ulja bez dodatka antioksidansa vidljivo na **Slici 16**. Približnu učinkovitost PG je pokazao i RAMEB CD (0,1%) dok su ostali antioksidansi rezultirali nešto većim vrijednostima peroksidnog broja, uz izuzetak HPβ CD (0,1%) koji je pokazao nešto veće odstupanje vidljivo na **Slici 15**.

Rezultati oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja šafranike, prikazani u **Tablici 13**, određeni su Rancimat testom pri temperaturi 110 °C i protoku zraka 20 L/h.

Dodatkom ovih antioksidanasa (0,1%) u ulje ostvarena je veća zaštita ulja dodatkom EKSCIPIJENS \*\* (HPβ CD), jer je dobivena veća vrijednost induksijskog perioda (IP) 3,61 sata.

Dodatkom ovih antioksidanasa (0,3%) u ulje ostvarena je veća zaštita ulja dodatkom HP $\beta$  CD, jer je nakon testa dobivena veća vrijednost indukcijskog perioda (IP) 3,64 sata. Primjenom sintetskih antioksidanasa BHA i PG (0,01%) veća zaštita ulja od oksidacije ostvarena je sa PG (propil galatom) gdje je nakon testa dobivena veća vrijednost indukcijskog perioda (IP) 5,02 sata.

## **6. ZAKLJUČCI**

Na osnovu dobivenih rezultata ispitivanja utjecaja dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na održivost ili oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja šafranike mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Nakon 4 dana Oven testa dobivena je visoka vrijednost peroksidnog broja, što ukazuje na to da ispitivano hladno prešano ulje šafranike ima veoma lošu oksidacijsku stabilnost.
2. Primjena prirodnih i sintetskih antioksidanasa uvelike doprinosi oksidacijskoj stabilnosti ulja šafranike, tj. povećava se otpornost ulja prema oksidacijskom kvarenju.
3. Sintetski antioksidans PG u ulju šafranike, postiže veću razinu održivosti u odnosu na primjenu sintetskog antioksidansa BHA kod oba testa.
4. Primjenom sintetskog antioksidansa PG u ulju šafranike, postiže se veća razina zaštite od oksidacijskog kvarenja u odnosu na bilo koji drugi primijenjeni antioksidans.
5. Korištenjem prirodnog antioksidansa RAMEB CD (0,1%) u ulju šafranike, postiže se veća razina stabilizacije u odnosu na koncentraciju (0,3%) primjenom Oven testa.
6. Dodatkom prirodnog antioksidansa EKSCIPIJENS \*\* (RAMEB CD) (0,3%) u ulju šafranike, postiže se neznatna zaštita ulja od oksidacije u odnosu na druge ispitivane antioksidanse, određena Oven testom. Primjenom Rancimat testa ovaj antioksidans (0,1%, 0,3%) ne pokazuje zaštitu ulja od oksidacije.
7. Primjenom prirodnog antioksidansa u koncentraciji 0,1% u ulju šafranike, postiže se veća razina održivosti sa EKSCIPIJENS \*\* (HPβ CD) određena Rancimat testom.
8. Korištenjem koncentracije prirodnih antioksidanasa 0,3% i analizom s Rancimat testom, utvrđeno je da ulje šafranike sa HPβ CD ima veću zaštitu od oksidacijskog kvarenja.

## **7. LITERATURA**

- Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis P, P.R. Gruzdiene: *Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil*. Food Res. Int., 33, 2000.
- Bockisch M: *Fats and oils handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- 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.
- FAOSTAT (2015). FAOSTAT internet baza podataka <http://faostat3.fao.org/safflower>
- Gunstone FD, Norris FA: *Lipids in Foods*. Pergamon Press, Frankfurt, 1983.
- Gunstone FD: *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK, 2004.
- Hui YH: Safflower oil. In *Bailey's industrial oil and fat products 2, Edible oils and fat products: Oils and oil seeds* 411-455, Fifth Edition, John Wiley and Sons Inc., New York, 1996.
- Khalid N, Khan RS, Hussain MI, Farooq M, Ahmad A, Ahmed I: *A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient - A review*, 176-186, 66, Trends in Food Science & Technology, 2017.
- Koyama N, Suzuki K, Furukawa Y, Arisaka H, Seki T, Kuribayashi K, Ishii K, Sukegawa E, Takahashi M: *Effects of safflower seed extract supplementation on oxidation and cardiovascular risk markers in healthy human volunteers* 568-575,101. British Journal of Nutrition, 2009.
- 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. Soc., str 63, 1986.
- Mandić ML: *Znanost o prehrani*. Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.
- Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja RH: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 41/12, 2012.

Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi RH: *Pravilnik o prehrambenim aditivima*. Narodne novine 62/10, 2010.

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.

Patterson HBW: *Handling and storage of oilseeds: Oils, fats and meals*. Elsevier, London i New York, 1989.

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.

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

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

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

Topkafa M: Evaluation of chemical properties of cold pressed onion, okra, rosehip, safflower and carrot seed oils: triglyceride, fatty acid and tocol composition, 4220, 8, Anal. Methods, 2016.