Održivost proizvedenog hladno prešanog ulja chie (Salvia hispanica L.)

Bilić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:036684

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Lucija Bilić

ODRŽIVOST PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG ULJA *CHIE* (*Salvia hispanica* L.)

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2014./2015. održanoj 14. srpnja 2015.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Pomoć pri izradi: *Daniela Paulik*, tehnički suradnik

ODRŽIVOST PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG ULJA *CHIE* (*Salvia hispanica* L.)

Lucija Bilić, 231-DI

Sažetak: U ovom radu ispitan je utjecaj procesnih parametara hladnog prešanja sjemenki chie (*Salvia hispanica* L.) na iskorištenje ulja. Ispitan je utjecaj temperature zagrijavanja glave preše, veličine otvora glave preše, frekvencije elektromotora i dotegnutosti glave preše na iskorištenje i kvalitetu hladno prešanog ulja chie. U proizvedenom hladno prešanom ulju chie odredili su se sljedeći parametri kvalitete: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, voda, netopljive nečistoće, anisidinski broj, totox broj, jodni broj i saponifikacijski broj. Također, ispitan je i utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakt ružmarina tip Oxy´Less®CS, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt crnog kima, ekstrakt klinčića, eterično ulje konopljike) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja chie. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa, provedeno je testom ubrzane oksidacije ulja – Rancimat testom. Rezultat oksidacije ulja izražen je indukcijskim periodom (IP). Rezultati istraživanja pokazali su da ispitivani procesni parametri hladnog prešanja utječu na iskorištenje ulja. Veće iskorištenje ulja chie dobiveno je kod zagrijavanja glave preše 100 ^{o}C, otvora glave preše 8 mm, frekvencije elektromotora 25 Hz i dotegnutosti glave preše ½ kruga. Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (Oxy´Less®CS) i ekstrakta zelenog čaja, koncentracije 0,15%, postignut je porast stabilnosti ulja prema oksidacijskom kvarenju.

Ključne riječi: ulje chia sjemenki, hladno prešanje, procesni parametri, oksidacijska stabilnost, prirodni antioksidansi

Rad sadrži: 67 stranica
8 slika
14 tablica
0 priloga
60 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

1. izv. prof. dr. sc. *Vedran Slačanac* — predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac* — član-mentor
3. doc. dr. sc. *Stela Jokić* — član
4. izv. prof. dr. sc. *Jurislav Babić* — zamjena člana

Datum obrane: 21. prosinca 2015.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X. held on July 14, 2015.
Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof.
Technical assistance: *Daniela Paulik*, technical associate

SHELF LIFE OF THE COLD PRESSED CHIA SEED OIL (*Salvia hispanica* L.)

Lucija Bilić, 231-DI

Summary: In this thesis, the influence of process parameters cold pressing chia seeds (*Salvia hispanica* L.) on the yield of oil was tested. The influence of temperature head presses, nozzle size, electromotor frequency and tension head presses on the yield and quality of cold pressed chia seed oil was examined. In the produced cold pressed chia seed oil the following quality parameters were determined: peroxide value, free fatty acids, moisture content, insoluble impurities, anisidine value, totox value, iodine value and saponification value. Also, the influence of the natural antioxidant supplements (rosemary extract type Oxy´Less®CS, green tea extract, extract of black cumin, clove extract, chaste berries essential oil) on the oxidative stability of cold pressed chia seed oil were examined. Determination of the oxidative stability of the oil, with and without added natural antioxidants, has been validated by the test of accelerated oxidation of oil – Rancimat test. The result of oil oxidation was expressed as induction period (IP). The results showed that the studied process parameters of the cold pressing also affect the yield of oil. Greater yield of chia seed oil is obtained at temperature of 100 ^{o}C, nozzle of ID 8 mm, frequency of 25 Hz and tension of ½ of the circle. With the addition of the natural antioxidant supplements of rosemary extract type Oxy´Less®CS and green tea extract (0,15% concentration), it is proven to achieve oxidative stability of the oil.

Key words: chia seed oil, cold pressing, process parameters, oxidative stability, natural antioxidants

Thesis contains: 67 pages
8 figures
14 tables
0 supplements
60 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Vedran Slačanac*, PhD, associate prof. — chair person
2. *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof. — supervisor
3. *Stela Jokić*, PhD, assistant prof. — member
4. *Jurislav Babić*, PhD, associate prof. — stand-in

Defense date: December 21, 2015

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

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na odabranoj temi, stručnim savjetima, razumijevanju i usmjeravanju pri izradi ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem tehničkoj suradnici Danieli Paulik na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela rada.

Naposljetku, najtoplije zahvaljujem svojim roditeljima, sestri i bratu koji su bili moja najveća podrška i najjači vjetar u leđa tijekom studiranja.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 4

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA 5

2.1.1. Sastav biljnih ulja 5

2.1.2. Podjela biljnih ulja 9

2.2. CHIA SJEMENKE 10

2.2.1. Sastav i fizikalno-kemijska svojstva ulja chie 12

2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA 15

2.3.1. Čišćenje sjemenki 17

2.3.2. Prešanje 18

2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća 19

2.3.4. Pakiranje i skladištenje biljnih ulja 20

2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA 20

2.4.1. Enzimski i mikrobiološki procesi 21

2.4.2. Kemijski procesi 21

2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA 24

2.5.1. Antioksidansi 25

2.5.2. Sinergisti 28

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA 28

2.7. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST BILJNIH ULJA 30

2.7.1. Schaal Oven test 30

2.7.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) 31

2.7.3. Rancimat test 31

3. EKSPERIMENTALNI DIO 32

3.1. ZADATAK 33

3.2. MATERIJALI I METODE 34

3.2.1. Materijali 34

3.2.1.1. Chia sjemenke 34

3.2.1.2. Antioksidansi 34

3.2.1.3. Reagensi 35

3.2.1.4. Uređaji 35

3.2.2. Metode rada 36

3.2.2.1. Izdvajanje ulja iz sjemenke postupkom hladnog prešanja 37

3.2.2.2. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači 38

3.2.2.3. Određivanje stupnja djelovanja preše 38

3.2.2.4. Određivanje vlage u sjemenkama i pogači 39

3.2.2.5. Određivanje parametara kvalitete ulja 40

3.2.2.6. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja 45

3.2.2.7. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja 47

4. REZULTATI **48**

5. RASPRAVA **56**

6. ZAKLJUČCI **60**

7. LITERATURA **63**

Popis oznaka, kratica i simbola

A•	Slobodni radikal antioksidansa
Abr	Anisidinski broj
AH	Antioksidans
ALA	Alfa-linolenska masna kiselina
DHA	Dokosaheksaenska masna kiselina
EMK	Esencijalne masne kiseline
EPA	Eikosapentaenska masna kiselina
HOO•	Radikal vodikovog peroksida
IP	Indukcijski period
KI	Kalijev jodid
KOH	Kalijev hidroksid
LA	Linolna masna kiselina
$Na_2S_2O_3$	Natrijev tiosulfat
NaOH	Natrijev hidroksid
NMK	Nezasićene masne kiseline
NN	Netopljive nečistoće
OV	Oksidacijska vrijednost
Pbr	Peroksidni broj
PF	Zaštitni faktor
PUFA	Polinezasićene masne kiseline
R•; RO•	Slobodni radikali
RH	Masne kiseline
ROO•	Radikal peroksida

ROOH	Hidroperoksid
R-R; ROOR	Polimeri
SMK	Slobodne masne kiseline
TFA	Trans masne kiseline
ZMK	Zasićene masne kiseline

1. UVOD

Razvojem svijesti i sve većom željom i potrebom potrošača da konzumiraju hranu sa pozitivnim učinkom na zdravlje neprestano se unapređuje i proces proizvodnje ulja. Iako su jestiva biljna ulja bogat izvor masnih kiselina i bioaktivnih komponenti, obrada i rafinacija uzrokuju gubitke u nutritivnoj vrijednosti ulja. Shodno tome, pojavila se potreba za proizvodnjom visokokvalitetnih hladno prešanih ulja kako bi se sačuvali njihovi prirodni i visokovrijedni sastojci (esencijalne masne kiseline, liposolubilni vitamini, tokoferoli, fenolni spojevi i dr.). Navedeno podrazumijeva proizvodnju ulja postupkom hladnog prešanja pri čemu se dobiveno sirovo ulje može pročišćavati isključivo taloženjem, filtriranjem i/ili centrifugiranjem. Prema literaturnim podacima temperatura izlaznog ulja pri prešanju sjemena uljarica, u cilju proizvodnje hladno prešanih ulja, ne smije biti viša od 50 ^{o}C (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

Povoljan sastav masnih kiselina i prisutnost bioaktivnih komponenti doprinose da ulje chia sjemenki (*Salvia hispanica* L.) pripada uljima visoke nutritivne vrijednosti. Ulje je izuzetno bogato polinezasićenim masnim kiselinama, omega-6 linolnom masnom kiselinom (15 – 39%), uz značajnu količinu omega-3 α-linolenske masne kiseline (60 – 70%) (Ayerza i Coates, 2011). Utvrđen je visok sadržaj prirodnih antioksidanasa kao što su tokoferoli, fitosteroli, karotenoidi i fenolni spojevi koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje i pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje (Capitani i sur., 2012; Ixtaina i sur., 2011; Reyes-Caudillo i sur., 2008).

Pri određivanju kvalitete hladno prešanih ulja veoma je važno odrediti i oksidacijsku stabilnost ili održivost u cilju procjene stanja njihove osjetljivosti na oksidacijsko kvarenje. Naime, procesi oksidacije biljnih ulja su neizbježni i odvijaju se određenom dinamikom prvenstveno u ovisnosti o sastavu ulja i prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ove reakcije (Martin-Polvillo i sur., 2004). Kvarenje biljnih ulja uzrokovano oksidacijskim procesom je najčešći tip kvarenja, a predstavlja proces oksidacije nezasićenog lanca masne kiseline pri čemu dolazi do promjene kemijskog sastava i pogoršanja senzorske i nutritivne kvalitete ulja (Dimić i sur., 2015). Užegnuti proizvodi su neprihvatljivi za potrošače. Iz tih razloga određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja je od primarnog značaja.

Oksidacijska stabilnost biljnih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od degradacijskih procesa autooksidacije, a što je izuzetno važno za skladištenje ovih proizvoda. Metode koje se danas najčešće primjenjuju za određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja temeljene su na ubrzanoj oksidaciji ulja, a to su Rancimat test, AOM test, Oven test i test

održivosti pri 98 ^{o}C (Shahidi, 2005). Stabilnost biljnih ulja tj. otpornost prema oksidacijskom kvarenju može se poboljšati dodatkom prirodnih i sintetskih antioksidanasa (Yanishlieva i Marinova, 2001; Merrill i sur., 2008).

Cilj istraživanja ovoga rada bio je ispitati utjecaj procesnih parametara hladnog prešanja chia sjemenki (*Salvia hispanica* L.) na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete ulja, kao i ispitati oksidacijsku stabilnost (održivost) proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa. Dodatkom pojedinog prirodnog antioksidansa nastoji se dobiti veća oksidacijska stabilnost u odnosu na stabilnost čistog ulja. Praćenje oksidacijske stabilnosti ulja provedeno je testom ubrzane oksidacije ulja, odnosno Rancimat testom.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

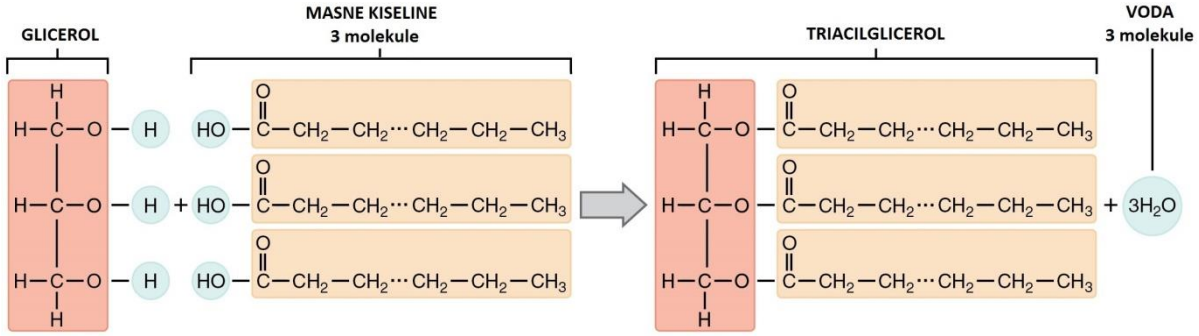
Jestiva biljna ulja se svrstavaju u grupu osnovnih nutrijenata i njihov svakodnevni unos u organizam je neophodan, prije svega zbog esencijalnih masnih kiselina (posebno linolne i α-linolenske) i određenih sastojaka koji su prisutni u veoma malim količinama u ulju, ali imaju veliki metabolički značaj u organizmu.

Jestiva biljna ulja su u vodi netopljive tvari biljnog podrijetla koje pripadaju grupi spojeva lipida. Glavni sastojci biljnih ulja su triacilgliceroli ili trigliceridi koji su zastupljeni oko 98%, a ostalo čine negliceridni sastojci čije prisustvo je od velike važnosti za stabilnost i nutritivnu vrijednost biljnih ulja.

2.1.1. Sastav biljnih ulja

Triacilgliceroli

Triacilgliceroli (trigliceridi) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina. Tradicionalno ih nazivamo uljima ili mastima ovisno o agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi. Biljna ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina i na sobnoj temperaturi su u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti (Mandić, 2003). U molekulama triacilglicerola masne kiseline čine 94 – 96% ukupne mase molekule zbog čega znatno utječu na fizikalna i kemijska svojstva triacilglicerola (Swern, 1972). Pri tome je odlučujuća duljina njihovih lanaca i broj dvostrukih veza. **Slika 1** prikazuje reakciju nastajanja triacilglicerola esterifikacijom trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina.



Slika 1 Reakcija nastajanja triacilglicerola (WEB 1)

Masne kiseline su molekule koje na jednom kraju imaju karboksilnu skupinu (-COOH), a na drugom kraju metilnu skupinu (-CH_3).

Masne kiseline se razlikuju prema broju ugljikovih atoma u molekuli, nezasićenosti ugljikovih atoma, broju dvostrukih veza i prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko nezasićene veze.

Prema broju ugljikovih atoma razlikujemo:

- masne kiseline kratkog lanca (broj ugljikovih atoma do 8),
- masne kiseline srednjeg lanca (broj ugljikovih atoma od 8 do 12),
- masne kiseline dugačkog lanca (broj ugljikovih atoma iznad 12) (Swern, 1972).

Reaktivnost masnih kiselina ovisi o broju i položaju dvostrukih veza, stoga je veoma važno poznavanje stupnja nezasićenosti i položaja dvostrukih veza masnih kiselina kako bi se procijenile reakcije koje mogu nastati.

S obzirom na stupanj nezasićenosti masne kiseline se dijele na zasićene i nezasićene masne kiseline.

Zasićene masne kiseline (ZMK) su masne kiseline koje u molekuli ne sadrže dvostruke veze između ugljikovih atoma, odnosno svaki ugljikov atom u lancu masne kiseline je zasićen. Osnovno svojstvo zasićenih masnih kiselina je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu. Najvažnije zasićene masne kiseline u prirodnim uljima i mastima prikazane su u **Tablici 1**.

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv masne kiseline	Formula
4	Maslačna	$CH_3(CH_2)_2COOH$
6	Kapronska	$CH_3(CH_2)_4COOH$
8	Kaprilna	$CH_3(CH_2)_6COOH$
10	Kaprinska	$CH_3(CH_2)_8COOH$
12	Laurinska	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
14	Miristinska	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
16	Palmitinska	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
18	Stearinska	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
20	Arahidska	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$
22	Behenska	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$
24	Lignocerinska	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$

Najzastupljenije zasićene masne kiseline u prirodnim uljima i mastima su laurinska (C12:0), miristinska (C14:0), palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) masna kiselina. Zasićene masne kiseline s neparnim brojem ugljikovih atoma dolaze samo u tragovima.

Nezasićene masne kiseline (NMK) su masne kiseline koje u molekuli sadrže jednu ili više dvostrukih veza. Ovisno o broju dvostrukih veza nezasićene masne kiseline se dijele na mononezasićene (jedna dvostruka veza) i polinezasićene (dvije ili više dvostrukih veza) masne kiseline. Dvostruke veze mogu biti izolirane (dvostruke veze su razdvojene s jednom ili više metilenskih grupa) i konjugirane (dvostruke veze su u susjednom položaju).

Najvažnija mononezasićena masna kiselina je oleinska kiselina (C18:1), a najvažnija polinezasićena masna kiselina s dvije dvostruke veze je linolna (C18:2), s tri dvostruke veze je linolenska (C18:3), s četiri dvostruke veze je arahidonska (C20:4) kiselina. Najvažnije nezasićene masne kiseline u prirodnim uljima i mastima prikazane su u **Tablici 2**.

Tablica 2 Najvažnije nezasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv MK	Formula
18	Oleinska	$CH_3(CH_2)_7\mathbf{CH{=}CH}(CH_2)_7COOH$
18	Linolna	$CH_3(CH_2)_4\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}(CH_2)_7COOH$
18	Linolenska	$CH_3CH_2\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}(CH_2)_7COOH$
20	Arahidonska	$CH_3(CH_2)_4\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}CH_2\mathbf{CH{=}CH}(CH_2)_3COOH$

Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, u cis ili trans obliku, ovisno o prostornom rasporedu dijelova molekule s obje strane nezasićene dvostruke veze.

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

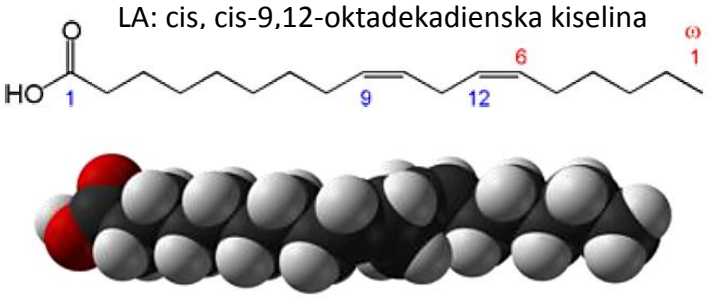
Trans oblici nezasićenih dvostrukih veza su termodinamički znatno stabilniji u odnosu na cis oblike, čime se objašnjava mogućnost stvaranja trans izomera tijekom termičkog tretmana ulja kod rafinacije u fazi dezodorizacije. Trans izomera masne kiseline ne bi smjelo biti u hladno prešanim biljnim uljima jer se ne primjenjuje proces rafinacije, niti je ulje izloženo povišenim temperaturama (Volmut, 2010).

Esencijalne masne kiseline (EMK) su polinezasićene masne kiseline sa 18, 20 i 22 ugljikova atoma i sadrže od dvije do šest dvostrukih veza. Dvostruke veze se u lancu masne kiseline nalaze u cis konfiguraciji. Naziv „esencijalne“ nose iz razloga što ne mogu biti sintetizirane u ljudskom organizmu, već se unose isključivo preko hrane, najčešće putem jestivih biljnih ulja.

Polinezasićene masne kiseline se dijele na omega-3 (ω-3) i omega-6 (ω-6) skupinu koje se strukturno razlikuju po mjestu dvostruke veze od metilnog kraja molekule masne kiseline. Kod ω-6 kiselina prva dvostruka veza se nalazi između šestog i sedmog ugljikovog atoma, dok se kod ω-3 kiselina nalazi između trećeg i četvrtog ugljikovog atoma (**Slika 2**).

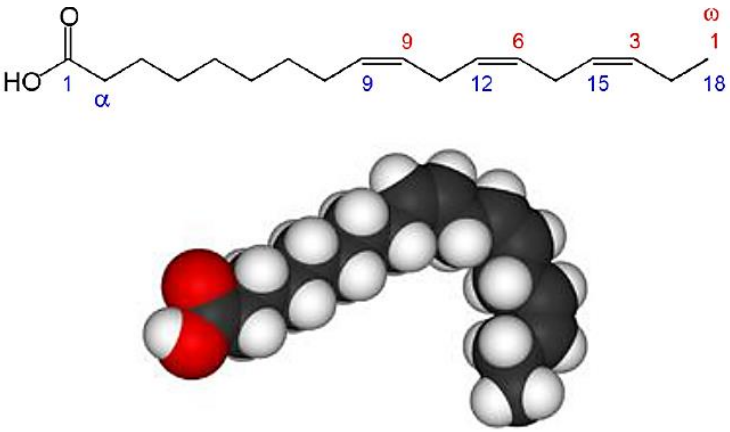
α-linolenska kiselina (ALA) je glavni predstavnik skupine ω-3 masnih kiselina i prekursor je za sintezu eikosapentaenske (EPA), dokosaheksaenske (DHA) i drugih ω-3 masnih kiselina. Linolna kiselina (LA) je glavni predstavnik skupine ω-6 masnih kiselina i služi kao prekursor za sintezu arahidonske i drugih masnih kiselina iz te skupine (Mandić, 2003).

LA: cis, cis-9,12-oktadekadienska kiselina



linolna kiselina C18:2, ω-6

ALA: cis, cis, cis-9,12,15-oktadekatrienska kiselina



α-linolenska kiselina C18:3, ω-3

Slika 2 Kemijska struktura i trodimenzionalni prikaz linolne i α-linolenske masne kiseline

Negliceridni sastojci

Negliceridni sastojci prirodnih biljnih ulja su karotenoidi, liposolubilni vitamini (A, D, E, K), tokoferoli, steroli, fosfatidi, pigmenti, voskovi, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi, ketoni i tragovi metala. Sadržaj negliceridnih sastojaka u prirodnim biljnim uljima iznosi najčešće od 1 do 2%, uz izuzetak ulja pamuka ili soje gdje sadržaj ovih sastojaka iznosi i do 3,5% (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). Liposolubilni vitamini (A, D, E, K) i karotenoidi su vrlo poželjni negliceridni sastojci te proces rafinacije treba voditi u cilju što većeg sadržaja u uljima kako bi se postigla visoka kvaliteta ulja. Fosfatidi, voskovi i tragovi metala su vrlo nepoželjni negliceridni sastojci jer smanjuju kvalitetu ulja te je njihovo izdvajanje neophodno tijekom pojedinih faza procesa rafinacije ulja.

2.1.2. Podjela biljnih ulja

U svijetu se za dobivanje biljnih ulja koristi više od 20 vrsta biljaka, pri čemu samo 12 uljarica ima veći ekonomski značaj (Dimić, 2005). Ulja se mogu podijeliti prema porijeklu sirovine (obuhvaća ulja i masti iz mesnatog dijela ploda i ulja iz sjemena) i prema dominirajućim masnim kiselinama, odnosno prema porijeklu sjemena.

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmino ulje, avokado…
2. Ulja i masti iz sjemena i ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:
   - laurinske masti i ulja (kokos, palmine koštice…)
   - masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao maslac, shea maslac…)
   - ulja palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje…)
   - ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buče, repica…)
   - ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja…)
3. Ulja prema porijeklu biljke:
   - ulja iz leguminoza (kikiriki, soja…)
   - ulja krstašica (repica, slačica-senf…) (Bockisch, 1998)

Ulja se ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji razvrstavaju u sljedeće kategorije: rafinirana ulja, hladno prešana ulja i nerafinirana ulja (NN 41/12).

Jestiva rafinirana ulja se dobivaju od sirovih ulja primjenom složenog procesa rafinacije tijekom kojeg se ulje podvrgava utjecaju visokih temperatura pod vakuumom, djelovanju određenih kemikalija ili drugih agenasa.

Kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih ulja se ne primjenjuje proces rafinacije. Zahvaljujući vrsti i kvaliteti sirovine, načinu izdvajanja (prešanje) i odsustvu rafinacije, nerafinirana ulja se veoma razlikuju od rafiniranih ulja. Razlike se ogledaju, prije svega, u aromi (ulja imaju karakterističan miris i okus izvornih sirovina), izgledu, održivosti, kemijskom sastavu, nutritivnoj vrijednosti itd.

Hladno prešana ulja su znatno bogatija i raznim bioaktivnim sastojcima prirodnog porijekla, od kojih su najznačajniji vitamini i provitamini, fitosteroli, fosfolipidi, komponente s antioksidacijskim djelovanjem, koje su neophodne za normalno funkcioniranje organizma ili za prevenciju određenih bolesti (Dimić, 2005).

2.2. CHIA SJEMENKE

Chia (*Salvia hispanica* L.) je porijeklom iz južnog Meksika i sjeverne Gvatemale. Naziv „chia“ je španjolska preinaka riječi *chian*, što znači „uljast“, a potječe iz *Nahuatl* jezika Azteka. Chia sjemenke se počinju koristiti u ljudskoj prehrani oko 3500 g. pr. Kr. Azteci i Maje su koristili sjemenke chie za pripremu različitih lijekova, hrane i bojanje. Chia je bila jedna od glavnih kultura predkolumbijskog društva, nadmašena jedino kukuruzom i grahom (Cahill, 2003; Craig, 2004).

Španjolskim osvajanjem potisnute su mnoge tradicije predkolumbijskih naroda i uništena je većina poljoprivredne proizvodnje. Mnoge kulture koje su predstavljale temelj prehrane uništene su zbog bliske povezanosti s religijom te zamijenjene egzotičnim kulturama za to područje kao što su pšenica i ječam (Craig, 2004).

Ova biljka je ponovno otkrivena prije nekoliko godina kao potencijalni sastojak hrane, u pogledu razvoja funkcionalne hrane, i komponenta u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Chia se danas najviše uzgaja u Meksiku, Argentini, Boliviji, Ekvadoru, Australiji i Gvatemali (Coates i Ayerza, 1996).

Chia (*Salvia hispanica* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice usnatice (*Labiatae*). Biljka dosegne visinu do 1 m, svaka grana završava klasastim cvatom sastavljenim od plavo-ljubičastih cvjetova (**Slika 3**). Listovi sadrže esencijalna ulja koja djeluju kao sredstvo za odbijanje kukaca zbog čega biljka može biti uzgojena bez pesticida ili drugih kemijskih spojeva (Ahmed i sur., 1994). Sadi se u travnju ili svibnju, a bere u listopadu. Sjemenke se od biljke odvajaju ručno (izbijajući sjeme iz suhih glavica pomoću udarača za sjemenke) ili strojno (kombajnom).

Slika 3 Chia (*Salvia hispanica* L.) (WEB 2)

Chia sjemenke su vrlo sitne (1000 zrna teži oko 1,3 g), ovalnog oblika, dužine od 2 do 2,5 mm, širine od 1,2 do 1,5 mm i od 0,8 do 1 mm debljine, a mogu biti tamno-smeđe do crne, bijele i sive boje (**Slika 4**). Bijele sjemenke su uglavnom veće od crnih sjemenki (Ixtaina i sur., 2008).

Slika 4 Crne i bijele chia sjemenke (WEB 3)

2.2.1. Sastav i fizikalno-kemijska svojstva ulja chie

Utvrđeno je da su chia sjemenke dobar izvor ulja, proteina, prehrambenih vlakana, vitamina i minerala te polifenolnih spojeva (Ayerza i Coates, 2004; Capitani i sur., 2012; Reyes-Caudillo i sur., 2008). Prosječan kemijski sastav chia sjemenki prikazan je na **Slici 5**. Brašno od chia sjemenki je bogato proteinima i vlaknima, slično je lanenom i sojinom brašnu, uz relativno nizak sadržaj vlage (oko 7%). Chia sjemenke sadrže 25 – 40% ulja. Ulje chie sadrži polinezasićene masne kiseline, omega-6 linolnu masnu kiselinu u količini 15 – 39% i pretežno omega-3 α-linolensku masnu kiselinu (ALA) u količini 60 – 70% (**Tablica 3**). Sadržaj ALA u ulju chia sjemenki je veći od bilo kojeg do sada ispitanog ulja (Ayerza, 1995; Coates i Ayerza, 1996), u usporedbi sa 57% u sjemenkama lana (*Linum usitatissimum* L.). Povoljni utjecaji ω-3 masnih kiselina vidljivi su u prevenciji krvožilnih bolesti, osteoporoze, dijabetesa, artritisa, tumora, mentalnih bolesti te različitih upalnih i imunoloških poremećaja (Simopoulos, 2002).

Ayerza (1995) je ispitivao utjecaj klime na sadržaj ulja i sastav masnih kiselina chia sjemenki na pet lokacija u Argentini, u vremenskom razdoblju siječanj – lipanj. Istraživanja su pokazala da lokacija ima utjecaj na sadržaj ulja u sjemenkama, kao i na sastav masnih kiselina. ALA je bila dominantna u uzorcima sa svih lokacija i njen sadržaj je iznosio 52,0 – 63,4%. Tipičan sastav ostalih masnih kiselina ovog ulja je bio: linolna (19,8 – 20,8%), oleinska (7,3 – 8,2%), palmitinska (6,2 – 7,1%) i stearinska (3,1 – 3,7%).

Sadržaj proteina u chia sjemenkama iznosi od 15% do 25% i veći je od sadržaja proteina u žitaricama kao što su pšenica, kukuruz, riža, zob i ječam (Ayerza i Coates, 2011). Chia sjemenke ne sadrže gluten pa brašno proizvedeno mljevenjem chia sjemenki mogu koristiti osobe oboljele od celijakije.

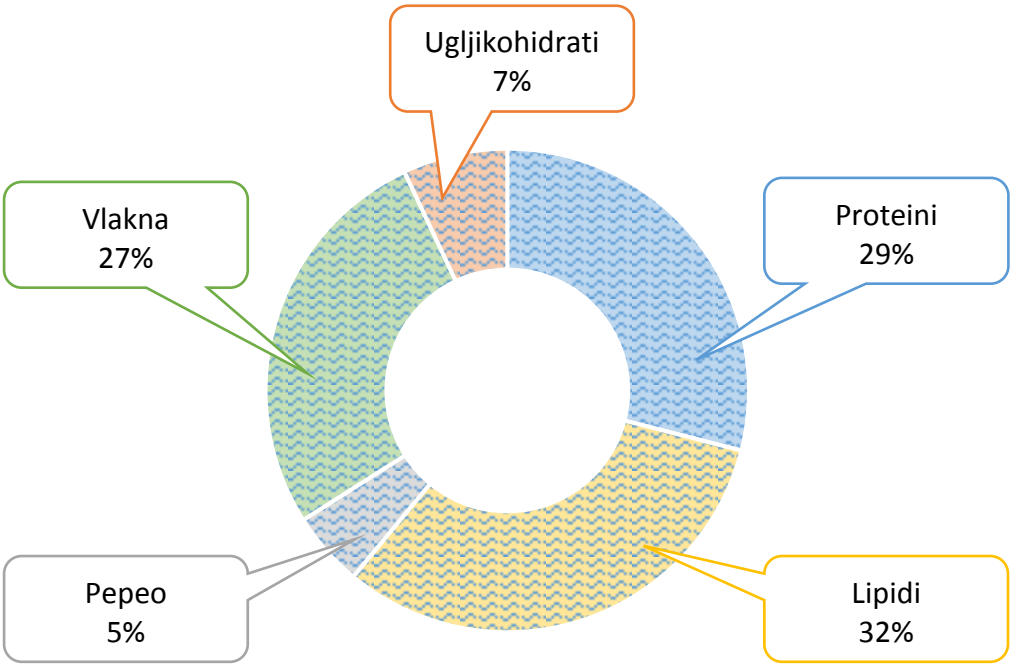
Reyes-Caudillo i sur. (2008) su koristili dvije vrste meksičkih chia sjemenki da ispitaju sadržaj prehrambenih vlakana. Sadržaj ukupnih, topljivih prehrambenih vlakana (SDF) i netopljivih prehrambenih vlakana (IDF), je bio 36,97 – 41,41 g/100 g sjemenki. Sadržaj SDF je bio znatno niži (6,16 – 6,84 g/100 g) od sadržaja IDF (32,8 – 34,9 g/100 g). Glavna komponenta IDF je lignin, za koji se smatra da štiti NMK ulja chie gradeći čvrstu i otpornu strukturu. Visok sadržaj vlakana može koristiti u prevenciji kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa što je dokazano mnogim epidemiološkim studijama (Ayerza i Coates, 2011).

Chia sjemenke sadrže i veoma značajne količine vitamina B skupine kao što su niacin, riboflavin i tiamin. Osim toga, utvrđen je i visok sadržaj minerala poput kalcija, kalija, magnezija i fosfora (Bushway i sur., 1981).

U sjemenkama i ulju utvrđen je visok sadržaj prirodnih antioksidanasa kao što su tokoferoli, fitosteroli, karotenoidi i fenolni spojevi, uključujući klorogensku kiselinu, kafeinsku kiselinu, miricetin, kvercetin i kampferol (Capitani i sur., 2012; Ixtaina i sur., 2011; Reyes-Caudillo i sur., 2008).

Ixtaina i sur. (2012) su odredili sadržaj tokoferola hladno prešanog ulja chie. Sadržaj ukupnih tokoferola iznosio je 480 ppm, od toga je 463 ppm γ-tokoferol, 15 ppm δ-tokoferol i 2 ppm α-tokoferol.

Ulje chie je veoma osjetljivo na oksidaciju i ima nisku oksidacijsku stabilnost zbog visokog udjela polinezasićenih masnih kiselina unatoč antioksidacijskom djelovanju bioaktivnih komponenti sadržanih u ulju (tokoferoli, polifenoli, karotenoidi, fosfolipidi). U daljnjim istraživanjima oksidacijsku stabilnost može se poboljšati dodatkom prirodnih antioksidanasa poput fenolnih spojeva (Ixtaina i sur., 2011).



Slika 5 Kemijski sastav chia sjemenki (Guiotto i sur., 2013)

Tablica 3 Sastav masnih kiselina ulja chia sjemenki iz Argentine i Gvatemale dobivenog prešanjem (Ixtaina i sur., 2011)

Masna kiselina	**Sastav (%)**	
	Ulje chie **ARGENTINA**	Ulje chie **GVATEMALA**
Palmitinska C16:0	6,6	5,9
Stearinska C18:0	3,1	4,4
Oleinska C18:1	5,4	5,5
Linolna C18:2	20,3	17,5
α-linolenska C18:3	64,5	66,7
SFA	9,8	10,3
PUFA	84,9	84,1
PUFA/SFA	9,2	8,2
n-3/*n*-6	3,18	3,81

SFA – zasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline; *n*-3/*n*-6 – α-linolenska/linolna masna kiselina

Fizikalno-kemijska svojstva su veoma značajni parametri svakog ulja s obzirom da ukazuju, ne samo na osobine ispitivanog ulja, već i na kvalitetu i mogućnost njegove primjene (**Tablica 4**). Jodni i saponifikacijski broj, indeks refrakcije i sadržaj neosapunjivih tvari predstavljaju posebno bitne karakteristike ulja i služe za njegovu identifikaciju.

Tablica 4 Fizikalno-kemijska svojstva ulja chia sjemenki iz Argentine i Gvatemale dobivenog prešanjem (Ixtaina i sur., 2011)

Parametar	Ulje chie **ARGENTINA**	Ulje chie **GVATEMALA**
Kiselinski broj (mg KOH/g ulja)	0,91	0,70
Jodni broj (g I_2/100 g ulja)	208,5	209,4
Saponifikacijski broj (mg KOH/g ulja)	193,12	192,99
Sadržaj neosapunjivih tvari (%)	0,85	0,68
Indeks refrakcije (25 ^{o}C)	1,4794	1,4798

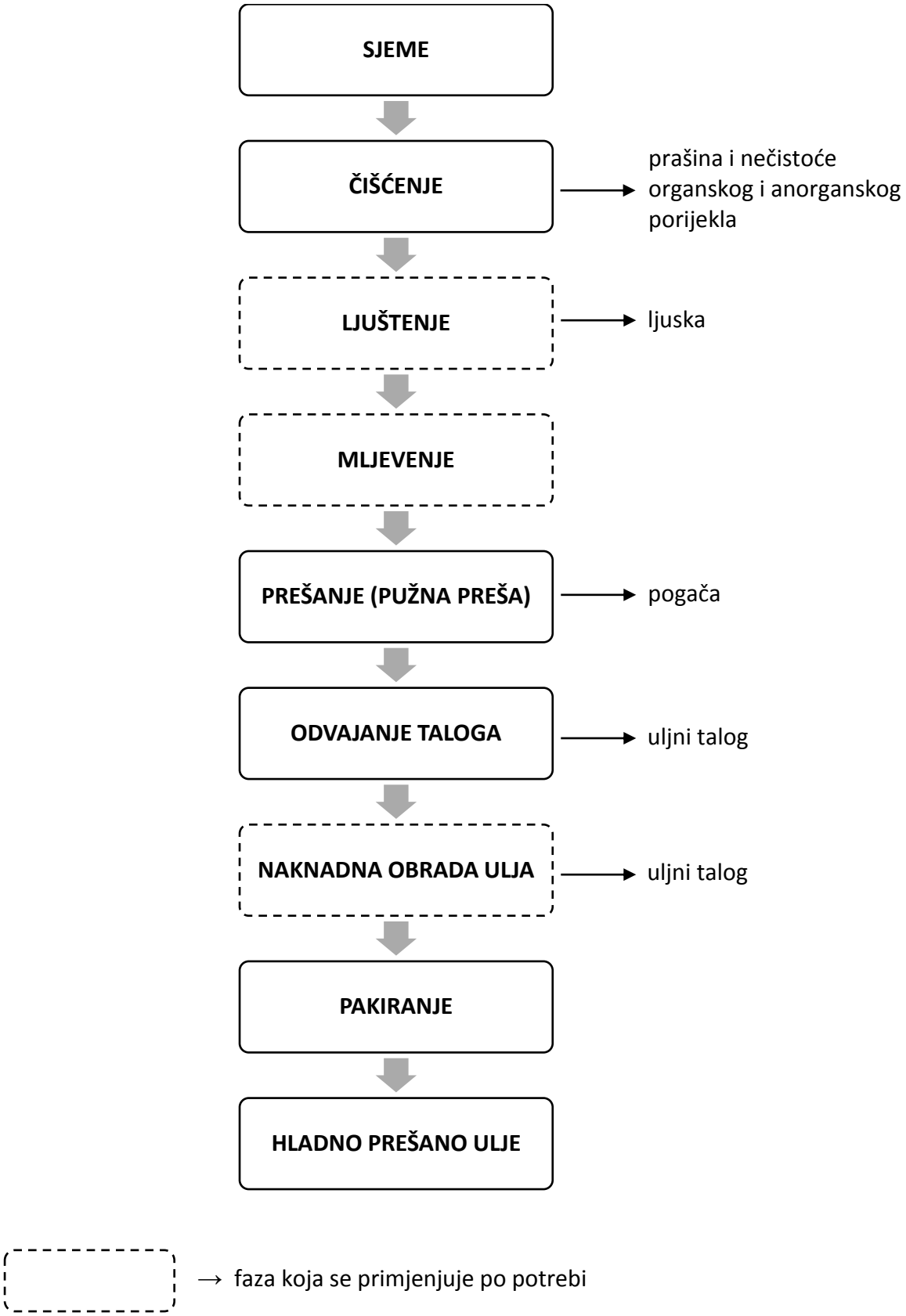
2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANIH BILJNIH ULJA

Ideja o hladno prešanim uljima nije nova. Najvjerojatnije datira od početka upotrebe hidrauličnih preša u 19. stoljeću. Njihovom primjenom se smanjilo zagrijavanje sirovine tijekom samog procesa prešanja.

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50 ^{o}C. Može se provesti i postupak čišćenja, odnosno bistrenja ulja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12). U ovom tehnološkom procesu sirovina i ulje tijekom prešanja nisu izloženi utjecaju povišenih temperatura, u cilju održavanja potpune kvalitete i nutritivne vrijednosti ulja.

Na kvalitetu hladno prešanih ulja pored kvalitete polazne sirovine i drugi parametri imaju značajan utjecaj. Neki od mnogobrojnih faktora kvalitete hladno prešanih ulja su: tehnološki parametri procesa prerade, vrijeme i uvjeti čuvanja sjemenki prije prerade, prisustvo nečistoća i dr. (Dimić, 2005).

Tehnološki proces proizvodnje hladno prešanih ulja, iz sjemenki uljarica i drugih sirovina, prikazan je na **Slici 6**, u osnovi obuhvaća pripremu sirovine za izdvajanje ulja i izdvajanje ulja prešanjem primjenom pužne preše.



Slika 6 Blok shema tehnološkog procesa proizvodnje hladno prešanih ulja (Dimić, 2005)

Priprema sirovine za izdvajanje ulja obuhvaća čišćenje, ljuštenje i mljevenje, ali na prešanje može ići sirovina i bez ljuštenja i mljevenja što ovisi o vrsti sirovine (Dimić, 2005). Kod proizvodnje hladno prešanog ulja chie nije potrebno provoditi tehnološke operacije ljuštenja i mljevenja, stoga očišćena sjemenka ide na proces prešanja na pužnoj preši. U nastavku je opisan samo dio tehnološkog procesa proizvodnje koji se odnosi na proizvodnju hladno prešanog ulja chie.

Pri proizvodnji hladno prešanih ulja pogača nakon prešanja može sadržavati relativno velike količine zaostalog ulja. U cilju povećanja ekonomičnosti procesa postoji mogućnost dvostrukog prešanja. U ovom slučaju pogača od prvog prešanja se kondicionira i ponovno preša (Fils, 2000). Ulje dobiveno nakon drugog prešanja može biti iskorišteno samo za manje kvalitetne proizvode.

2.3.1. Čišćenje sjemenki

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

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

Zadatak procesa čišćenja je uklanjanje svih organskih (različiti dijelovi biljke, polomljene sjemenke) i anorganskih nečistoća (zemlja, prašina, kamenje, metal). Čišćenje se mora provesti što efikasnije jer izdvajanje nečistoća doprinosi boljoj senzorskoj i kemijskoj kvaliteti proizvedenog ulja, a izdvajanjem metalnih predmeta se izbjegava mogućnost oštećenja preše.

2.3.2. Prešanje

Prešanje je tehnološki proces tijekom kojeg se iz pripremljene sirovine, mehaničkim putem, primjenom tlaka izdvaja ulje. Tehnološki proces prešanja provodi se na hidrauličnim i pužnim prešama. Pojavom hidrauličnih preša omogućeno je dobivanje većih tlakova pomoću malih sila, a uvođenjem pužnih preša omogućen je kontinuiran proces izdvajanja ulja prešanjem (Fils, 2000).

Hidraulične preše

Hidraulične preše predstavljaju najstarije uređaje u proizvodnji biljnih ulja. Prema načinu na koji se sirovina slaže hidraulične preše mogu biti otvorene i zatvorene. Njihova primjena je sve rjeđa i danas se koriste za proizvodnju maslinovog ulja, ulja koštica buče te ulja sezama (Rac, 1964).

Pužne preše

Kontinuirane pužne preše su u osnovi pužni transporteri, a sastoje se od vodoravnog puža, koša oko puža, uređaja za punjenje i doziranje materijala, uređaja za regulaciju debljine pogače, zupčanog prijenosnika i kućišta preše. Princip prešanja je takav da pužnica potiskuje materijal iz većeg zatvorenog prostora u manji što izaziva sabijanje materijala, pri čemu dolazi do porasta tlaka i cijeđenja ulja. Radni tlak u preši regulira se različitom debljinom pogače, a regulacija debljine pogače u preši postiže se odgovarajućom konstrukcijom izlaznog konusa. Što je manji otvor na glavi preše, tlak u preši je veći i obrnuto. Mogu se koristiti kao predpreše ili za završno prešanje. Stupanj djelovanja prešanja kontinuiranih pužnih preša koje rade kao predpreše je oko 50 – 60% u odnosu na sadržaj ulja, a kod završnih preša može iznositi 80 – 90% (Rac, 1964; Dimić i Turkulov, 2000).

Prilikom prešanja dolazi do porasta temperature kao posljedica visokog trenja u materijalu i preši. Kod proizvodnje hladno prešanih ulja visina temperature izlaznog ulja je izuzetno bitna jer ne bi smjela biti viša od 50 ^{o}C. Da bi se to postiglo prešanje se može provesti pri nižem tlaku. Tada je prinos ulja manji, odnosno više je zaostalog ulja u pogači (Bockisch, 1998).

2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća

Nakon prešanja u sirovom ulju se nalaze mehaničke (netopljive) nečistoće, voda i sluzave tvari koje mogu nepovoljno utjecati na kvalitetu i senzorska svojstva ulja. Mehaničke (netopljive) nečistoće u sirovom ulju čine masna prašina, sitniji ili krupniji dijelovi sjemenke ili ploda (jezgra, ljuska). Količina nečistoća ovisi o konstrukciji preše, finoći usitnjavanja materijala prije prešanja, tlaku u preši, vrsti sirovine itd.

Netopljive nečistoće iz sirovog ulja se mogu izdvojiti postupcima poput taloženja (sedimentacije), filtracije i centrifugiranja.

Odvajanje netopljivih nečistoća taloženjem

Odvajanje taloženjem ili sedimentacijom je najjednostavniji način odvajanja mehaničkih nečistoća. Provodi se na principu razlike u specifičnoj masi čestica, odnosno čestice nečistoća koje imaju veću specifičnu masu od ulja talože se prirodnim putem na dno posude, nakon čega se izdvajaju iz ulja. Nedostatak je mala brzina taloženja pa proces odvajanja mehaničkih nečistoća može potrajati i nekoliko tjedana.

Odvajanje netopljivih nečistoća filtracijom

Odvajanje filtracijom je znatno efikasnije, sirovo ulje se propušta kroz filter na kojem zaostaju mehaničke nečistoće. Kao filtersko sredstvo koriste se tkanine od pamuka, lana, sintetičkih vlakana ili fina metalna sita. Filtracija se provodi na uređajima kao što su vibracijska sita, filter preše, filtracijske centrifuge ili centrifugalni separatori. Kapacitet filtracije je proporcionalan veličini filtracijske površine i brzini filtracije. Brzina filtracije ovisi o veličini pora filtera, viskozitetu ulja i talogu koji zaostaje na filteru, a može se povećati dodatkom pomoćnog filtracijskog sredstva (Dimić, 2005).

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41/12) hladno prešana ulja moraju udovoljavati zahtjevu da sadrže najviše 0,1% netopljivih nečistoća.

2.3.4. Pakiranje i skladištenje biljnih ulja

Jestiva biljna ulja, pogotovo hladno prešana i nerafinirana, su vrlo osjetljiv prehrambeni proizvod po pitanju održivosti. Tijekom skladištenja kvaliteta ulja se mijenja pod utjecajem različitih čimbenika (svjetlosti, temperature, kisika i dr.), stoga je iznimno važan ambalažni materijal u kojem se ulje čuva do upotrebe. Ambalaža zajedno sa proizvodom čini jednu cjelinu koja štiti proizvod od djelovanja različitih čimbenika. Ambalažni materijal mora onemogućiti interakcije sa proizvodom, spriječiti prodiranje plinova, vodene pare i svjetlosti do proizvoda, imati termokemijsku otpornost pri preradi i punjenju, te dobra fizikalno-mehanička svojstva, lako se otvarati i pružati potrebne informacije (Curaković i sur., 1996). Za pakiranje i skladištenje biljnih ulja najčešće se koriste staklo, polimerni materijali i inoks spremnici (Dimić, 2005).

2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja imaju ograničenu trajnost i podliježu raznim nepoželjnim promjenama, izazvanim kemijskim reakcijama i enzimskim ili mikrobiološkim procesima, koje za posljedicu imaju kvarenje ulja. Kako će se odvijati proces kvarenja ovisi o vrsti i kvaliteti ulja te o uvjetima čuvanja. Posljedice kvarenja očituju se u nastajanju razgradnih produkata (posebno isparljivi karbonilni spojevi i niže molekularne masne kiseline) koji daju neugodan okus i miris te ulja postaju neupotrebljiva za prehranu. Kvarenjem dolazi i do promjene prehrambene vrijednosti ulja, gubitka jednog dijela biološki aktivnih tvari (esencijalne masne kiseline, vitamini, provitamini), a nastaju i štetni spojevi (peroksidi, polimeri, malondialdehid) (Čorbo, 2008; Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

2.4.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Za kvarenje uzrokovano enzimskim i mikrobiološkim procesima potrebna je prisutnost enzima i mikroorganizama, odgovarajuća sredina i uvjeti za njihov razvoj (voda, pH). Enzimski i mikrobiološki procesi kvarenja biljnih ulja se dijele na hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja je reakcija pri kojoj dolazi do oslobađanja masnih kiselina iz molekule triacilglicerola uslijed cijepanja esterske veze, djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisutnost vode. Posljedica istoga je povećanje kiselosti ulja, a istovremeno nastaju mono- i digliceridi kao i glicerol. Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem sadržaja slobodnih masnih kiselina koji se najčešće izražava u postocima (%) oleinske kiseline. Lipolitički enzimi inaktiviraju se na temperaturama višim od +80 ^{o}C i nižim od -20 ^{o}C pa je zaustavljen proces hidrolitičke razgradnje (Rade i sur., 2001).

Hladno prešana biljna ulja ne smiju sadržavati više od 2% SMK izraženih kao % oleinske kiseline (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

β-ketooksidacija

β-ketooksidacija je reakcija u kojoj mikroorganizmi uz prisutnost kisika napadaju zasićene masne kiseline, odnosno metilensku grupu u β-položaju. Posljedica je nastajanje β-keto kiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije. Uzročnici reakcije su gljivice iz grupe *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*. Biljna ulja u kojima je došlo do β-ketooksidacije imaju izražen neugodan okus i miris po užeglosti.

2.4.2. Kemijski procesi

Procesi kemijske razgradnje, a naročito autooksidacija, su najčešći oblik kvarenja biljnih ulja. Zbog toga se, veoma često, kada je riječ o kvarenju ulja, to odnosi na oksidacijsko kvarenje (Dimić i Turkulov, 2000). Kemijski procesi kvarenja biljnih ulja se dijele na autooksidaciju, termooksidacijske promjene i reverziju.

Autooksidacija

Autooksidacija ulja ili „užeglost“ je proces koji nastaje djelovanjem kisika iz zraka na dvostruke veze u lancu nezasićene masne kiseline. Da li će proces autooksidacije biljnih ulja nastupiti brže ili sporije ovisi o sastavu ulja i prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ovu reakciju, te uvjetima skladištenja (Moslavac i sur., 2010). Autooksidaciju ubrzavaju povišene temperature, svjetlo i tragovi organskih i anorganskih tvari (željezo, bakar), a usporavaju antioksidansi. Produkti nastali procesom autooksidacije daju uljima neugodan miris i okus te narušavaju senzorska svojstva ulja. Autooksidacija je lančana reakcija stvaranja slobodnih radikala, a tijek reakcije se može razdvojiti u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija.

Tijek autooksidacije može se prikazati na sljedeći način (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Rade i sur., 2001):

1. Početak reakcije – **inicijacija**:

   $RH + O_2 \rightarrow R\bullet + HOO\bullet$

2. Tijek reakcije – **propagacija**:

   $R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$

   $ROO\bullet + RH \rightarrow ROOH + R\bullet$

   } stvaranje hidroperoksida

   $ROOH \rightarrow RO\bullet + OH\bullet$

   $2ROOH \rightarrow ROO\bullet + RO\bullet + H_2O$

   } razgradnja hidroperoksida

   $OH\bullet + RH \rightarrow R\bullet + H_2O$

   $RO\bullet + RH \rightarrow R\bullet + ROH$

3. Završetak reakcije – **terminacija**:

   $R\bullet + R\bullet \rightarrow R\text{-}R$

   $R\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR$

   $ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$

   } finalni produkti oksidacije

U prvoj fazi (**inicijacija**) kisik iz zraka djeluje na nezasićene masne kiseline i pri tome se stvaraju slobodni radikali. Do homolitičkog cijepanja na metilnim skupinama, odnosno izdvajanja vodika i nastanka alkil radikala masne kiseline, dolazi pod utjecajem topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog svijetla ili uz katalitičko djelovanje iona metala.

U drugoj fazi (**propagacija**) reakcija se kontinuirano nastavlja i dolazi do stvaranja hidroperoksida i slobodnih radikala peroksida vezanjem kisika na slobodne radikale masnih kiselina. Hidroperoksidi su primarni produkti autooksidacije i katalizatori su autooksidacije ulja, nestabilni su pa se dalje razgrađuju na slobodne radikale i razgradne produkte oksidacije kao što su kiseline, alkoholi, aldehidi i ketoni. To su sekundarni produkti autooksidacije koji ulju daju neugodan, užegnut miris i okus.

U trećoj fazi (**terminacija**) slobodni radikali reagiraju međusobno pri čemu nastaju polimeri koji su inaktivni (stabilni) pa reakcija autooksidacije završava.

Kvantitativni i kvalitativni sadržaj masnih kiselina koje ulaze u sastav triacilglicerola, tj. broj i položaj nezasićenih veza, ima ključnu ulogu u procesu oksidacije ulja. Brzina reakcije oleinske, linolne i linolenske kiseline s kisikom je u direktnoj ovisnosti s brojem dvostrukih veza. Tako je brzina reakcije linolne kiseline s kisikom 10 puta veća, a linolenske 25 puta veća, u odnosu na brzinu reakcije oleinske kiseline (Shen i sur., 1997).

O'Keefe i sur. (1993) su pratili oksidacijsku stabilnost jednog od najstabilnijih ulja, ulja kikirikija, sa visokim i normalnim sadržajem oleinske kiseline, i došli do zaključka da porast sadržaja oleinske kiseline u ulju značajno snižava stupanj autooksidacije.

Povišena temperatura ubrzava djelovanje kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida. Svjetlost nižih valnih duljina ($\lambda < 380$ nm) više ubrzava oksidaciju ulja od svjetlosti viših valnih duljina (vidljivo svjetlo).

Tragovi metala (Cu, Mn, Fe, Cr, Ni, Zn, Al) su izraziti prooksidansi već u malim koncentracijama, ali samo u slučaju kada su već prisutni hidroperoksidi. Djelovanjem metala na hidroperokside dolazi do oksidacije iona metala i stvaranja slobodnog radikala koji nastavlja lančanu reakciju autooksidacije.

Prooksidacijsko djelovanje imaju klorofil i hem-spojevi. Klorofil uz prisutnost svjetla djeluje kao prooksidans, dok u tamnom prostoru klorofil gubi prooksidacijsko djelovanje te djeluje kao sinergist uz prisutni antioksidans.

Termooksidacijske promjene ulja

Zagrijavanjem ulja pri temperaturama višim od 150 ^{o}C, uz prisutnost vodene pare i zraka, osim produkata oksidacije dolazi i do nastanka produkata termooksidacije (cikličke masne kiseline, oksipolimeri, dimeri i polimeri masnih kiselina i triacilglicerola itd.) (Chang i sur., 1978).

Termooksidacijske promjene ovise o vrsti ulja, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Kod ulja sa većim udjelom nezasićenih masnih kiselina, dolazi do brzog nastanka produkata termooksidacije. Termooksidacijskim promjenama najbrže podliježu ulja sa visokim udjelom linolne kiseline (preko 50%) kao što je ulje suncokreta.

Prilikom prženja mijenjaju se fizikalna i kemijska svojstva ulja te nutritivna vrijednost ulja jer dolazi do gubitka polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Fizikalna svojstva koja se mijenjaju tijekom prženja, odnosno dolazi do porasta njihovih vrijednosti, su indeks refrakcije, specifična težina, viskozitet i boja po Lovibondu. Porast udjela SMK, broja osapunjenja, peroksidnog broja i smanjenje jodnog broja su kemijski pokazatelji (Tyagi i Vasishtha, 1996).

Reverzija

Reverzija je pojava kod koje neka biljna ulja, nakon kraćeg vremena čuvanja, poprimaju neugodan okus i miris po sirovini ili ribi koji postaju izraženiji kada se ulje zagrijava. Karakteristična je za ulja koja sadrže linolensku kiselinu kao što su sojino i repičino ulje. Za usporavanje reverzije primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja zbog uklanjanja linolenske kiseline ili se dodaju aditivi koji povećavaju održivost ulja (Rac, 1964; Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja se degradiraju kroz nekoliko reakcija na koje utječu zagrijavanje i dugotrajno skladištenje. Glavne reakcije degradacije su oksidacija i razgradnja oksidacijskih produkata što dovodi do smanjenja nutritivne vrijednosti i senzorske kvalitete. Zaustavljanje tj. usporavanje oksidacijskih procesa vrlo je bitno za proizvođače hrane kao i za potrošače. Oksidacija se može inhibirati na različite načine kao što su uklanjanje kisika, upotreba niskih temperatura, upotreba prikladne ambalaže itd. Druge metode zaštite od oksidacije su upotreba specifičnih aditiva koji inhibiraju oksidaciju, a zovu se antioksidansi.

2.5.1. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje prisutne u malim koncentracijama inhibiraju, odnosno usporavaju autooksidacijsko kvarenje biljnih ulja. Za produženje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja primjenjuju se razni sintetski i prirodni antioksidansi (Yanishlieva i Marinova, 2001; Merrill i sur., 2008).

Antioksidansi se veoma razlikuju po kemijskoj strukturi i imaju različite mehanizme djelovanja. Na osnovi različitog mehanizma djelovanja antioksidansi mogu biti primarni i sekundarni antioksidansi. Primarni antioksidansi inhibiraju ili usporavaju oksidaciju uklanjanjem slobodnih radikala, dok sekundarni antioksidansi djeluju mehanizmom koji ne uključuje direktno uklanjanje slobodnih radikala (vezanje metalnih iona, vezanje kisika, razgradnja hidroperoksida do neradikalskih spojeva, apsorpcija UV zračenja).

Antiooksidansi sprječavaju autooksidacijsko kvarenje ulja kroz dvije reakcije:

1. Inaktivacija slobodnih radikala – antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili radikal masne kiseline (R•):

   $AH + ROO\bullet \rightarrow A\bullet + ROOH$ ili $AH + R\bullet \rightarrow RH + A\bullet$

2. Hvatanje slobodnih radikala – slobodni radikal antioksidansa (A•) se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili radikal masne kiseline (R•):

   $A\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOA$ ili $A\bullet + R\bullet \rightarrow RA$

Antioksidans se mora dodati ulju niskog peroksidnog broja (Pbr < 1 mmol O_2/kg) jer dodatkom antioksidansa u ulje u kojem je već počela oksidacija (nakon završetka perioda indukcije), ne dolazi do sprječavanja oksidacije zbog stvorenih hidroperoksida.

Djelovanje antioksidansa ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji u kojoj je dodan, vrsti ulja i uvjetima čuvanja. Povećanjem koncentracije antioksidansa, povećava se i oksidacijska stabilnost ulja. Međutim, neki antioksidansi u većoj koncentraciji djeluju kao prooksidansi, odnosno ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja.

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa može se odrediti stabilizacijskim ili zaštitnim faktorom (PF) prema izrazu **(1)** (Yanishlieva i Marinova, 2001):

$$PF = IP_X / IP_K \quad \textbf{(1)}$$

gdje je:

IP_X – indukcijski period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa (h);

IP_K – indukcijski period uzorka ulja bez antioksidansa (h).

Zaštitni faktor (PF) pokazuje koliko se puta poveća oksidacijska stabilnost ili održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa. Duži indukcijski period (IP) ukazuje na snažniju aktivnost antioksidansa, a vrijednost zaštitnog faktora (PF) veća od 1,0 ukazuje na bolju zaštitu ulja od autooksidacije (Gramza i sur., 2006).

Između pojedinih antioksidanasa postoji sinergističko djelovanje jednog antioksidansa na drugi pa zajedno imaju bolje antioksidativno djelovanje, stoga je za bolju održivost ulja poželjno dodati smjesu antioksidanasa.

Danas je poznat veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa, ali ne koriste se svi za stabilizaciju biljnih ulja. Antioksidansi koji se najčešće upotrebljavaju u hrani prikazani su u **Tablici 5**.

Tablica 5 Primarni antioksidansi koji se koriste u hrani (Shahidi, 2005)

PRIRODNI	SINTETSKI
Karotenoidi	Butil hidroksianisol (BHA)
Flavonoidi	Butil hidroksitoluen (BHT)
Fenolne kiseline	Propil galat (PG)
Tokoferoli i tokotrienoli	Tercijarni butilhidrokinon (TBHQ)

Zbog toksikoloških razloga prekomjerna upotreba sintetskih antioksidanasa je dovedena u pitanje, a zahtjevi potrošača su usmjereni ka korištenju prirodnih antioksidanasa (Pokorny, 2001). Opće prihvaćena činjenica je da su prirodni antioksidansi vrjedniji, učinkovitiji i zdravstveno sigurniji od sintetskih (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001).

Trend zamjene sintetskih spojeva sa prirodno aktivnim komponentama usmjerava istraživanja u pravcu ispitivanja različitih biljnih materijala i identificiranja novih spojeva s antioksidacijskim djelovanjem koji se mogu iz njih izolirati.

Prirodni antioksidansi

Prirodni antioksidansi mogu se naći u raznim dijelovima biljaka kao što su sjemenke, lišće, korijen i kora. Ekstrakti iz prirodnog biljnog materijala (voća, povrća, aromatskog i začinskog bilja) sadrže u značajnim količinama tokoferole, karotenoide, flavonoide, vitamin C koji doprinose povećanju održivosti ulja, ali i razvoju zdravije prehrane (Ahn i sur., 2008; Erkan i sur., 2008).

Od prirodnih antioksidanasa koji se nalaze u biljnim uljima najpoznatiji su tokoferoli. Po kemijskom sastavu su visoko molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Poznato je osam tokoferola, najvažniji su α-, β-, γ- i δ-tokoferol. Oni se razlikuju po svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α-tokoferol, poznat kao vitamin E, i štiti NMK od oksidacije *in vivo*. Najučinkovitije antioksidacijsko djelovanje imaju γ-tokoferol i δ-tokoferol.

Ekstrakti začinskih biljaka (ružmarina, kadulje, origana, klinčića, cimeta i dr.) sadrže fenolne spojeve te pokazuju efikasna antioksidacijska svojstva u biljnim uljima. Ružmarin se najviše primjenjuje od prirodnih antioksidanasa. Najznačajniji antioksidansi ekstrakta ružmarina su karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina. Karnosolna kiselina najviše doprinosi antioksidacijskom djelovanju ekstrakta ružmarina (Richhmeimer i sur., 1996).

Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi su po kemijskom sastavu uglavnom aromatski spojevi fenolnog tipa, a dobiveni su kemijskim putem i nisu prirodan sastojak hrane. Pripadaju aditivima, dodijeljeni su im E brojevi, te je količina antioksidanasa koja se može dodati prehrambenim proizvodima regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima (NN 64/2010). Najčešće korišteni sintetski antioksidansi su PG (E 310), TBHQ (E 319), BHA (E 320) i BHT (E 321). TBHQ ima najveću primjenu za usporavanje oksidacije biljnih ulja. Sintetski fenolni antioksidansi su uvijek supstituirani sa alkil skupinama kako bi se poboljšala njihova topljivost u uljima i mastima te reducirala toksičnost (Shahidi, 2005).

2.5.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produžuju njegovo djelovanje. Nazivaju se sekundarnim antioksidansima jer posredno pridonose usporavanju oksidacijskog kvarenja ulja, a ne provode izravno slobodne radikale u stabilne molekule (Koprivnjak, 2006). Sinergisti koji se najviše koriste uz antioksidanse su: limunska, askorbinska i octena kiselina, lecitin, askorbil palmitat i monoizopropil citrat. Uz antioksidans se dodaje 0,005 – 0,02% sinergista. Sinergisti imaju tri načina djelovanja:

1. Vežu tragove metala (Cu, Fe), inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje.
2. Doniraju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju njegovo djelovanje.
3. Sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida, tako što se sinergist veže sa radikalom antioksidansa i time zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA

Za određivanje stupnja oksidacije koristi se veći broj metoda. Međutim, ne postoji jedinstvena metoda pomoću koje bi se mogli dobiti podaci o stupnju ukupno nastalih oksidacijskih promjena. Zbog toga je potrebno primijeniti više metoda koje daju sadržaj ukupnih, tj. primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, da bi uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena bio potpun.

Metode koje se primjenjuju za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja mogu se podijeliti u tri grupe:

1. Senzorske metode,
2. Kemijske metode i
3. Fizikalne metode.

U **Tablici 6** prikazane su analitičke metode i ispitivani parametar za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja. To su statičke metode koje omogućuju određivanje sadržaja primarnih i sekundarnih produkata oksidacije u uzorcima uljarica, sirovih i jestivih ulja i proizvoda na bazi ulja i masti.

Tablica 6 Analitičke metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

Analitička metoda	Ispitivani parametar
Senzorske metode	
Senzorske karakteristike	Boja, miris, okus, izgled
Kemijske metode	
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehid
Karbonilni broj	Svi spojevi sa karbonilnom grupom
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbonilni spojevi
Kreis test	Epoksialdehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj OV = 2Pbr + Abr	Ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije
Fizikalne metode	
UV spektrofotometrija	Konjugirani dieni/trieni
IR spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nukl.magn.rezonanca)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehid) i ketoni
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehid i sekundarni produkti
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

2.7. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST BILJNIH ULJA

Pri određivanju kvalitete hladno prešanih ulja veoma je važno odrediti i oksidacijsku stabilnost ili održivost biljnih ulja. Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Poznavanje održivosti biljnih ulja važno je kako bi se unaprijed moglo odrediti vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije, bez bitnih promjena kvalitete, te za definiranje roka upotrebe ulja (Moslavac i sur., 2010). Rezultati istraživanja kvarenja biljnih ulja oksidacijskim procesima naglašavaju da njihova održivost ovisi o vrsti ulja, odnosno sastavu MK te o vrsti i udjelu sastojaka koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje.

Metode koje se primjenjuju za određivanje oksidacijske stabilnosti ili održivosti biljnih ulja zasnivaju se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja pod utjecajem temperature i zraka. Kao održivost uzima se vrijeme, u satima ili danima, potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja ili dok se organoleptički ne potvrdi pojava užeglog mirisa i okusa u ispitivanom uzorku. Održivost biljnih ulja najčešće se određuje: Oven testom, AOM testom i Rancimat testom.

2.7.1. Schaal Oven test

Oven test je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za ispitivanje održivosti biljnih ulja. Kod provođenja ovog testa uzorci ulja se zagrijavaju u termostatu (ili u sušioniku) pri temperaturi od 60 ^{o}C ili 63 ^{o}C i prati se, u određenim vremenskim razmacima, porast peroksidnog broja ili senzorske promjene ulja. Rezultati Oven testa izražavaju se kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena držanja uzorka (u danima) pri temperaturi 63 ^{o}C,
- broj dana za koji se postiže unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja i
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užeglosti putem senzorskih ispitivanja.

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

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

Kod AOM testa uzorci ulja se zagrijavaju na 98 ^{o}C, a kroz njih prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci ulja se uzimaju u određenim vremenskim razmacima i određuje se peroksidni broj. Održivost ulja se određuje do vrijednosti peroksidnog broja od 5 mmol O_2/kg jer je to granica pri kojoj je ulje i dalje ispravno.

2.7.3. Rancimat test

Za određivanje održivosti biljnih ulja najčešće se koriste instrumentalne metode za provedbu testa ubrzane oksidacije ulja kod točno definiranih uvjeta poput Rancimat testa. Kod Rancimat testa održivost ulja se određuje primjenom Rancimat uređaja u kojem dolazi do ubrzane oksidacije ulja, odnosno uzorci ulja se zagrijavaju pri određenoj temperaturi (100 ^{o}C, 110 ^{o}C, 120 ^{o}C) uz konstantan protok zraka. Kinetički parametri oksidacije biljnih ulja primjenom Rancimat testa utječu na održivost ulja pa je tako porast brzine oksidacije ulja povezan s porastom temperature tijekom testa ubrzane oksidacije ulja (Farhoosh i sur., 2008). Hlapljivi spojevi koji nastaju oksidacijom pri povišenoj temperaturi, to su uglavnom kratkolančane hlapljive organske kiseline (mravlja, octena i propionska kiselina), uvode se u deioniziranu vodu te se mjeri porast provodljivosti. Mjerenjem porasta provodljivosti indirektno se prati tijek oksidacije ulja. Vrijeme indukcije (indukcijski period) se izražava kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka. Indukcijski period (IP) određuje se na osnovi količine izdvojenih kratkolančanih hlapljivih organskih kiselina. Indukcijski period (vrijeme u satima) ukazuje na otpornost ulja prema oksidaciji. Što je indukcijski period duži, ulje ima veću oksidacijsku stabilnost ili održivost (Volmut, 2010).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

U svrhu određivanja oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog ulja chie provedeno je sljedeće istraživanje:

1. Ispitivanje utjecaja procesnih parametara prešanja sjemenki chie na iskorištenje tj. efikasnost proizvodnje hladno prešanog ulja chie i osnovne parametre kvalitete proizvedenog ulja. Od procesnih parametara ispitan je utjecaj temperature zagrijavanja glave preše, veličine otvora glave preše za izlaz pogače, frekvencije elektromotora i dotegnutosti glave preše.
2. Ispitivanje oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog ulja chie.
3. Ispitivanje utjecaja dodatka prirodnih antioksidanasa na produženje oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog ulja chie.

Primjenom standardnih metoda određeni su parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja chie (slobodne masne kiseline, peroksidni broj, udio vlage, udio netopljivih nečistoća, anisidinski broj i totox broj) i karakteristike za identifikaciju ulja (jodni broj i saponifikacijski broj). Kako bi se odredila efikasnost proizvodnje ulja hladnim prešanjem određen je udio ulja u sjemenkama chie te udio zaostalog ulja u pogači metodom po Soxhlet-u.

Istraživanje oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa, provedeno je testom ubrzane oksidacije ulja – Rancimat testom. Rezultat oksidacije ulja izražen je sa indukcijskim periodom (IP).

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Chia sjemenke

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

3.2.1.2. Antioksidansi

Za ispitivanje utjecaja dodatka antioksidanasa na produženje održivosti svježe proizvedenog hladno prešanog ulja chie korišteni su prirodni antioksidansi eterično ulje konopljike, ekstrakt crnog kima, ekstrakt klinčića, ekstrakt ružmarina tip Oxy´Less.CS i ekstrakt zelenog čaja, u udjelu od 0,15% računato na masu ulja.

Eterično ulje konopljike

Eterično ulje konopljike je proizvedeno na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek.

Ekstrakt crnog kima

Ekstrakt crnog kima je proizveden na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek.

Ekstrakt klinčića

Ekstrakt klinčića je proizveden na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu Osijek.

Ekstrakt ružmarina Oxy´Less.CS

Ekstrakt ružmarina tip Oxy´Less.CS je proizveden u firmi NATUREX (Francuska). To je ekstrakt dobiven iz listova ružmarina (*Romarinus officinalis* L.) i u praškastom je obliku. Udio karnosolne kiseline je 18 – 22%, zaštitni faktor (PF) je veći od 12, suha tvar ekstrakta je 92 – 98%.

Ekstrakt zelenog čaja

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

3.2.1.3. Reagensi

U provedbi istraživanja korišteni su sljedeći reagensi:

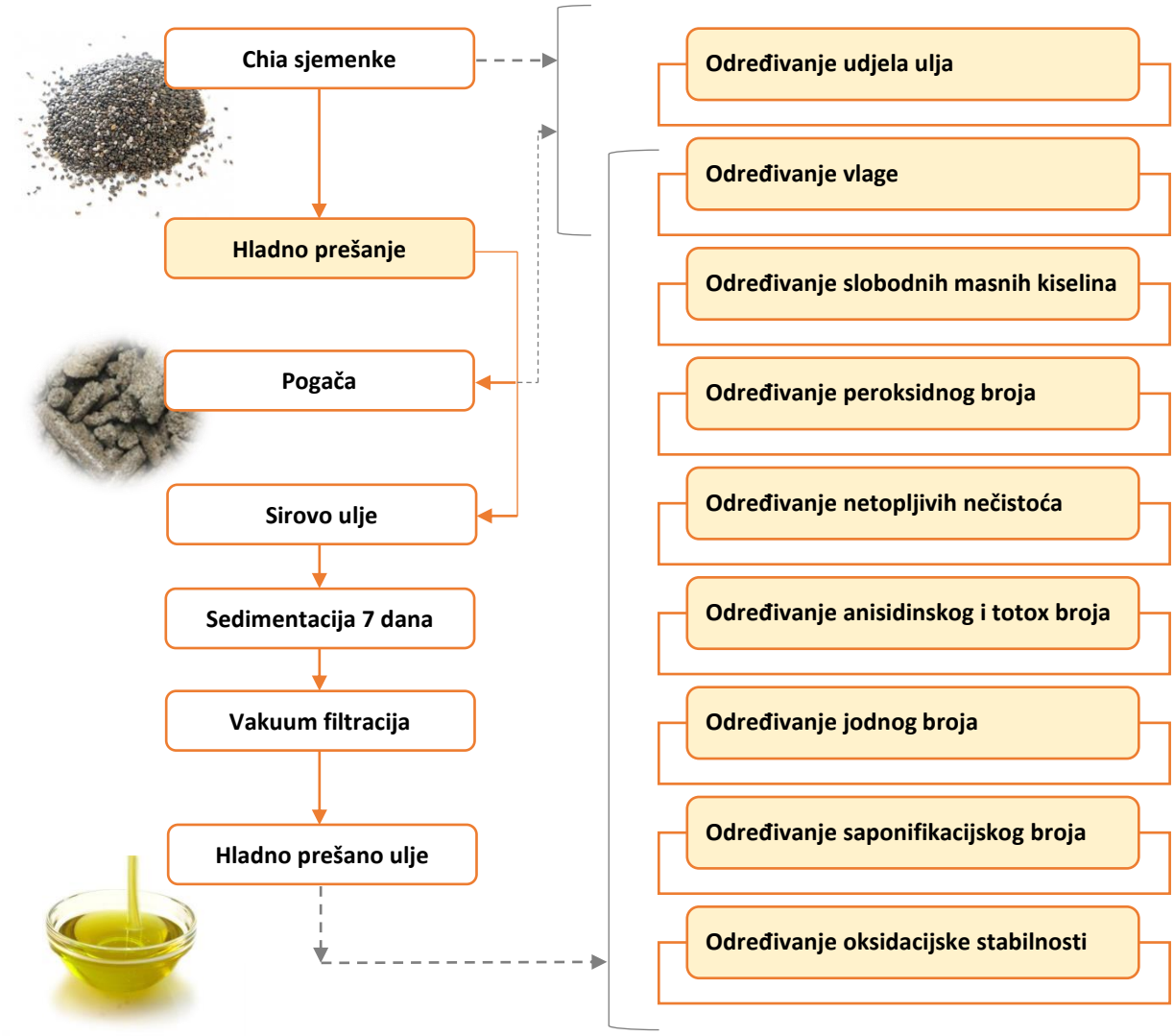
- Petrol-eter (T_v = 40 – 60 ^oC);
- Kvarcni pijesak;
- Neutralizirana smjesa etiletera i 96%-tnog etanola (1:1);
- 1%-tna otopina fenolftaleina u 96%-tnom etanolu;
- 0,1 M vodena otopina natrij hidroksida;
- Smjesa ledene octene kiseline i kloroforma (3:2);
- Hladno zasićena otopina kalij jodida (14 g KI otopi se u 10 mL svježe prokuhane i ohlađene vode);
- 1%-tna otopina škroba;
- 0,01 M otopina natrij tiosulfata;
- Izooktan;
- *p*-anisidin;
- 0,5 M otopina klorovodične kiseline.

3.2.1.4. Uređaji

U provedbi istraživanja korišteni su sljedeći uređaji:

- Kontinuirana pužna preša (SPU 20, ElektroMotor-Šimon d. o. o., Srbija);
- Analitička vaga (Denver Instruments, Njemačka);
- Tehnička vaga (Kern, Njemačka);
- Laboratorijski mlin (Janke & Kunkel, IKA labortechnik, Njemačka);
- Aparatura za ekstrakciju po Soxhlet-u;
- Vakuum pumpa
- Spektrofotometar (UV-1700, Shimadzu, Japan);
- Rancimat uređaj (model 743, Metrohm, Švicarska).

3.2.2. Metode rada



Slika 7 Shematski prikaz provedbe znanstvenog istraživanja

3.2.2.1. Izdvajanje ulja iz sjemenke postupkom hladnog prešanja

Za proizvodnju hladno prešanog ulja chie korištena je kontinuirana pužna preša (**Slika 8**) koju proizvodi tvrtka „ElektroMotor-Šimon“, Srbija. Tip preše je SPU 20, a kapacitet prešanja je 20 – 25 kg/h, snaga elektromotora je 1,5 kW.

Postupkom hladnog prešanja ispitan je utjecaj različitih procesnih parametara na iskorištenje tj. efikasnost proizvodnje hladno prešanog ulja chie. Ispitani su sljedeći procesni parametri:

- temperatura grijača glave preše na izlazu pogače (60 ^{o}C, 80 ^{o}C, 100 ^{o}C, 110 ^{o}C);
- veličina otvora glave preše za izlaz pogače (8 mm, 16 mm);
- frekvencija elektromotora (25 Hz, 35 Hz) i
- dotegnutost glave preše na izlazu pogače (glava preše odvijena za ½ kruga, 1 krug, 1 ½ kruga).

Masa polazne sirovine iznosila je 0,5 kg. Postupkom hladnog prešanja je dobiveno sirovo (nepročišćeno) ulje chie, uljni talog i uljna pogača. Sirovo ulje je skupljano u staklenke pri čemu se mjerio volumen i temperatura sirovog prešanog ulja. Nakon prešanja je provedeno prirodno taloženje (sedimentacija) sirovog ulja chie na tamnom mjestu kroz sedam dana, a zatim vakuum filtracija sa vakuum pumpom, te je izmjeren volumen pročišćenog (bistrog) hladno prešanog ulja. Pročišćeno ulje je čuvano u tamno zelenoj staklenoj ambalaži u frižideru na temperaturi +4 ^{o}C.

Slika 8 Laboratorijska kontinuirana pužna preša proizvođača „ElektroMotor-Šimon“ d. o. o.

3.2.2.2. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači

Udio ulja u sjemenkama chie i udio ulja zaostalog u pogači nakon prešanja određen je standardnom metodom ekstrakcije ulja po Soxhlet-u (ISO 734-1:1998).

Ekstrakcija uzorka ulja provedena je u aparaturi po Soxhlet-u koja se sastoji od tikvice, ekstraktora i hladila, a za ekstrakciju je korišteno organsko otapalo petrol-eter. Tikvica s nekoliko kuglica za vrenje prethodno je osušena na temperaturi 100 – 102 ^{o}C, zatim ohlađena u eksikatoru 30 min i izvagana na analitičkoj vagi. U tuljak za ekstrakciju stavljeno je 5 g samljevenog uzorka, a potom je tuljak zatvoren vatom i stavljen u ekstraktor, dodano je 150 mL petrol-etera, te je provedena kontinuirana ekstrakcija do iscrpljenja uzorka. Po završetku ekstrakcije, otapalo je predestilirano u istoj aparaturi, a zaostalo ulje u tikvici osušeno je na temperaturi 105 ^{o}C kroz jedan sat, ohlađeno u eksikatoru i izvagano.

Udio ulja izračunat je prema formuli **(2)**:

$$\text{Udio ulja \%} = \frac{(a-b)\cdot 100}{c} \qquad \textbf{(2)}$$

gdje je:

a – masa tikvice sa uljem (g);

b – masa prazne tikvice (g);

c – masa uzorka koji se ispituje (g).

3.2.2.3. Određivanje stupnja djelovanja preše

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

Količina prešanog ulja (U) izračunata je prema formuli **(3)**:

$$U = U_0 - U_P \cdot (a / b)\ (\%) \qquad \textbf{(3)}$$

gdje je:

U – količina prešanog ulja (%);

U_0 – udio ulja u sirovini (%);

U_P – udio ulja u pogači (%);

a – suha tvar u sirovini (%);

b – suha tvar u pogači (%).

Stupanj djelovanja prešanja (P) izračunat je prema formuli **(4)**:

$$P = (U / U_0) \cdot 100 \ (\%) \qquad \textbf{(4)}$$

gdje je:

U – količina prešanog ulja (%);

U_0 – udio ulja u sirovini (%).

3.2.2.4. Određivanje vlage u sjemenkama i pogači

Količina vlage (vode) u sjemenkama chie i pogači određena je standardnom metodom *Određivanje količine vode i hlapljivih tvari* (HRN EN ISO 665:1991).

U osušenu i izvaganu aluminijsku posudicu izvagano je 5 g sjemenki te je posudica s podignutim poklopcem stavljena u sušionik na 103 ^{o}C. Nakon 2 h sušenja posudica s poklopcem stavljena je u eksikator na hlađenje do sobne temperature. Nakon hlađenja posudica sa uzorkom je izvagana, te ponovno stavljena u sušionik s podignutim poklopcem 1 h. Nakon toga ponovno je proveden postupka hlađenja i vaganja uzorka. Sušenje je ponavljano do konstantne mase.

Udio vlage izračunat je prema formuli **(5)**:

$$\% \text{ vlage} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \qquad \textbf{(5)}$$

gdje je:

m_0 – masa prazne posudice (g);

m_1 – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g);

m_2 – masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g).

3.2.2.5. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje volumena i temperature sirovog prešanog ulja

Volumen i temperatura sirovog prešanog ulja chie određivani su neposredno nakon prešanja chia sjemenki pomoću menzure odnosno termometra. Nakon toga provedeno je prirodno taloženje sirovog ulja kroz sedam dana. Zatim je vakuum filtracijom provedeno odvajanje bistrog ulja od taloga te je pomoću menzure izmjeren volumen bistrog ulja.

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Biljna ulja nemaju neutralnu pH sredinu jer pored neutralnih triacilglicerola sadrže i određeni udio slobodnih masnih kiselina. Kiselost biljnih ulja nastaje kao rezultat hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima (lipaza) na estersku vezu u molekuli. Udio slobodnih masnih kiselina ovisi o upotrjebljenoj sirovini, načinu dobivanja ulja i uvjetima čuvanja. Kiselost ulja izražava se najčešće u postocima (%) oleinske kiseline ili kao kiselinski broj.

Slobodne masne kiseline određene su standardnom metodom *Određivanje kiselinskog broja i kiselosti* (HRN EN ISO 660:1996).

Princip metode je titracija ulja (otopljenog u otapalu) sa otopinom natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L. Odvagano je 5 g ulja, a zatim je dodano 50 mL neutralne smjese etera i etanola, te je sadržaj promućkan. Nakon toga dodano je nekoliko kapi fenolftaleina te je provedena titracija sa 0,1 M otopinom NaOH do promjene boje.

Udio slobodnih masnih kiselina izražen je kao % oleinske kiseline, a izračunat je prema formuli **(6)**:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = \frac{V \cdot c \cdot M}{10 \cdot m} \qquad \textbf{(6)}$$

gdje je:

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

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

M – molekulska masa oleinske kiseline, M = 282 g/mol;

m – masa uzorka ulja za ispitivanje (g).

Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja. Određivanje peroksidnog broja je jedna od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije biljnih ulja. Određuje se sadržaj hidroperoksida i peroksida kao primarnih produkata oksidacije ulja.

Peroksidni broj određen je standardnom metodom *Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijsko određivanje točke završetka* (HRN EN ISO 3960:1998). Jodometrijskom metodom se određuje količina joda kojeg iz kalij jodida oslobode peroksidi prisutni u ulju.

Odvagano je oko 1 g uzorka ulja, a zatim je dodano 10 mL smjese ledene octene kiseline i kloroforma, te je sadržaj promućkan. Nakon toga dodano je 0,2 mL otopine kalij jodida (KI). Uzorak je točno jednu minutu homogeniziran rukom, nakon čega je dodano 20 mL destilirane vode i 0,5 mL otopine škroba. Djelovanjem peroksida oslobađa se jod iz otopine KI, a oslobođeni jod određen je titracijom sa otopinom natrij tiosulfata ($Na_2S_2O_3$) uz škrob kao indikator. Na isti način provedena je slijepa proba, ali bez ulja.

Rezultat je izražen kao broj milimola aktivnog kisika koji potječe od nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O_2/kg).

Peroksidni broj izračunat je prema formuli **(7)**:

$$\text{Pbr (mmol } O_2\text{/kg)} = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 5}{m} \qquad \textbf{(7)}$$

gdje je:

V_1 – volumen otopine natrij tiosulfata, c ($Na_2S_2O_3$) = 0,01 mol/L utrošen za titraciju uzorka ulja (mL);

V_0 – volumen otopine natrij tiosulfata, c ($Na_2S_2O_3$) = 0,01 mol/L utrošen za titraciju slijepe probe (mL);

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje vlage u ulju

Količina vlage (vode) i isparljivih (hlapljivih) tvari je važan pokazatelj kvalitete sirovih biljnih ulja. Povećana količina vlage u ulju može dovesti do hidrolitičkih promjena što rezultira porastom kiselosti ulja, odnosno povećava se udio slobodnih masnih kiselina čime se smanjuje kvaliteta ulja.

Količina vlage (vode) određena je standardnom metodom *Određivanje količine vode i hlapljivih tvari* (HRN EN ISO 662:1998).

Princip određivanja temelji se na isparavanju vode i isparljivih tvari iz ulja zagrijavanjem u sušioniku pri točno definiranim uvjetima, a gubitak mase utvrđuje se vaganjem.

Odvagano je 5 g uzorka ulja u prethodno osušenu, ohlađenu u eksikatoru i izvaganu staklenu posudicu sa poklopcem. Posudica sa uzorkom stavljena je u sušionik na sušenje 2 h pri 103 ^{o}C, nakon čega je ohlađena u eksikatoru i izvagana. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja ponavljan je sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,002 g.

Udio vlage izračunat je prema formuli **(8)**:

$$\% \text{ vlage i isparljivih tvari} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \qquad \textbf{(8)}$$

gdje je:

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 u ulju

Netopljive nečistoće u ulju su uglavnom mehaničke nečistoće koje mogu biti mineralne tvari ili organski sastojci. Također, u ulju mogu biti prisutni i razni ugljikohidrati, tvari s dušikom, smole, Ca-sapuni, oksidirane masne kiseline, laktoni masnih kiselina, hidroksi masne kiseline i njihovi gliceridi. Navedeni spojevi se ne otapaju u organskim otapalima kao što se otapaju triacilgliceroli.

Netopljive nečistoće određene su standardnom metodom *Određivanje količine netopljivih nečistoća* (HRN EN ISO 663:1992).

Odvagano je 20 g uzorka ulja i dodano 100 mL organskog otapala petrol-etera, nakon čega je dobro promućkano i ostavljeno da stoji 20 – 30 min pri temperaturi 20 ^{o}C. Dobivena otopina filtrirana je kroz stakleni filter lijevak sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom. Zaostali netopljivi talog na filteru sušen je u sušioniku pri 103 ^{o}C, do konstantne mase, ohlađen u eksikatoru i izvagan.

Udio netopljivih nečistoća izračunat je prema formuli **(9)**:

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

gdje je:

m_0 – masa uzorka ulja (g);

m_1 – masa osušenog filter-lijevka (g);

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

Određivanje anisidinskog broja (Abr)

Vrijednost anisidinskog broja omogućava direktan uvid u količinu nehlapljivih karbonilnih spojeva koji predstavljaju sekundarne produkte oksidacije biljnih ulja (aldehidi) nastalih razgradnjom nestabilnih primarnih produkata oksidacije (hidroperoksida). Iz vrijednosti anisidinskog broja može se procijeniti održivost ulja, pri čemu veća vrijednost ukazuje na slabiju održivost ulja. Iako zakonski propisi kvalitete za anisidinski broj nemaju ograničenja, smatra se da biljno ulje dobre kvalitete treba imati vrijednost Abr < 10.

Anisidinski broj određen je standardnom metodom *Određivanje anisidinskog broja* (ISO 6885:2006).

Anisidinski broj definiran je kao povećanje vrijednosti apsorbancije otopine uzorka ulja (1 g) u 100 mL mješavine otapala i reagensa (*p*-anisidina), 100 puta, mjerenoj na valnoj duljini 350 nm u kiveti od 10 mm. Određivanje anisidinskog broja temelji se na reakciji *p*-anisidina sa višim nezasićenim aldehidima (2,4-dienal i 2-enal) u kiselom mediju (octenoj kiselini) pri čemu nastaju Schiff-ove baze.

Uzorak ulja otopljen je u izooktanu (2,2,4-trimetilpentan) uz dodatak *p*-anisidina i octene kiseline. Nakon stajanja od 10 minuta na tamnom mjestu, pri sobnoj temperaturi, pomoću spektrofotometra mjereno je povećanje apsorbancije na 350 nm.

Anisidinski broj izračunat je prema formuli **(10)**:

$$\text{Abr} = 100 \cdot Q \cdot \frac{V}{m} \cdot \left[1{,}2 \cdot (A_1 - A_2 - A_0)\right] \quad \textbf{(10)}$$

gdje je:

Q = 0,01 g/mL, količina uzorka mjerene otopine na osnovu koje je izražen Abr;

V = 25 mL, volumen (mL) u kojem je otopljen uzorak;

m – masa uzorka (g);

A_0 – apsorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji nije reagirao;

A_1 – apsorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji je reagirao;

A_2 – apsorbancija slijepe probe;

1,2 – faktor korekcije za razrjeđenje test otopine dodatkom 1 mL ledene octene kiseline.

Određivanje Totox broja (TB)

Totox broj (TB) ili oksidacijska vrijednost (OV) ulja smatra se vrlo korisnim pokazateljem kvalitete i održivosti ulja, s obzirom da se preko anisidinskog broja dobije podatak o „oksidacijskoj prošlosti“ ulja, a preko peroksidnog broja o trenutnom oksidacijskom stanju ulja. Totox broj daje dobar pregled količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja.

Totox broj je određen računski iz peroksidnog broja i anisidinskog broja (ISO 6885:2006) prema formuli **(11)**:

$$\text{Totox broj} = 2\text{Pbr} + \text{Abr} \quad \textbf{(11)}$$

gdje je:

Pbr – peroksidni broj;

Abr – anisidinski broj.

3.2.2.6. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja

Određivanje jodnog broja

Jodni broj je veoma važna karakteristika ulja jer ukazuje na njihovu nezasićenost, tj. prisustvo nezasićenih (najčešće dvostrukih) veza masnih kiselina u molekuli triacilglicerola. Princip određivanja jodnog broja temelji se na vezanju joda na dvostruke veze masne kiseline, a iz njegove vrijednosti se dobiva uvid u stupanj nezasićenih masnih kiselina. Veća vrijednost jodnog broja predstavlja prisutnost više nezasićenih masnih kiselina. Jodni broj je količina joda u gramima koja se veže na 100 g ulja ili masti (g I_2/100 g).

Jodni broj određen je standardnom metodom AOAC 920.185 (1999).

Odvagano je 0,2 – 0,4 g uzorka ulja i dodano 10 mL kloroforma i 25 mL jodnog bromida, nakon čega je sve dobro promućkano, te ostavljeno na tamnom mjestu 30 min. Otopini je potom dodano 15 mL KI i 150 mL destilirane vode. Zatim je provedena titracija sa 0,1 M otopinom natrij-tiosulfata do pojave svijetlo-žute boje, nakon čega je dodano 1 – 2 mL otopine škroba i produžena je titracija do nestanka plave boje. Na isti način provedena je slijepa proba, ali bez ulja.

Jodni broj izračunat je prema formuli **(12)**:

$$\text{Jodni broj} = \frac{(V_0 - V_1)\cdot 0{,}01269}{c}\cdot 100 \quad [\text{g } I_2/100 \text{ g}] \qquad \textbf{(12)}$$

gdje je:

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

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

c – masa ispitivanog uzorka (g).

Određivanje saponifikacijskog broja

Saponifikacijski broj daje uvid u sastav lipida. Vrijednost saponifikacijskog broja zavisi od dužine lanca masnih kiselina u molekuli triacilglicerola. Ulja sa niskomolekularnim masnim kiselinama imaju visoku vrijednost saponifikacijskog broja za razliku od ulja koja u svom sastavu imaju masne kiseline dugačkog lanca.

Saponifikacijski broj označava broj mg KOH koji je potreban za potpunu saponifikaciju slobodnih i esterski vezanih masnih kiselina u 1 g ulja ili masti (mg KOH/g).

Saponifikacijski broj određen je standardnom metodom AOAC 920.160 (1999).

Odvagano je 2 g uzorka ulja i dodano 25 mL 0,5 M otopine kalij hidroksida (KOH), stavljeno je nekoliko staklenih kuglica i zagrijavano na vodenoj kupelji oko 30 min. Nakon završene saponifikacije u vruću otopinu dodano je nekoliko kapi fenolftaleina, a višak KOH titriran je sa 0,5 M otopinom klorovodika (HCl) do nestanka crvene boje. Na isti način provedena je slijepa proba, ali bez ulja.

Saponifikacijski broj izračunat je prema formuli **(13)**:

$$\text{Saponifikacijski broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 28{,}1}{m} \quad \text{[mg KOH/g]} \qquad \textbf{(13)}$$

gdje je:

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

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

m – masa uzorka (g).

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

3.2.2.7. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Oksidacijska stabilnost (održivost) proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog antioksidansa, određena je testom ubrzane oksidacije ulja primjenom Rancimat uređaja (ISO 6886:2006). Rancimat test se temelji na ubrzanoj oksidaciji ulja pri povišenim temperaturama uz konstantan dovod zraka kroz uzorak, pri čemu se indukcijski period (IP) određuje na osnovi količine izdvojenih kratkolančanih hlapljivih organskih kiselina.

Pojedini antioksidans je dodan direktno u ulje chie i mehanički homogeniziran pri temperaturi 70 – 80 ^{o}C tijekom 30 minuta. Prije ispitivanja održivosti uzorci ulja chie sa zadanim koncentracijama antioksidansa su ohlađeni na sobnu temperaturu. Pripremljeni su sljedeći uzorci:

1. Čisto ulje chie
2. ULJE + 0,15% eterično ulje konopljike
3. ULJE + 0,15% ekstrakt crnog kima
4. ULJE + 0,15% ekstrakt klinčića
5. ULJE + 0,15% ekstrakt ružmarina (Oxy´Less.CS)
6. ULJE + 0,15% ekstrakt zelenog čaja

Određivanje održivosti ulja chie, sa i bez dodanog antioksidansa, provedeno je na Rancimat uređaju 743 (Metrohm, Švicarska). U uređaju se može istovremeno ispitivati 8 uzoraka pri različitim temperaturama (80 – 160 ^{o}C) i uz različit protok zraka (7 – 25 L/h). Primijenjeni su sljedeći uvjeti rada Rancimat uređaja: masa uzorka ulja za ispitivanje 3 g, temperatura 110 ^{o}C, protok zraka 9 L/h.

U ovom testu, na kraju indukcijskog perioda, nastaju znatne količine hlapljivih kiselina, od toga najviše mravlja kiselina, zatim octena, propionska, maslačna i kapronska kiselina. Nastale hlapljive kiseline iz epruvete s uzorkom ulja dovode se u mjernu posudu s deioniziranom vodom i elektrodom za mjerenje vodljivosti, a njihova prisutnost se određuje konduktometrijski sa automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena. Dobiveni rezultat je izražen kao indukcijski period (IP) u satima, a ukazuje na otpornost ulja prema oksidaciji. Stabilnost ulja proporcionalna je indukcijskom periodu.

4. REZULTATI

Tablica 7 Utjecaj temperature grijača glave preše na izlazu pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie; Glava preše dotegnuta do kraja i **odvijena za ½ kruga**; Udio ulja u sjemenkama chie 33,12 %, a udio vode 6,75%

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 16 mm **F = 25 Hz** **T = 60 °C**	0,5	76	45	30	428,23	18,90	8,54	42,93
N = 16 mm **F = 25 Hz** **T = 80 °C**	0,5	108	85	42	414,47	15,71	8,16	52,57
N = 16 mm **F = 25 Hz** **T = 100 °C**	0,5	123	93	49	393,76	12,96	7,85	60,87

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

Tablica 8 Utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie; Glava preše dotegnuta do kraja i **odvijena za ½ kruga**;

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (^{o}C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 16 mm **F = 25 Hz** **T = 100 ^{o}C**	0,5	123	93	49	393,76	12,96	7,85	60,87
N = 8 mm **F = 25 Hz** **T = 100 ^{o}C**	0,5	168	133	52	330,63	10,37	7,35	68,69

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekvencija elektromotora, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (^{o}C)

Tablica 9 Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie; Glava preše dotegnuta do kraja i **odvijena za ½ kruga**

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm **F = 25 Hz** **T = 100 °C**	0,5	168	133	52	330,63	10,37	7,35	68,69
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	0,5	158	124	54	374,47	10,45	7,61	68,45

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

Tablica 10 Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie; Glava preše dotegnuta do kraja i **odvijena za 1 krug**

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm **F = 25 Hz** **T = 100 °C**	0,5	157	119	52	367,06	10,48	8,11	68,36
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	0,5	164	118	55	417,00	10,75	7,80	67,54

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

Tablica 11 Utjecaj temperature grijača glave preše na izlazu pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie; Glava preše dotegnuta do kraja i **odvijena za 1 krug**

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	0,5	164	118	55	417,00	10,75	7,80	67,54
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 110 °C**	0,5	146	103	59	361,09	11,91	7,79	64,04

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

Tablica 12 Utjecaj dotegnutosti glave preše na izlazu pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie;

Uzorak	Glava preše	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana sedimentacija i vakuum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	**odvijena za ½ kruga**	0,5	158	124	54	374,47	10,45	7,61	68,45
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	**odvijena za 1 krug**	0,5	164	118	55	417,00	10,75	7,80	67,54
N = 8 mm **F = 35 Hz** **T = 100 °C**	**odvijena za 1½ kruga**	0,5	149	115	52	388,19	11,11	8,20	66,46

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

Tablica 13 Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja chie dobivenog miješanjem proizvedenog ulja kod ispitivanja utjecaja procesnih parametara

Parametar kvalitete	
Peroksidni broj (Pbr), mmol O_2/kg	0,25
Slobodne masne kiseline (SMK), %	0,93
Anisidinski broj	0,84
Totox broj	1,34
Jodni broj, g I_2/100 g ulja	214,12
Saponifikacijski broj, mg KOH/g ulja	227,46
Voda, %	0,068
Netopljive nečistoće, %	0,23

Tablica 14 Oksidacijska stabilnost proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa, određena Rancimat testom pri temperaturi 110 ^{o}C i protoku zraka 9 L/h

Uzorak	Udio antioksidansa (%)	Indukcijski period (h)
Hladno prešano ulje chie	-	1,92
Eterično ulje konopljike	0,15	1,77
Ekstrakt crnog kima	0,15	1,54
Ekstrakt klinčića	0,15	1,57
Ekstrakt ružmarina (Oxy´Less.CS)	0,15	2,92
Ekstrakt zelenog čaja	0,15	2,83

5. RASPRAVA

Rezultati ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja sjemenke chie na iskorištenje tj. proizvodnju hladno prešanog ulja chie prikazani su u **Tablicama 7 – 12**. Analitički je određen udio ulja u sjemenkama chie od 33,12% i udio vode od 6,75%.

U **Tablici 7** prikazan je utjecaj temperature grijača glave preše (60 ^{o}C, 80 ^{o}C i 100 ^{o}C) na izlazu pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja chie. Kod ovog ispitivanja glava preše je dotegnuta do kraja te odvijena za ½ kruga. Odvijanjem glave preše postiže se veći prostor zadržavanja pogače prije izlaza iz preše tijekom prešanja. Dobiveni rezultati pokazuju da se prešanjem kod parametara temperature grijača glave preše 60 ^{o}C, uz konstantnu frekvenciju elektromotora (F = 25 Hz) koja regulira brzinu pužnice i veličinu otvora glave preše za izlaz pogače (N = 16 mm), proizvelo 76 mL sirovog ulja chie temperature 30 ^{o}C. Nakon sedimentacije sirovog ulja 7 dana te vakuum filtracije dobiveno je 45 mL finalnog hladno prešanog ulja chie. Analizom je utvrđen udio zaostalog ulja u pogači (nusprodukt prešanja) od 18,90% pri čemu je stupanj djelovanja preše bio 42,93%.

Zagrijavanjem glave preše na 80 ^{o}C došlo je do porasta količine proizvedenog sirovog ulja (108 mL) i njegove temperature (42 ^{o}C). Također, povećan je volumen finalnog hladno prešanog ulja chie (85 mL) nakon 7 dana taloženja i vakuum filtracije. Udio zaostalog ulja u pogači se smanjio na 15,71%, a povećao stupanj djelovanja preše na 52,57%.

Daljnjim porastom temperature glave preše na 100 ^{o}C dolazi do ponovnog porasta volumena proizvedenog sirovog ulja chie (123 mL) i finalnog hladno prešanog ulja chie (93 mL). Udio zaostalog ulja u pogači se još smanjio na 12,96%, a povećao stupanj djelovanja preše na 60,87%.

Iz ovog ispitivanja možemo zaključiti da se porastom temperature zagrijavanja glave preše sa 60 ^{o}C na 80 ^{o}C i 100 ^{o}C povećava proizvodnja sirovog i finalnog ulja chie.

U **Tablici 8** prikazan je utjecaj veličine otvora glave preše (N) za izlaz pogače kod prešanja sjemenki chie na iskorištenje hladno prešanog ulja. I kod ovog ispitivanja glava preše je dotegnuta do kraja te odvijena za ½ kruga. Prešanje je provedeno kod konstantnih parametara frekvencije elektromotora (F = 25 Hz) i temperature glave preše (T = 100 ^{o}C). U prethodnom ispitivanju veća proizvodnja hladno prešanog ulja dobivena je kod parametara N = 16 mm, F = 25 Hz i T = 100 ^{o}C, a sada se ispitao utjecaj smanjenja otvora za izlaz pogače na 8 mm, pri čemu dolazi do porasta radnog tlaka u preši, što utječe na iskorištenje ulja.

Zapaženo je da se smanjenjem otvora glave preše na 8 mm povećava proizvodnja sirovog ulja (168 mL) i finalnog hladno prešanog ulja chie (133 mL), uz mali porast temperature sirovog ulja. Također je analizom utvrđeno da se smanjuje udio zaostalog ulja u pogači 10,37%, a povećava stupanj djelovanja preše na 68,69%.

Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) na iskorištenje ulja tijekom hladnog prešanja sjemenki chie prikazan je u **Tablici 9**. U ovom ispitivanju glava preše je dotegnuta do kraja te odvijena za ½ kruga. Rezultati pokazuju da se prešanjem sjemenki chie kod frekvencije elektromotora 35 Hz, uz konstantnu temperaturu glave preše (T = 100 ^{o}C) i otvor glave preše (N = 8 mm), dobije manja količina sirovog ulja (158 mL) i finalnog hladno prešanog ulja (124 mL), te veći udio zaostalog ulja u pogači (10,45%) i manji stupanj djelovanja preše (68,45%) u odnosu na primjenu frekvencije 25 Hz.

Nakon provedbe ovog ispitivanja glava preše dotegnuta je do kraja i odvijena za 1 krug čime je dobiven veći prostor zadržavanja pogače u sustavu prije njenog izlaska iz preše. Ispitivanjem frekvencije elektromotora kod ovih uvjeta (**Tablica 10**) i konstantnih parametara T = 100 ^{o}C, N = 8 mm, utvrđeno je da se i ovdje hladnim prešanjem sjemenki chie kod frekvencije elektromotora (brzina pužnice) 25 Hz proizvede nešto veća količina finalnog hladno prešanog ulja, niža temperatura ulja, manji udio ulja zaostalog u pogači u odnosu na primjenu frekvencije elektromotora 35 Hz.

U **Tablici 11** prikazan je utjecaj temperature zagrijavanja glave preše na izlazu pogače (100 ^{o}C i 110 ^{o}C) na iskorištenje ulja chie pri čemu je glava preše odvijena za 1 krug. Dobiveni rezultati pokazuju da se prešanjem sjemenki chie kod 100 ^{o}C zagrijane glave preše proizvede veća količina sirovog ulja (164 mL) i finalnog hladno prešanog ulja (118 mL) te niža temperatura ulja. Također je analizom utvrđen manji udio zaostalog ulja u pogači (10,75%) što rezultira i većim stupnjem djelovanja preše (67,54%) u odnosu na zagrijavanje glave preše na 110 ^{o}C kod konstantnih uvjeta prešanja N = 8 mm i F = 35 Hz.

Utjecaj dotegnutosti glave preše tijekom hladnog prešanja sjemenki chie, kod konstantnih parametara N = 8 mm, F = 35 Hz i T = 100 ^{o}C, na iskorištenje ulja chie prikazan je u **Tablici 12**. Rezultati ovih ispitivanja pokazuju da se dotezanjem glave preše i odvijanjem za ½ kruga dobije veće iskorištenje ulja chie, dakle veća je količina proizvedenog finalnog hladno prešanog ulja (124 mL) prešanjem 0,5 kg sjemenke u odnosu na prešanje kod odvijanja glave za 1 krug ili za 1 ½ kruga. Također, niži je udio zaostalog ulja u pogači te veći stupanj

djelovanja preše kod uvjeta odvijanja glave za ½ kruga. Iz ovih podataka zaključujemo da se većim odvijanjem glave preše ostvaruje smanjenje proizvodnje ulja chie. Razlog je vjerojatno što se time postiže povećanje prostora gdje se pogača zadržava prije izlaza iz preše što dovodi do smanjenja tlaka u sustavu i rezultira manjom proizvodnjom ulja.

Proizvedeno hladno prešano ulje chie iz cijelog ispitivanja je pomiješano i određeni su osnovni parametri kvalitete ovog ulja. Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja chie prikazani su u **Tablici 13**. Dobiveni rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete ulja (slobodne masne kiseline, peroksidni broj, udio vode, udio netopljivih nečistoća, anisidinski broj i totox broj) pokazuju da je proizvedeno ulje chie vrlo dobre kvalitete prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41/12). Vrijednosti karakteristika za identifikaciju ulja, jodni broj i saponifikacijski broj, podudaraju se sa literaturnim podacima.

U **Tablici 14** vidljivi su rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti ili održivosti proizvedenog hladno prešanog ulja chie, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa (0,15%), određena testom ubrzane oksidacije ulja – Rancimat testom. Uvjeti provedbe Rancimat testa u Rancimat uređaju su: temperatura 110 ^{o}C i protok zraka 9 L/h.

Testom je utvrđeno da hladno prešano ulje chie ima vrijednost indukcijskog perioda (IP) 1,92 sata (h) kod navedenih uvjeta ispitivanja. Rezultati pokazuju da se dodatkom ekstrakta ružmarina tipa Oxy´Less.CS (0,15%) u ulje chie postiže vrijednost indukcijskog perioda 2,92 h, to znači da ovaj prirodni antioksidans pruža zaštitu ulja od oksidacijskog kvarenja, dakle produžuje stabilnost ulja. Malo manju razinu zaštite ulja od oksidacije osigurava dodatak ekstrakta zelenog čaja (0,15%) gdje se testom postiže vrijednost indukcijskog perioda 2,83 h.

Dodatkom ekstrakta crnog kima, ekstrakta klinčića te eteričnog ulja konopljike ne postiže se zaštita ulja chie od oksidacijskog kvarenja jer su vrijednosti indukcijskog perioda (IP) niže od vrijednosti za čisto ulje chie bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak). Dakle, oni nemaju antioksidacijski učinak kod stabilizacije ulja chie, već ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja i smanjuju održivost ulja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju ispitivanja utjecaja procesnih parametara hladnog prešanja na iskorištenje ulja chie te utjecaja dodatka prirodnih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost (održivost) svježe proizvedenog ulja chie dobiveni su sljedeći zaključci:

1. Temperatura zagrijavanja glave preše utječe na iskorištenje hladno prešanog ulja chie.
2. Porastom temperature sa 60 ^{o}C na 80 ^{o}C i 100 ^{o}C povećava se proizvodnja sirovog ulja i hladno prešanog ulja chie, povećava se i temperatura sirovog ulja. Također, smanjuje se udio zaostalog ulja u pogači, a povećava se stupanj djelovanja preše.
3. Veličina otvora glave preše za izlaz pogače utječe na iskorištenje ulja chie tijekom hladnog prešanja.
4. Veća proizvodnja sirovog ulja i hladno prešanog ulja chie postiže se primjenom nastavka manjeg promjera (N = 8 mm) u odnosu na nastavak većeg promjera (N = 16 mm).
5. Frekvencija elektromotora koja regulira brzinu pužnice tijekom hladnog prešanja sjemenke chie utječe na iskorištenje ulja.
6. Primjenom frekvencije elektromotora 25 Hz postiže se veća proizvodnja sirovog ulja i hladno prešanog ulja chie u odnosu na primjenu frekvencije elektromotora 35 Hz, uz konstantnu temperaturu glave preše i veličinu otvora glave preše za izlaz pogače.
7. Dotegnutost glave preše utječe na iskorištenje ulja chie tijekom hladnog prešanja.
8. Prešanjem kod uvjeta da se glava preše prvo dotegne do kraja i odvije za ½ kruga proizvede se veća količina ulja chie u odnosu na primjenu odvijanja glave preše za 1 krug i za 1 ½ kruga.
9. Najveće iskorištenje ulja tijekom hladnog prešanja sjemenke chie dobiveno je kod sljedećih procesnih parametara: temperatura zagrijavanja glave preše 100 ^{o}C, veličina otvora glave preše 8 mm, frekvencija elektromotora 25 Hz i dotegnutost glave preše ½ kruga.
10. Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy´Less.CS i ekstrakta zelenog čaja, udjela 0,15%, povećava se stabilnost i održivost ulja chie.

11. Veća razina zaštite ulja chie od oksidacijskog kvarenja postignuta je dodatkom ekstrakta ružmarina tip Oxy´Less.CS.
12. Primjena eteričnog ulja konopljike, ekstrakta crnog kima i ekstrakta klinčića, udjela 0,15%, ne dovodi do porasta održivosti ulja chie, već ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja. Nakon Rancimat testa dobivena je niža vrijednost indukcijskog perioda (IP) u odnosu na kontrolni uzorak.

7. LITERATURA

Ahmed M, Ting IP, Scora RW: Leaf oil composition of Salvia hispanica L. from three geographical areas. *Journal of Essential Oil Research* 6:223-228, 1994.

Ahn J-H, Kim Y-P, Seo E-M, Choi Y-K, Kim H-S: Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering* 84:327-334, 2008.

AOAC: Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, 1999.

Ayerza R: Oil content and fatty acid composition of chia (Salvia hispanica L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists Society* 72:1079-1081, 1995.

Ayerza R, Coates W: Composition of chia (Salvia hispanica L.) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropical Science* 44:131-135, 2004.

Ayerza R, Coates W: Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (Salvia hispanica L.). *Industrial Crops and Products* 34:1366-1371, 2011.

Bockisch M: *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.

Bushway AA, Belyea PR, Bushway RJ: Chia seed as a source of oil, polysaccharide and protein. *Journal of Food Science* 46:1349-1350, 1981.

Cahill J: Ethnobotany of chia, Salvia hispanica L. (Lamiaceae). *Economic Botany* 57:604-618, 2003.

Capitani MI, Spotorno V, Nolasco SM, Tomás MC: Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (Salvia hispanica L.) seeds of Argentina. *LWT – Food Science and Technology* 45:94-102, 2012.

Chang SS, Peterson RJ, Ho C: Chemical Reactions Involved in the Deep-Fat Frying of Foods. *Journal of the American Oil Chemists Society* 55:718, 1978.

Coates W, Ayerza R: Production potencial of chia in northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products* 5:229-233, 1996.

Craig R: Application for approval of whole chia (Salvia hispanica L.) seed and ground whole seed as novel food ingredient. Company Representative Mr. D. Armstrong, Northern Ireland, 2004.

Curaković M, Lazić V, Gvozdanović J: *Osnovne karakteristike ambalažnih materijala za pakovanje ulja*. Zbornik radova, Budva, 1996.

Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.

Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2005.

Dimić EB, Premović TĐ, Takači AA, Vujasinović VB, Radočaj OF, Dimić SB: Uticaj kvaliteta semena na oksidativnu stabilnost hladno presovanog ulja suncokreta. *Hemijska Industrija* 69:175-184, 2015.

Dimić E, Turkulov J: *Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2000.

Erkan N, Ayranci G, Ayranci E: Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 110:76-82, 2008.

Farhoosh R, Niazmand R, Rezaei M, Sarabi M: Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology* 110:587-592, 2008.

Fils JM: The Production of Oils. U *Edible Oil Processing*, str. 47-78. Sheffield Academy Press Ltd, England, 2000.

Gramza A, Khokhar S, Yoko S, Gliszczynska-Swiglo A, Hes M, Korczak J: Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *European Journal of Lipid Science and Technology* 108:351-362, 2006.

Guiotto EN, Ixtaina VY, Tomás MC, Nolasco SM: Moisture-Dependent Engineering Properties of Chia (Salvia hispanica L.) Seeds. U *Food Industry*, str. 381-397. InTech, 2013.

HZN, Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje količine vode i hlapljivih tvari*. HRN EN ISO 662:1998.

HZN, Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti*. HRN EN ISO 660:1996.

HZN, Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijsko određivanje točke završetka*. HRN EN ISO 3960:1998.

HZN, Hrvatski zavod za norme: *Uljarice – Određivanje količine vode i hlapljivih tvari*. HRN EN ISO 665:1991.

HZN, Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje količine netopljivih nečistoća*. HRN EN ISO 663:1992.

ISO, International Organization for Standardization: *Oilseed meals – Determination of oil content – Part 1: Extraction method with hexane (or light petroleum)*. ISO 734-1:1998.

ISO, International Organization for Standardization: *Animal and vegetable fats and oils – Determination of anisidine value*. ISO 6885:2006.

ISO, International Organization for Standardization: *Animal and vegetable fats and oils – Determination of oxidative stability (accelerated oxidation test)*. ISO 6886:2006.

Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC: Physical properties of chia (Salvia hispanica L.). *Industrial Crops and Products* 28:286-293, 2008.

Ixtaina VY, Martínez ML, Spotorno V, Mateo CM, Maestri DM, Diehl BWK, Nolasco SM, Tomás MC: Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis* 24:166-174, 2011.

Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC: Oxidative Stability of Chia (Salvia hispanica L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. *Journal of the American Oil Chemists Society* 89:1077-1090, 2012.

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

Mandić ML: *Znanost o prehrani*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2003.

Martin-Polvillo M, Marquez-Ruiz G, Dobarganes MC: Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *Journal of the American Oil Chemists Society* 81:577-583, 2004.

Merrill LI, Pike OA, Ogden LV: Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils with Added Antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society* 85:771-776, 2008.

Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Volmut K: Utjecaj propil galata i ekstrakta ružmarina na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. *Croatian Journal of Food Science Technology* 2:18-25, 2010.

MPRR, Ministarstvo poljoprivrede i ruralnog razvoja RH: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 41/12, 2012.

MZSS, Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi RH: *Pravilnik o prehrambenim aditivima*. Narodne novine 64/10, 2010.

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

O'Keefe SF, Wiley VA, Knauft DA: Comparison of oxidative stability of high and normal oleic peanut oils. *Journal of the American Oil Chemists Society* 70:489-493, 1993.

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

Pokorny J: Introduction. U *Antioxidants in food*, str. 1-7. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2001.

Rac M: *Ulja i masti*. Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd, 1964.

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

Reyes-Caudillo E, Tecante A, Valdivia-López MA: Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds. *Food Chemistry* 107:656-663, 2008.

Richhmeimer SL, Bernart MW, King GA, Kent MC, Bailey DT: Antioxidant Activity of Lipid-Soluble Phenolic Diterpenes from Rosemary. *Journal of the American Oil Chemists Society* 73:507-514, 1996.

Shahidi F: Antioxidants: Science, Technology and Applications. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Newfoundland, Canada, 2005.

Shen N, Fehr W, Johnson L, White P: Oxidative stability of soybean oils with elevated palmitate and reduced linolenate contents. *Journal of the American Oil Chemists Society* 74:299-302, 1997.

Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition* 21:495-505, 2002.

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

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

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

Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. U *Antioxidants in food*, str. 210-249. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 2001.

Yanishlieva NV, Marinova EM: Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology* 103:752-767, 2001.

WEB1: http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@6.15:15/Organic-Compounds-Essential-to [03.09.2015.]

WEB2: http://www.plantea.com.hr/chia [06.09.2015.]

WEB3: http://www.totalsuperfood.com/ [03.09.2015.]