

Stabilizacija ulja sikačice s prirodnim i sintetskim antioksidansima

Furundžija, Stjepan

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:109:408150>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Stjepan Furundžija

**STABILIZACIJA ULJA SIKAVICE S PRIRODNIM I SINTETSKIM
ANTIOKSIDANSIMA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2020.

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 18, 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 VIII. Redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 25. lipnja 2020.

Mentor: prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*

Pomoć pri izradi: *Daniela Paulik*, tehnički suradnik

Stabilizacija ulja sikavice s prirodnim i sintetskim antioksidansima

Stjepan Furundžija

Sažetak: Zadatak diplomskog rada bila je stabilizacija hladno prešanog ulja sikavice. Ispitan je utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja sikavice. Ulje sikavice proizvedeno je hladnim prešanjem osušene i neoljuštene sjemenke. Od prirodnih antioksidanasa korišteni su ekstrakt ružmarina (tip StabilEnhance), ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka, α - tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt primorskog vriska (rtanjskog čaja), kofeinska kiselina, ružmarinska kiselina, a od sintetskih antioksidanasa terc-butilhidrokinon (TBHQ). Efikasnost dodatka antioksidansa u stabilizaciji ulja određena je Schaal oven testom oksidacijske stabilnosti kod konstantne temperature 63 °C. Rezultati ispitivanja stabilnosti ulja prikazani su vrijednostima peroksidnog broja tijekom četiri dana provedbe testa. Ispitivanjem se došlo do zaključka da terc-butilhidrokinon (TBHQ) te ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance imaju najbolje antioksidacijsko djelovanje na hladno prešano ulje sikavice.

Ključne riječi: sikaonica, ulje sikaovice, antioksidansi, oksidacijska stabilnost

Rad sadrži: 51 stranice
24 slika
5 tablica
0 priloga
21 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

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

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

Datum obrane: 30. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 18, 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. VIII held on Jun 25, 2020.

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

Technical assistance: *Daniela Paulik, technical associate*

Stabilization of Milk Thistle Seed Oil with Natural and Synthetic Antioxidants

Stjepan Furundžija

Summary: The aim of this research was the stabilization of cold-pressed Milk Thistle Seed Oil. The effect of the addition of natural and synthetic antioxidants on the change in oxidative stability of cold pressed Milk Thistle Seed Oil was investigated. Milk Thistle Seed Oil was produced by cold pressing dried and unpeeled seeds. The natural antioxidants that are used: rosemary extract (type StabilEnhance), grape seed extract type Frankovka, alpha tocopherol, tocopherol mixture, green tea extract, winter savory extract, caffeic acid, rosemary acid and synthetic tert-Butylhydroquinone (TBHQ). The efficiency of antioxidant addition in oil stabilization was determined by Schaal oven oxidation stability test at a constant temperature of 63 °C. The results of the oil stability test are shown by the peroxide value during the four days of the test. The study concluded that tert-Butylhydroquinone (TBHQ) and rosemary extract type StabilEnhance have the best antioxidant effect on cold-pressed Milk Thistle Seed Oil.

Key words: Milk Thistle seed, Milk Thistle seed oil, antioxidants, oxidative stability

Thesis contains: 51 pages
24 figures
5 tables
0 supplements
21 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 30, 2020.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. MASTI I ULJA	5
2.2. SIROVINA ZA PROIZVODNJU ULJA	11
2.2.1. Sikavica	11
2.2.1.1. Fizikalno kemijski sastav hladno prešanog ulja sikavice	14
2.3. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA	15
2.3.1. Metode za određivanje oksidacijske stabilnosti	16
2.4. VRSTE KVARENJA ULJA	17
2.4.1. Procesi autooksidacije ulja	17
2.5. STABILIZACIJA ULJA	19
2.5.1. Antioksidansi	19
2.5.2. Sinergisti	21
2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA	22
2.6.1. Senzorska analiza	22
2.6.2. Anisidinski broj (Abr)	22
2.6.3. Peroksidni broj (Pbr)	22
2.6.4. Specifične apsorbancije	23
3. EKSPERIMENTALNI DIO	24
3.1. ZADATAK	25
3.2. MATERIJALI I METODE	25
3.2.1. Materijali	25
3.2.1.1. Hladno prešano ulje sikavice	25
3.2.1.2. Antioksidansi	26
3.2.2. Metode rada	29
3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja	29
3.2.2.2. Ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja Oven testom	32
4. REZULTATI	35
5. RASPRAVA	39
5.1. Rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete ulja sikavice	40
5.2. Rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti ulja sikavice Oven testom	40
6. ZAKLJUČCI	43
7. LITERATURA	45
8. POPIS SLIKA	48
9. POPIS TABLICA	50

Popis oznaka, kratica i simbola

O ₂	molekula kisika
NMK	nezasićene masne kiseline
ZMK	zasićene masne kiseline
Pbr	peroksidni broj
-OH	hidroksilna skupina
OOO	triglicerid
SB	saponifikacijski broj
BHA	butilhidroksianisol
BHT	butilhidroksitoluen
PG	propil galat
OG	oktil galat
M	molarna masa
NN	netopljive nečistoće
SMK	slobodne masne kiseline
TBHQ	terc-butilhidrokinon
OPG	obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo

1. UVOD

U današnje vrijeme sve je veća potražnja za zdravijim i nutritivno bogatijim prehrambenim proizvodima. Na taj način mijenjaju se prehrambene navike potrošača, a samim time potrebne su i određene promjene u procesu proizvodnje takvih namirnica. Proizvodnja hladno prešanih ulja u posljednje vrijeme je u konstantnom porastu. Hladno prešana ulja dobivaju se postupkom prešanja uljarica, bez zagrijavanja te sve komponente ostaju u izvornom nepromijenjenom obliku. Od velike je važnosti da sirovina za proizvodnju ulja bude visoke kvalitete jer kod hladnog prešanja ulja ne postoji faza koja bi omogućila odstranjivanje nepoželjnih komponenti iz ulja. Kontrola kvalitete sirovine koja se obavlja prije postupka prešanja obuhvaća: kontrolu senzorskih svojstava, kontrolu zdravstveno – higijenske ispravnosti, kontrolu tehnološke i kemijske kvalitete sirovine i mikrobiološku kontrolu.

Sikavica se upotrebljava već više od dvije tisuće godina za liječenje bolesti jetre i žučnog mjehura te kao zaštita jetre od djelovanja toksina. Sikavica, *Sylibum Marianum* L. je biljka iz koje se dobiva sirovina za proizvodnju hladno prešanog ulja sikavice koje je bogato nezasićenim masnim kiselinama od kojih su najzastupljenije linolna kiselina (C 18:2) te oleinska kiselina (C 18:1). Hladno prešano ulje sikavice sadrži i velike količine sterola koji snažno utječu na oksidacijsku i termičku stabilnost ulja.

Oksidacijska stabilnost ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulje može čuvati od procesa autooksidacije i narušavanja same kvalitete ulja i senzorskih svojstava. Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti danas su u uporabi metode koje rade na principu da ubrzavaju proces oksidacije ulja djelovanjem jednog ili više čimbenika. Najčešće metode koje se koriste za određivanje oksidacijske stabilnosti su: Schaal Oven test, test održivosti na 98 °C, AOM test, Rancimat test, metoda apsorpcije O₂ te test na bazi fluorescentnog svjetla (Dimić, 2000.).

Antioksidansi su molekule koje sprječavaju oksidaciju drugih molekula, dodaju se u malim koncentracijama te prema podrijetlu razlikujemo prirodne i sintetske antioksidanse.

Njihovo djelovanje ovisi o koncentraciji, vrsti i uvjetima čuvanja ulja.

Zadatak ovog diplomskog rada bio je primjenom Oven testa na 63 °C ispitati oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja sikavice sa i bez dodatka antioksidanasa. Korišteni antioksidansi su: ekstrakt zelenog čaja 0,25 %, ekstrakt primorskog vriska (rtanjskog čaja) 0,25 %, ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance 0,25 %, ružmarinska kiselina 0,10 % i 0,15 %, kofeinska kiselina 0,10 % i 0,15 %, terc-butilhidrokinon (TBHQ) 0,01 %, α – tokoferol 0,25 %, mješavina

tokoferola 0,25 %, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %, ekstrakt pogače koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASTI I ULJA

Masti i ulja su organski spojevi biljnog i životinjskog podrijetla, netopljivi su u vodi, ali izuzetno topljivi u organskim otapalima poput alkohola, etera, heksana, kloroforma i sl. (Sikorski, 2003.). Osnovna i najočitija razlika između masti i ulja je agregatno stanje pri sobnoj temperaturi. Zbog većeg udjela nezasićenih masnih kiselina (NMK) biljna ulja su pri sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju dok su masti u krutom stanju jer sadrže više zasićenih masnih kiselina (ZMK).

Masti i ulja pripadaju skupini lipida, građeni su od trovalentnog alkohola glicerola, masnih kiselina i negliceridnih sastojaka (Moslavac, 2013.).

Lipide dijelimo prema podrijetlu te prema sastavu biljnih ulja i njihovoj strukturi.

➔ Prema podrijetlu:

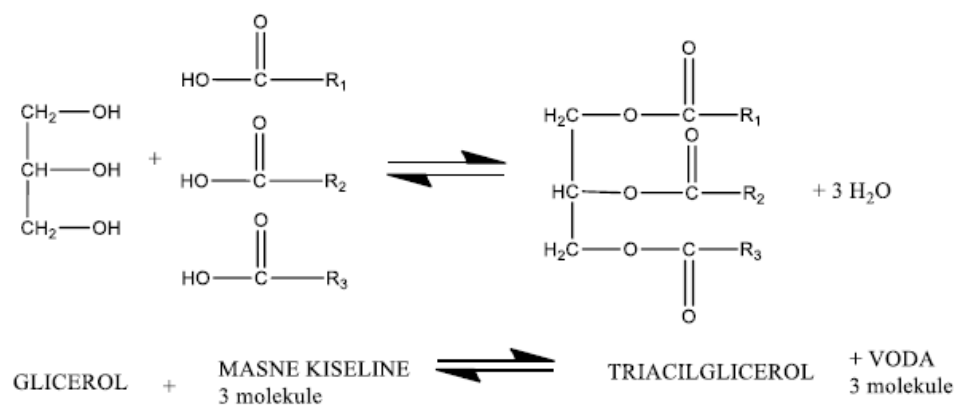
- biljni,
- životinjski.

➔ Prema sastavu biljnih ulja i njihovoj strukturi:

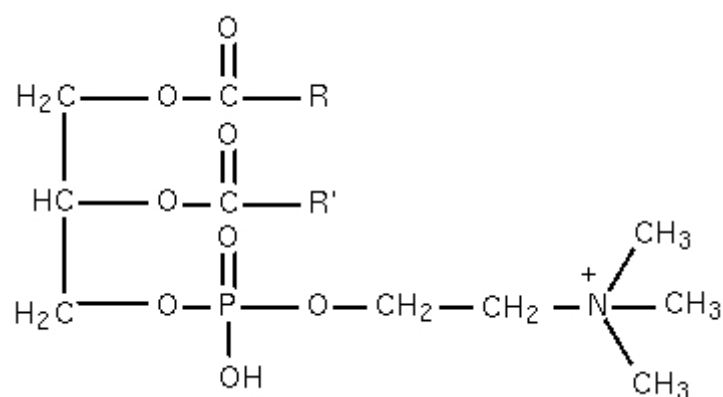
- jednostavni lipidi,
- složeni lipidi,
- derivati lipida.

Jednostavni lipidi

U ovu skupinu lipida ubrajaju se masti i voskovi. Prema kemijskom sastavu masti su triacilgliceroli, odnosno nastali su iz jedne molekule alkohola glicerola i tri molekule masnih kiselina. Pod voskove ubrajamo estere viših masnih kiselina i viših masnih alkohola. Na **Slici 1.** prikazana je reakcija nastajanja triacilglicerola. Voskovi su esteri viših masnih kiselina i viših masnih alkohola (Hoffman, 1989.).

**Slika 1.** Dobivanje triacilglicerola**Složeni lipidi**

U složene lipide ubrajamo fosfolipide, glikolipide, aminolipide te sulfolipide. Hidrolizom složenih lipida nastaju tri ili više produkta, tj. osim alkohola glicerola i masnih kiselina prisutni su i negliceridni sastojci. Neki od negliceridnih sastojaka su: liposolubilni vitamini, karotenoidi, tokoferoli, pigmenti, ketoni, aldehidi, steroli. Postoje također tragovi metala, voskovi i fosfolipidi koji su vrlo nepoželjni jer smanjuju kvalitetu ulja te njih nastojimo ukloniti tijekom prerade ulja kod procesa rafinacije ulja. Na **Slici 2.** prikazana je struktura fosfolipida.

**Slika 2.** Prikaz fosfolipida

Derivati lipida

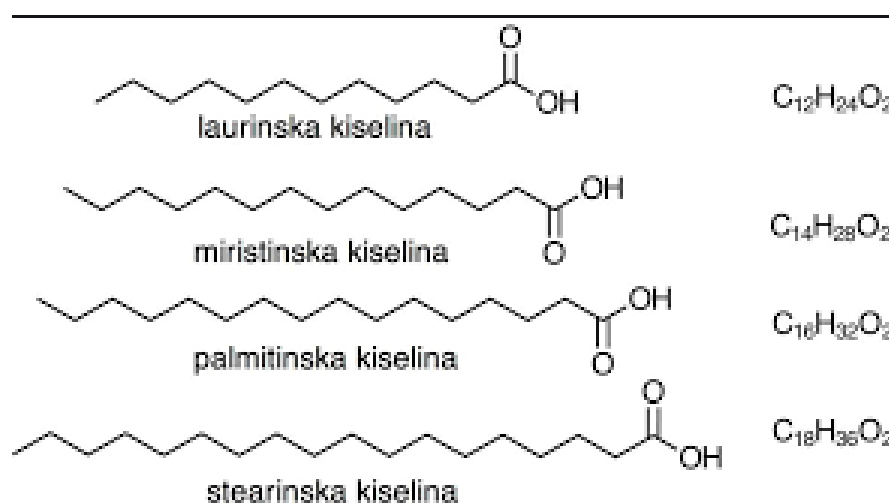
Derivati lipida su masne kiseline, vitamin A, vitamin E, vitamin D, vitamin K, alkohol (steroli) i ugljikovodici (karoteni). To su spojevi nastali hidrolizom jednostavnih i složenih lipida. U prirodnim uljima i mastima se nalaze različite masne kiseline čija se molekula sastoji od ugljikovodičnog lanca (R) i karboksilne skupine (- COOH).

Masne kiseline

Ovisno o broju ugljikovih atoma masne kiseline se mogu podijeliti na masne kiseline kratkog lanca (broj C atoma 4-8), masne kiseline srednjeg lanca (broj C atoma 8-12), masne kiseline dugačkog lanca (broj atoma iznad 12). Dok je najpoznatija i najvažnija podjela prema stupnju nezasićenosti te ih dijelimo na nezasićene masne kiseline (s jednom i više dvostrukih veza) i zasićene masne kiseline (ne sadrže dvostruke veze). Što je lanac masne kiseline kraći, snižava se njezino talište, odnosno masnoća je više u tekućem obliku.

1) Zasićene masne kiseline (ZMK)

U svom sastavu nemaju dvostruke veze, nalaze se u obliku ravnog štapića te se iz tog razloga mogu gusto slagati što za rezultat daje da se pri sobnoj temperaturi nalaze u čvrstom agregatnom stanju. U prirodnim uljima i mastima najčešće su zastupljene ZMK sa 4-22 ugljikova atoma, dok su one sa većim brojem ugljikovih atoma (24-26) prisutne u voskovima. U biljnim uljima i mastima najznačajnije su palmitinska, stearinska, laurinska i miristinska. Opća formula zasićenih masnih kiselina: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$. **Slika 3.** prikazuje zasićene masne kiseline.



Slika 3. Prikaz zasićenih masnih kiselina

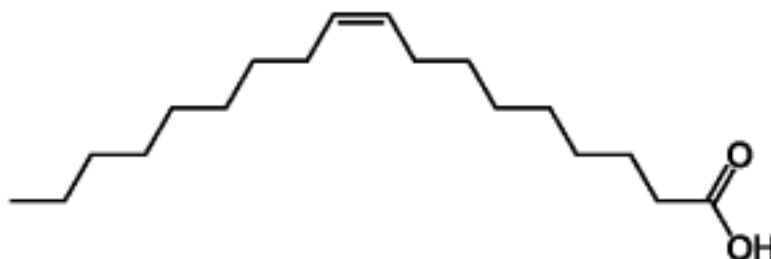
U **Tablici 1.** prikazane su najzastupljenije zasićene masne kiseline (Moslavac, 2013.).

Tablica 1. Najzastupljenije zasićene masne kiseline

Naziv	Broj C atoma	Formula	Nalazište
Maslačna	4	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{COOH}$	Maslac
Kaprnska	6	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_4 \cdot \text{COOH}$	Palme, maslac, masti kokosa
Kaprilna	8	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_6 \cdot \text{COOH}$	Maslac, masti kokosa, palmi i sjemenja uljarica
Kaprinska	10	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_8 \cdot \text{COOH}$	Maslac, masti kokosa i kitova
Laurinska	12	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{10} \cdot \text{COOH}$	Sjemenke masti iz porodica lovora i palme, mliječne masti
Miristinska	14	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{12} \cdot \text{COOH}$	Većina životinjskih i biljnih masti
Palmitinska	16	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{14} \cdot \text{COOH}$	Sve životinjske i biljne masti
Stearinska	18	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{16} \cdot \text{COOH}$	Životinjske i biljne masti
Arahinska	20	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{18} \cdot \text{COOH}$	Arašidovo ulje i riblja mast
Behenska	22	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{20} \cdot \text{COOH}$	Arašidovo, repičino, gorušičino ulje
Lignocerinska	24	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{22} \cdot \text{COOH}$	Arašidovo ulje, te u malim količinama u životinjskim mastima

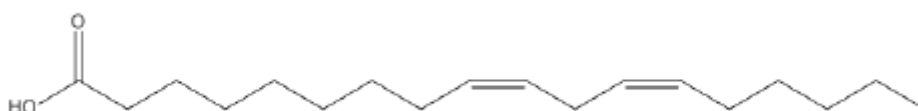
2) Nezasićene masne kiseline (NMK)

Nezasićene masne kiseline su kiseline koje u molekuli imaju jednu ili više dvostrukih veza. Ovisno o broju dvostrukih veza dijele se na mononezasićene i polinezasićene. Zbog prisustva jedne dvostruke veze, mononezasićene masne kiseline imaju niže talište u odnosu na zasićene masne kiseline sa jednakim brojem ugljikovih atoma. Iz tog razloga su gliceridi mononezasićenih masnih kiselina u tekućem agregatnom stanju (Rac, 1964.). Najčešća mononezasićena kiselina je oleinska kiselina sa 18C atoma i jednom dvostrukom (=) vezom, te su one manje podložne oksidaciji. Strukturnu formulu oleinske kiseline možemo vidjeti na **Slici 4.**



Slika 4. Strukturna formula oleinske kiseline

Linolna kiselina je najpoznatija polinezasićena masna kiselina i ona pripada u skupinu esencijalnih masnih kiselina što podrazumijeva da je ljudski organizam ne može sam sintetizirati već se mora unositi putem prehrane. Strukturnu formulu linolne kiseline prikazana je na **Slici 5**.



Slika 5. Strukturna formula linolne kiseline

U **Tablici 2.** prikazane su važnije mononezasićene masne kiseline (Moslavac, 2013.).

Tablica 2. Važnije mononezasićene masne kiseline

Naziv	Formula	Nalazište
Oleinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	sva ulja i masti
Palmitoleinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	prirodne masti
Vakceinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	maslac i loj
Gadoleinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ulje repice, gorušice i riblja ulja
Petroselinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	ulje peršina
Eruka kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	ulje krstašica (repica, gorušica)

U **Tablici 3.** prikazane su važnije polinezasićene masne kiseline (Moslavac, 2013.).

Tablica 3. Važnije polinezasićene masne kiseline

Naziv	Formula	Nalazište
Linolna kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	sva ulja i masti (0,5-81 %), veći broj jestivih biljnih ulja (40-60 %)
Linolenska kiselina	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	ulja visokog jednog broja (>150), tzv. sušiva ulja
Klupanodonska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2\text{CH}_2\text{COOH}$	riblja ulja

2.2. SIROVINA ZA PROIZVODNJU ULJA

Uljarice se isključivo uzgajaju radi proizvodnje ulja. Većina ulja se nalazi u plodu ili sjemenu biljaka. Neke biljke mogu sadržavati i do 70 % ulja, dok u nekima ulje možemo pronaći samo u tragovima. Sirovine koje se koriste za proizvodnju ulja moraju imati određeni udio ulja i uz to mora biti ekonomski prihvatljivo pogodno za masovnu proizvodnju (Dimić, 2005.).

Za proizvodnju ulja se koriste različiti dijelovi biljke:

- plod (maslina, palma),
- dijelovi ploda (kopra),
- sjemenke sa ljuskom ploda (mahuna soje, arašida i sl.),
- ljuska na samoj jezgri (suncokret, koštice bundeve),
- klice (kukuruz, pšenica i dr.) (Rac, 1964.; Sadadinović, 2008.).

2.2.1. Sikavica

Botanički naziv za sikavicu je *Sylibum Marianum (L.) Gaertn.* Član je porodice *Asteraceae*. Najrašireniji naziv je sikavica no postoji još nekoliko naziva: obični oslobod, osljebad, badelj,

divlja artičoka te šarena badeljka, Marijanski čičak, Marijanski bodljikaš itd. (Grlić, 2005.; Kuštrak, 2005.; Bahmani i sur., 2015.).



Slika 6. Prikaz sikavice

Sikavica (**Slika 6.**) je dvogodišnja zeljasta biljka s velikim široko nazubljenim listovima, tamno zelene boje s prošaranim bijelim prugama. Sikavica u prvoj godini vegetacije razvija prizemne listove, a iz njih izrasta visoka cvjetna stabljika (60 – 150 cm). Cvjetne glavice sikavice su purpurno crvene boje (neke sorte imaju bijeli cvijet), jajolikog oblika i obavijene su dugim bodljama, a cvjetovi u glavicama su cjevasti. Cvjetne glavice stoje pojedinačno na stabljici dugoj 4 – 5 cm, okružene šiljastim i trnovitim ovojnim listićima (Grlić, 2005.; Kuštrak, 2005.).

Sjemenke sikavice

Sjemenke su 6 - 7 mm duge, do 3 mm širine i približno 1,5 mm debele (**Slika 7.**) . Glatke su i crno-smeđe boje. Sjemenka sikavice sastoji se od vanjskog epiderma (egzokarpa) koja se u gornjoj trećini sastoji od jako odebljelih membrana. Ispod epiderme nalazi se mezokarp čije produžene i točkaste stanice sadrže tamne tanine koji su odgovorni za pjegav izgled ploda. Endokarp je drvenast, žute boje i sadrži velike kristale kalcijeva oksalata u obliku prizmi. Endosperm se sastoji od sloja stanica s aleuronskim zrcima, kalcijevog oksalata i mnoštvom izduženih stanica ispunjenih kapljicama lipida (Kuštrak, 2005.).



Slika 7. Prikaz sjemenke sikavice

Sikavica je jedna od najproučavanijih ljekovitih biljaka. Ljekoviti dio biljke su sjemenke koje se već više od 2000 godina koriste za liječenje niza bolesti jetre i žučnog mjehura (hepatitis, ciroza, žutica) te zaštitu jetre od kemijskih i okolišnih trovanja toksinima (ubodi insekata, zmijski ugrizi te trovanje gljivama) (Kuštrak, 2005.; Bahmani i sur., 2015.).

Silimarín je glavni bioaktivni sastojak sjemenki sikavice koji se nalazi u sloju endokarpa. U endospermu se silimarín ne nalazi, već se endosperm većinom sastoji od proteina i lipida. Stoga se na ulje gleda kao na nusprodukt prilikom proizvodnje silimarína.

2.2.1.1. Fizikalno kemijski sastav hladno prešanog ulja sikavice

Hladno prešano ulje sikavice ima relativno visok udio ukupnih nezasićenih masnih kiselina koje dostižu do 83 % od ukupnih masnih kiselina. Najveći udio nezasićenih masnih kiselina ima linolna kiselina, a potom slijedi oleinska kiselina. Linolenska kiselina i eikosenska kiselina nalaze se u tragovima i nisu toliko značajne za ovu uljaricu. Udio nezasićenih masnih kiselina ima odlučujuću ulogu u oksidacijskoj stabilnosti finalnog ulja (veći udio nezasićenih masnih kiselina = niža oksidacijska stabilnost). Osim sastava masnih kiselina na oksidacijsku stabilnost utječe i udio polifenola i antioksidanasa (Luttrudt i sur., 2010.).

Ulje sikavice je po sastavu masnih kiselina sličan ulju uljane repice i ulju lana u kojima oleinska kiselina i linolna čine 70 – 85 %. Međutim, ulje sikavice i lana sadrže više linolne kiseline nego oleinske, dok ulje uljane repice sadrži više oleinske kiseline nego linolne. Sastav masnih kiselina u ulji sikavice je jedinstven i sa većinom ulja se ne podudara. No bogat je nezasićenim masnim kiselinama poput suncokretovog, orahovog i sojinog ulja. Ulje sikavice kao takvo bi se moglo upotrebljavati kao ulje za salatu, kao ulje za kuhanje, može se miješati s drugim biljnim uljima, a kako bi se poboljšala njegova hranjiva vrijednost može se miješati sa zasićenim masnim kiselinama (Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009.).

Fitosteroli, steroli biljnog podrijetla, su sastavni dijelovi svih biljaka u malim količinama. Fitosteroli čine glavni dio neosapunjivog dijela biljke te u uljima utječu na oksidacijsku i termičku stabilnost i samim time produžuju trajnost ulja. U hladno prešanom ulju sikavice vodeću ulogu ima Beta-sitosterol. Prema literaturi (Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009.) ulje sikavice sadržava 619,3 – 777,1 mg/kg Beta-sitosterola.

Od tokoferola najznačajniji u hladno prešanom ulju sikavice je α tokoferol 187,4 – 465,1 %. (Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009.)

Meddeb i sur. (2017.) odredili su jodni broj u hladno prešanom ulju sikavice (115,61 g I₂/100 g ulja). Relativno visoka vrijednost jodnog broja u hladno prešanom ulju sikavice rezultat je visokog udjela polinezasićenih masnih kiselina. Prema istoj literaturi, Meddeb i sur. (2017.) saponifikacijski broj hladno prešanog ulja sikavice iznosi 128,08 – 205,16 mg KOH/g ulja što je također visoka vrijednost. Rezultat ovako visoke vrijednosti saponifikacijskog broja ukazuje na

postojanje visokog sadržaja zasićenih masnih kiselina. Na **Slici 8.** vidimo postupak dobivanja hladno prešanog ulja sikavice.



Slika 8. Dobivanje hladno prešanog ulja sikavice

2.3. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Sve skupine biljnih ulja osjetljive su na oksidacijsko kvarenje tako da ih je potrebno stabilizirati kako bi ih se moglo što duže sačuvati. Za kvarenje ulja su zaslužne kemijske, mikrobiološke i enzimske reakcije prilikom kojih se narušavaju okus, boja i miris ulja, a također mogu biti i štetni za zdravlje ljudi (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Slobodni radikali su krajnji produkt oksidacijskog kvarenja koje se odvija uz prisustvo kisika. Također je moguća i hidrolitička razgradnja ulja prilikom koje dolazi do povećane kiselosti ulja, nastanka slobodnih masnih kiselina, monoglicerida, diglicerida i glicerola. Kako bi se spriječile

navedene promjene potrebno je ukloniti kisik iz proizvoda, koristiti niže temperature, koristiti zatamnjenu staklenu ambalažu te dodati određenu količinu antioksidansa.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja je vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Ona uvelike ovisi o vrsti ulja te uvjetima čuvanja ulja. Testovi koji se primjenjuju temelje se na ubrzanoj oksidaciji ulja pomoću nekog od čimbenika koji uzrokuju kvarenje (Dimić, 2005.).

2.3.1. Metode za određivanje oksidacijske stabilnosti

Schaal Oven test

Uzorci ulja se zagrijavaju u sušioniku na temperaturi od 63 °C. Nakon toga prati se porast peroksidnog broja (Pbr) i senzorske promjene u određenom vremenskom periodu, najčešće se radi kraćem periodu (4 dana ili više).

AOM test (Swift test)

Uzorci ulja se stavljaju u Swift uređaj gdje se zagrijavaju na temperaturi od 97,8°C i kroz njih prolazi struja zraka. U određenim vremenskim razmacima uzorci ulja se uzimaju i određuje se peroksidni broj (Pbr) (Dimić, 2005.).

Test održivosti na 98 °C

Test se provodi u sušioniku u kojem se stavljaju uzorci na temperaturu od 98 °C te se u određenom vremenskom razmaku (sati, dani) mjeri peroksidni broj. Rezultati primjenom ovog testa pokazuju mogućnost korištenja za približno procjenjivanje održivosti ulja na sobnoj temperaturi (Moslavac, 2013.). Izrazito je bitno voditi računa o tome da se u približno točno vrijeme svaki dan određuje vrijednost peroksidnog broja te da se vodi računa prilikom analize o čistoći laboratorijskog posuđa kako bi se dobili ispravni rezultati.

Rancimat test

Rancimat test je instrumentalna metoda koja pokazuje najtočnije rezultate od svih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja i masti. Radi se o najpoznatijem testu ovakve vrste. Test se provodi u rancimat uređaju pri temperaturi (100, 110, 120 °C) i uz konstantan dovod

zraka. Kao rezultat oksidacije je stvaranje niskomolekularnih, hlapljivih kiselina (mravlje, octene, propionske, buterne kiseline i dr.). Uvođenjem nastalih kiselina u destiliranu vodu i mjerenjem porasta vodljivosti možemo indirektno pratiti tijek oksidacije ulja i masti (Dimić, 2005.).

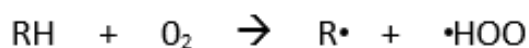
Količina nastalih hlapljivih kiselina se određuje konduktometrijski s automatskom detekcijom provodljivosti vode u funkciji vremena. Rezultat testa se prikazuje u indukcijskom periodu (IP) u satima i što je IP veći to ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost (Rade i sur., 2001.).

2.4. VRSTE KVARENJA ULJA

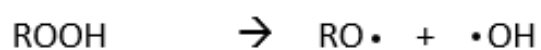
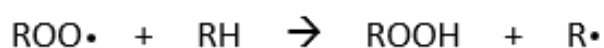
2.4.1. Procesi autooksidacije ulja

Ukoliko nema dodatka antioksidansa i ukoliko su uvjeti skladištenja ulja takvi da pogoduju autooksidaciji, doći će također do niza lančanih reakcija. Dolazi do stvaranja slobodnih radikala koja se odvija u više faza (**Slika 9.**) :

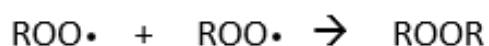
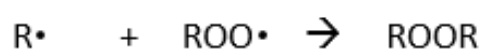
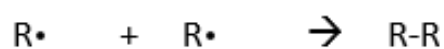
- 1) prva faza- stvaranje slobodnih radikala ($R\cdot$) vezanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline (RH).
- 2) druga faza- vezanje kisika O_2 na slobodne radikale masnih kiselina ($R\cdot$), nastaju hidroperoksidi ($ROOH$) i slobodni radikali peroksida ($ROO\cdot$). Primarni produkti oksidacije (hidroperoksidi), zbog svog labilnog stanja, se u daljnjem procesu razgrađuju na sekundarne produkte ($RO\cdot$, $ROO\cdot$ i dr.).
- 3) treća faza- reakcija se lančano nastavlja sve dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno stvarajući polimere koji nisu aktivni (Ergović Ravančić, 2017.).

a) Početak reakcije

masna kiselina slobodni radikali

b) Tijek reakcije

hidroperoksid slobodni radikali

c) Završetak reakcije

međusobne reakcije polimeri
slobodnih radikala

Slika 9. Faze autooksidacije

2.5. STABILIZACIJA ULJA

2.5.1. Antioksidansi

Antioksidansi su reducirajuće tvari koje u malim koncentracijama sprječavaju oksidacijsko kvarenje i produžuju oksidacijsku stabilnost ulja (Yanishlieve i Marinova, 2001.). Djelovanje antioksidansa ovisi o: sastavu masnih kiselina u ulju, svojstvima antioksidansa, uvjetima čuvanja ulja, vremenu kada će se dodati u ulje, dodanoj koncentraciji antioksidansa itd. (Pokorny i sur., 2001.). Ukoliko je oksidacija već nastupila, antioksidansi ne mogu poboljšati kvalitetu već oksidiranog ulja te ih je nepotrebno dodavati.

Djelovanje antioksidansa temelji se na dvije reakcije:

1) Antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida ($\text{ROO}^\bullet$) ili slobodni radikal masne kiseline ($\text{R}^\bullet$)



2) Slobodni radikal antioksidansa ($\text{A}^\bullet$) veže se na slobodni radikal ($\text{R}^\bullet$) ili na ($\text{ROO}^\bullet$)



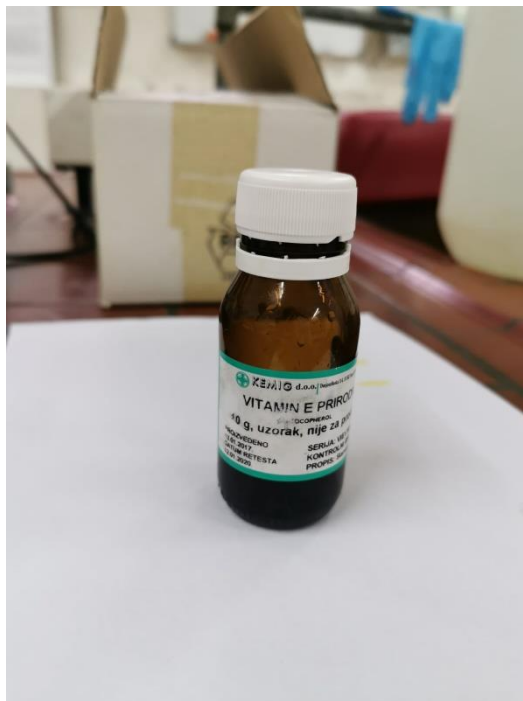
Prema navedenom mehanizmu djelovanja antioksidanse dijelimo na primarne i sekundarne koji mogu biti prirodni i sintetski ovisno o njihovom podrijetlu. Sintetski antioksidans je jeftiniji od prirodnog, ali je generalno prihvaćeno da prirodni antioksidansi imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje nego sintetski (Bera i sur., 2006.).

Prirodni antioksidansi

Od prirodnih antioksidanasa najpoznatiji i najčešće primjenjivani su tokoferoli i tokotrienoli koji su po kemijskom sastavu molekularni ciklički alkoholi, metil derivati alkohola tokola. Prirodno se nalaze u mastima i uljima kao neosapunjive tvari. Tokoferole i tokotrienole možemo pronaći u α , β , γ i δ oblicima. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α -tokoferol, dok najbolje antioksidacijsko djelovanje imaju γ -tokoferol i δ -tokoferol. α -tokoferol se naziva još i vitamin E (**Slika 10.**), a razgrađuje se u prisustvu UV svjetlosti i pri povišenoj temperaturi (Shadini, 2000.).

Također kao prirodni antioksidansi mogu se koristiti ekstrakti biljaka i začina. Neki od njih su ekstrakti ružmarina, kadulje, češnjaka, zelenog čaja i dr. Za ekstrakte ružmarina i kadulje je

utvrđeno da sadrže fenolne spojeve koji imaju antioksidacijsku sposobnost. Jedino se mora paziti da uslijed dodavanja antioksidansa ne dođe do promjene boje, okusa i mirisa ulja s obzirom da navedeni antioksidansi imaju intenzivan miris.



Slika 10. Prikaz bočice vitamina E, prirodnog antioksidansa

Umjetni antioksidansi

Ubrajamo ih u skupinu aditiva, stoga je njihovo dodavanje u ulje strogo kontrolirano budući da se ne nalaze prirodno u hrani. Njihovo dodavanje u hranu je propisano i kontrolirano Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 62/2010. Najčešće korišteni umjetni antioksidansi su: butilhidroksianisol (BHA; E320), butilhidoksitoluen (BHT; E321), propil galat (PG; E310), butil galat (BG), oktil galat (OG; E311) i dodecil galat (E312) (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Umjetni antioksidansi su termički stabilniji i jeftiniji od prirodnih, ali prirodni imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje. Na **Slici 11.** prikazan je terc-butilhidrokinona (TBHQ), sintetski antioksidans.



Slika 11. Prikaz terc-butilhidrokinona (TBHQ), sintetski antioksidans

2.5.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji ne posjeduju antioksidacijsko djelovanje, ali u kombinaciji s nekim od antioksidanasa pospješuju njegovo djelovanje. Neki sinergisti imaju i nepovoljno djelovanje u kombinaciji sa određenim antioksidansom jer mogu dovesti do ubrzanja procesa autooksidacije.

Najpoznatiji sinergisti su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropilcitrata, askorbilpalmitat i lecitin.

Sinergisti djeluju na tri načina:

- a) vežu ione metala, sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
- b) vežu se s radikalom antioksidansa i sprječavaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida,
- c) daju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju vrijeme njegovog trajanja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA

Određivanje stupnja oksidacije kazuje nam je li ulje zadovoljavajuće kvalitete te bi li se ono moglo koristiti u ljudskoj prehrani. Također, na temelju dobivenih rezultata može se odrediti vremenski period tijekom kojeg se ulje može skladištiti bez da dođe do promjene u njegovoj kvaliteti. Metode za određivanje stupnja oksidacije biljnih ulja mogu se podijeliti u tri grupe:

- kemijske,
- fizikalne i
- senzorske (organoleptičke) metode.

Niti jedna metoda nije dovoljno precizna da bi se mogla koristiti samostalno, stoga se koristi kombinacija više metoda kako bi se mogli odrediti primarni i sekundarni produkti oksidacije ulja.

Najčešće korištene metode su:

- ➔ senzorska analiza,
- ➔ anisidinski broj,
- ➔ peroksidni broj,
- ➔ specifične apsorbancije.

2.6.1. Senzorska analiza

Bazira se na određivanju boje, okusa i mirisa ulja. Dobar su pokazatelj oksidacijske stabilnosti ulja, ali senzorska ispitivanja su individualna i to predstavlja ponekad problem jer rezultat analize ovisi isključivo o pojedincu.

2.6.2. Anisidinski broj (Abr)

Metoda se temelji na reakciji p-anisidina s višim nezasićenim aldehydima. Ovom metodom se omogućuje potpuna procjena kvalitete te se koristi za ispitivanje kvalitete sirovih i jestivih biljnih ulja. Što je manja vrijednost anisidinskog broja to je bolja održivost ulja. Anisidinska vrijednost koja ukazuje na dobru kvalitetu ulja mora biti manja od 10 (Rade i sur., 2001.).

2.6.3. Peroksidni broj (Pbr)

Najčešća i najprimjenjivija metoda za određivanje oksidacijskog stupnja masti i ulja. Jodometrijska metoda koja se najčešće koristi za određivanje peroksida su Lea i Wheeler

metoda. Princip jodometrijske metode temelji se na određivanju količine joda kojeg iz kalijevog jodida oslobađaju peroksidi.

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima NN 11/19. Peroksidni broj rafiniranih ulja nakon dezodorizacije mora biti oko 0 mmol O_2/kg , za rafinirana jestiva ulja dozvoljen je peroksidni broj do 5 mmol O_2/kg , dok za hladno prešana i djevičanska ulja je dozvoljeno do 7 mmol O_2/kg . Na **Slici 12.** prikazana je priprema uzorka za određivanje peroksidnog broja.



Slika 12. Priprema uzorka za određivanje peroksidnog broja

2.6.4. Specifične apsorbancije

Fizikalna metoda koja se temelji na određivanju apsorbancijskih maksimuma na valnim duljinama 232 nm i 270 nm. Određivanjem oksidacijskog maksimuma pri 270 nm dobije se uvid u sadržaj konjugiranih triena, sekundarnih produkata oksidacije nastalih iz hidroperoksida, dok se na valnoj duljini od 232 nm dobiju podaci vezani za sadržaj hidroperoksida, konjugiranih diena, primarnih produkata oksidacije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je primjenom Oven testa na 63 °C tijekom 4 dana ispitati oksidacijsku stabilnost svježe proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice s dodatkom dvanaest različitih prirodnih i sintetskih antioksidanasa. Dakle, cilj je bio istražiti koji antioksidans je najpogodniji za stabilizaciju tijekom skladištenja hladno prešanog ulja sikavice. Prirodni antioksidansi korišteni u istraživanju su: ekstrakt zelenog čaja 0,25 %, ekstrakt rtanjskog čaja 0,25 %, ekstrakt ružmarina StabilEnhance 0,25 %, ružmarinska kiselina 0,10 %, ružmarinska kiselina 0,15 %, kofeinska kiselina 0,10 %, kofeinska kiselina 0,15 %, terc-butilhidrokinon (TBHQ) 0,01 %, α – tokoferol 0,25 %, mješavina tokoferola 0,25 %, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %, ekstrakt pogače koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Hladno prešano ulje sikavice

Sirovina za proizvodnju hladno prešanog ulja sikavice je očišćena, osušena i neoljuštena sjemenka sikavice od proizvođača OPG Vučemilović (**Slika 13.**). Hladno prešano ulje proizvedeno je sa kontinuiranom prešom na PTF-u u laboratoriju za tehnologiju ulja i masti.



Slika 13. Sjemenke sikavice korištene za proizvodnju hladno prešanog ulja

3.2.1.2. Antioksidansi

Kod ispitivanja održivosti ili oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja sikavice korišteni su sljedeći prirodni i sintetski antioksidansi: ekstrakt zelenog čaja 0,25 %, ekstrakt rtanjskog čaja 0,25 %, ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance 0,25 %, ružmarinska kiselina 0,10 %, ružmarinska kiselina 0,15 %, kofeinska kiselina 0,10 %, kofeinska kiselina 0,15 %, terc-butilhidrokinon (TBHQ) 0,01 %, α – tokoferol 0,25 %, mješavina tokoferola 0,25 %, ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %, ekstrakt pogače koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 %. Uz navedene antioksidanse zapisani su i udjeli dodanog svakog pojedinog antioksidansa u hladno prešano ulje sikavice.

Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja proizveden je iz listova biljke *Camellia sintensis* L. i u praškastom je obliku. Udio epigalokatehin galata (EGGG) veći je od 45 %, udio ukupnih polifenola veći je od 98 %, udio kofeina manji je od 2 %, a udio katehina veći je od 80 %. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelu 0,25 % računato na masu ulja.

Ekstrakt rtanjskog čaja (primorski vrisak)

Prirodni antioksidans proizveden parnom destilacijom cvjetnih vrhova rtanjskog čaja (*Satureja Montana*) (Slika 14.). U ovom istraživanju upotrijebili smo ga u udjelu 0,25 % računato na masu ulja.



Slika 14. Antioksidansi korišteni u istraživanju

Ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance

Tip ekstrakta ružmarina (**Slika 15.**) , dobiven na prirodnoj bazi. Relativno novo-razvijeni proizvod koji je izvrsna zamjena za sintetske antioksidanse. Upotrijebili smo ga u udjelu 0,25 % računato na masu ulja.



Slika 15. Ekstrakt StabilEnhance® OSR

U istraživanju su također korišteni **ružmarinska (Slika16.)** i **kofeinska (Slika 17.)** kiselina koji su prirodni antioksidansi te smo ih upotrijebili u udjelu 0,10 % i 0,15 % računato na masu ulja.



Slika 16. Ružmarinska kiselina



Slika 17. Kofeinska kiselina

Terc-butilhidrokinon (TBHQ)

Sintetski antioksidans (**Slika 18.**) koji se proizvodi kemijskom sintezom. Učinkovito stabilizira nezasićena biljna ulja i mnoge masti životinjskog podrijetla. Iako se smatra bezopasnim, mnoga su istraživanja pokazala da TBHQ može inducirati nastanak tumora, pogotovo tumor želuca. Često konzumiranje nije preporučljivo. Upotrijebili smo ga u udjelu 0,01 % računato na masu ulja.



Slika 18. TBHQ, (sintetski antioksidans)

 α – tokoferol i mješavina tokoferola

α – tokoferol (vitamin E) prirodni je antioksidans i stabilizator ulja kao i mješavina tokoferola. Oba antioksidansa upotrijebili smo u udjelu 0,25 % računato na masu ulja. U jednakim udjelima dodani su i **ekstrakti koštice** grožđa sorte Frankovka i **pogače** koštice Frankovke, također su prirodni antioksidansi. Na **Slici 19.** prikazana je mješavina tokoferola, a na **Slici 20.** prikazan je vitamin E (α – tokoferol).



Slika 19. Mješavina tokoferola



Slika 20. Vitamin E (α – tokoferol)

3.2.2. Metode rada

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj predstavlja indikator oksidacijskog kvarenja biljnih ulja.

Jodometrijska metoda je standardna metoda za određivanje peroksidnog broja.

Postupak:

Uzorak ulja otopljen je u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma nakon čega je dodan kalijev jodid (KI). Uzorak je miješan jednu minutu te je razrijeđen destiliranom vodom. Uzorku je dodan škrob, kao indikator, te je provedena titracija sa 0,01 M natrijevim tiosulfatom ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Promjena boje ukazuje na to da je titracija završena. Na isti način provedena je i slijepa proba, ali bez ulja.

Izračun:

$$\text{Pbr (mmol O}_2\text{/ kg)} = (\text{V}_2 - \text{V}_1) \cdot 5 / m$$

V1 – volumen otopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka (mL);

V2 – volumen otopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepa probe (mL);

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Slobodne masne kiseline nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triacilglicerola. Njihov udio u mastima i uljima ovisi o upotrijebljenoj sirovini, načinu dobivanja i uvjetima skladištenja te se može izraziti kao kiselinski broj, kiselinski stupanj i % SMK izražen kao oleinska kiselina.

Postupak:

U izvagani uzorak ulja dodana je neutralna smjesa etera i etanola. Uzorak je promiješan te je dodano 5 kapi fenolftaleina i provedena je titracija sa 0,1 M NaOH. Promjena boje značila je da je titracija završena. Udio SMK izražava se kao % oleinske kiseline.

Izračun:

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

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

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

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

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje udjela netopljivih nečistoća (NN)

Netopljive nečistoće su uglavnom mehanički zaostaci mineralnog podrijetla ili organskog podrijetla (dijelovi biljke same uljarice). Osim toga netopljive nečistoće mogu biti ugljikohidrati, tvari s dušikom, oksidirane masne kiseline, hidroksidi masnih kiselina, Ca - sapuni, smole.

Postupak:

U Elenmayerovu tikvicu izvagan je uzorak ulja. Uzorku ulja je dodano organsko otapalo za lipide (heksan ili petroleter). Zatim je otopina filtrirana kroz stakleni lijevak sa perforiranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom. Netopljivi talog koji je zaostao na filteru se sušio do konstantne mase, ohladio i izvagao.

Izračun:

$$\% \text{ netopljivih nečistoća} = (m_2 - m_1 / m_0) * 100$$

m₀ – masa uzorka (g);

m₁ – masa osušenog lijevka (g);

m₂ – masa lijevka s nečistoćama nakon sušenja (g).

Određivanje jodnog broja

Jodni broj je količina joda u gramima koja se veže na 100 g ulja ili masti (g / 100 g). Jodni broj ukazuje na prisustvo nezasićenih dvostrukih veza masnih kiselina u molekuli triacilglicerola. Uzorak ulja se otopi u kloroformu, zatim se otopini doda otopina jodnog monobromida, promućka se, zatvori staklenim čepom i ostavi u tamnom prostoru pola sata. Zatim se otopini doda KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda te se vrši titracija s otopinom natrij tiosulfata do pojave svijetlo žute boje, nakon čega se uzorku dodaje otopina škroba i titrira se do nastanka plave boje. Slijepa proba radi se na isti način, ali bez dodatka uzorka ulja.

Izračun:

$$\text{Jodni broj (g J}_2\text{/100 g ulja)} = (a-b)/o * 1,269$$

gdje je:

a – volumen Na₂S₂O₃ potrošen kod titracije slijepe probe, mL;

b – volumen Na₂S₂O₃ potrošen kod titracije ulja, mL;

o - odvaga ulja (g).

Određivanje saponifikacijskog broja

Broj miligrama kalijevog hidroksida koji je potreban za vezanje slobodne i kao ester ili anhidrid vezane kiseline i 1 g uzorka.

Izračun:

$$\text{Broj osapunjenja: } \frac{28,052 * (a-b) * f}{o} * mg \frac{KOH}{1g}$$

gdje je:

a - utrošak 0,5 M HCl za slijepu probu / mL;

b – utrošak 0,5 M HCl za uzorak / mL;

o - odvaga uzorka / g;

f – faktor 0,5 M HCl;

28,052= broj miligrama KOH sadržanih u 1 mL 0,5 M alkoholne otopine kalijeve lužine.

Udio vlage u ulju

Prisutnost vlage u ulju dovodi do hidrolitičkih promjena, odnosno porasta slobodnih masnih kiselina, također dolazi do smanjenja kvalitete uslijed pojave zamućenja ulja te promjene senzorskih karakteristika ulja.

Postupak:

Određivanje se temelji na isparavanju udjela vode i hlapljivih tvari zagrijavanjem u sušioniku pri točno određenim uvjetima. U prethodno osušenu, ohlađenu i izvaganu posudicu s poklopcem izvagan je uzorak, a zatim je otvorena posudica stavljena u sušionik na temperaturu od 103 °C tijekom dva sata. Nakon 2 h uzorak je ohlađen u eksikatoru u zatvorenoj posudici te je na kraju izvagan. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja ponovljen je sve do konstantne mase, odnosno dok masa između dva uzastopna mjerenja nije bila manja od 0,002g.

Izračun:

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

m₀ – masa prazne posudice (g);

m₁ – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g);

m₂ – masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g).

3.2.2.2. Ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja Oven testom

Priprema uzoraka s antioksidansima

U staklene čaše od 100 mL dodani su antioksidansi (**Slika 21.**) i zatim je dodano 50 g ulja. Kontrolni uzorak je bio hladno prešano ulje bez dodatka antioksidansa. Tako pripremljeni uzorci su se zagrijavali na temperaturi od 70 °C do 80 °C te je ta temperatura, uz miješanje, održavana 30 minuta.

Nakon navedenog perioda, primjenom Oven testa na 63 °C u sušioniku, određivana je oksidacijska stabilnost svih uzoraka ulja.



Slika 21. Vaganje i dodavanje antioksidansa u čaše

Oven test (Schaal oven test)

Oven test proveden je na uzorku hladno prešanog ulja sikačice, te na uzorcima ulja sikačice u koji su dodani pojedini antioksidansi. Pripremljeni uzorci ulja (**Slika 22.**) zagrijavani su u sušioniku pri temperaturi 63 °C (**Slika 23.**) uz praćenje promjene peroksidnog broja (Pbr) tijekom 4 dana. Uzorkovanje ulja provodi se svakih 24 sata kako bi se odredio peroksidni broj. Prije uzorkovanja uzorci se homogeniziraju. Nakon homogeniziranja se u pripremljene čašice odlije 3 do 5 g ulja, a uzorci s uljem se vrte u sušionik. Nakon pripreme uzorka, određuje se peroksidni broj.

Rezultati Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja ulja (mmol O₂/kg).



Slika 22. Uzorci s dodanim antioksidansima



Slika 23. Sušionik zagrijan na 63 °C za provedbu Oven testa

4. REZULTATI

Rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete svježe proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice kao i parametri za identifikaciju ovog ulja, prikazani su u **Tablici 4.**

Tablica 4. Rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice

PARAMETRI KVALITETE	REZULTATI
Pbr (mmol O ₂ /kg)	2,96
SMK (%)	2,13
Udio vlage (%)	0,086
NN (%)	0,76
JB (g I ₂ /100g ulja)	105,71
SB (mg KOH/g ulja)	189,42

Pbr - peroksidni broj

SMK - slobodne masne kiseline

NN - netopljive nečistoće

JB- jodni broj

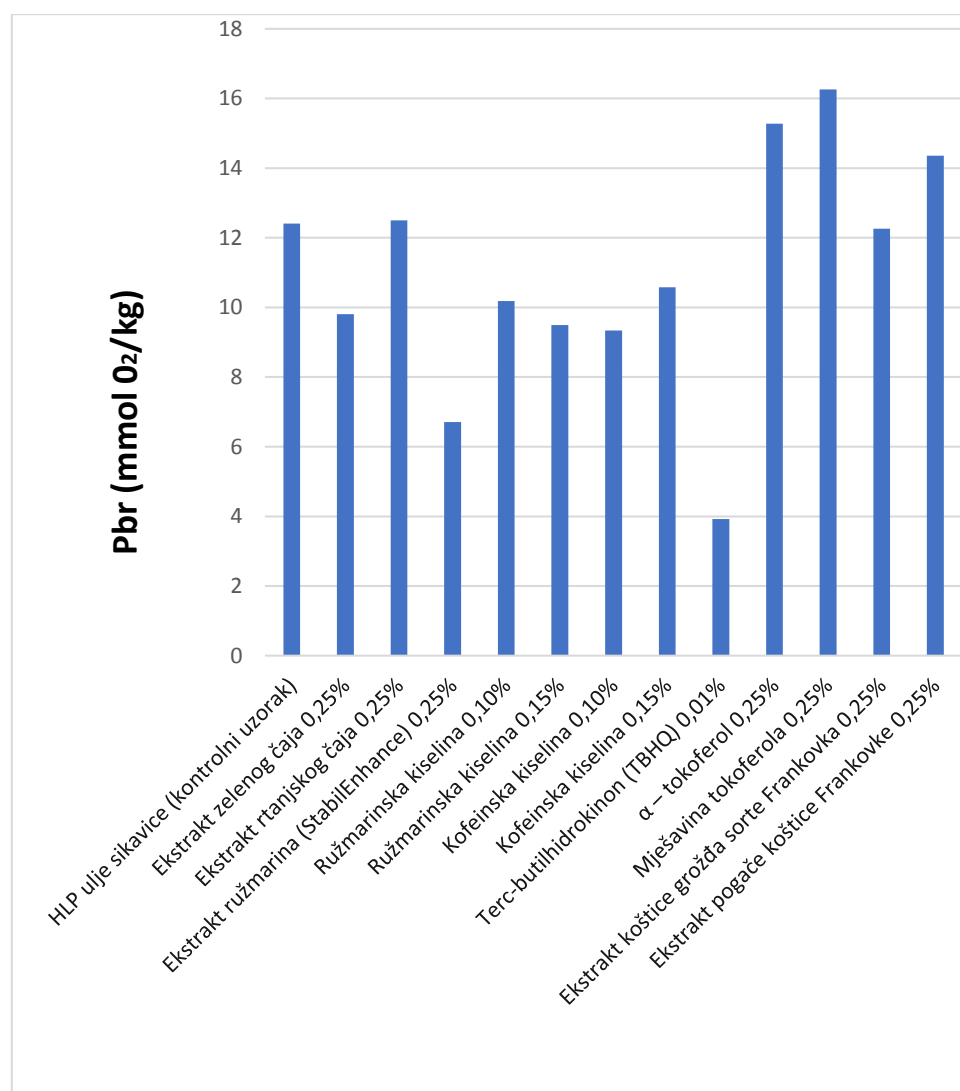
SB- saponifikacijski broj

U **Tablici 5.** prikazana je oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja sikaice sa ili bez dodatka antioksidansa izražena peroksidnim brojem tijekom 4 dana Oven testa na 63 °C

Tablica 5. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja sikaice sa ili bez dodatka antioksidansa izražena peroksidnim brojem tijekom 4 dana Oven testa na 63 °C

Uzorak	Pbr (mmol O ₂ /kg)				
	0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Hladno prešano ulje sikaice (kontrolni uzorak)		4,89	6,83	8,42	12,41
Ekstrakt zelenog čaja 0,25 %		5,29	6,08	8,14	9,81
Ekstrakt rtanjskog čaja 0,25 %		4,89	7,61	8,78	12,50
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance) 0,25 %		3,92	3,90	4,81	6,71
Ružmarinska kiselina 0,10 %		4,76	5,35	8,25	10,18
Ružmarinska kiselina 0,15 %		5,27	5,73	7,77	9,49
Kofeinska kiselina 0,10 %	2,96	4,27	7,11	7,32	9,34
Kofeinska kiselina 0,15 %		4,27	7,15	8,62	10,58
Terc-butilhidrokinon (TBHQ) 0,01 %		2,90	3,37	3,96	3,92
α – tokoferol 0,25 %		6,55	10,24	12,07	15,28
Mješavina tokoferola 0,25 %		4,13	7,89	10,90	16,26
Ekstrakt koštice grožđa Frankovka 0,25 %		5,26	7,71	9,66	12,26
Ekstrakt pogače koštice Frankovke 0,25 %		5,55	8,30	10,64	14,36

Na **Slici 24.** prikazan je utjecaj dodatka antioksidansa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja sikaice nakon 4 dana Oven testa pri 63 °C.



Slika 24. Utjecaj dodatka antioksidansa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja sikaice nakon 4 dana Oven testa pri 63 °C

5. RASPRAVA

5.1. Rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete ulja sikavice

Vrijednosti osnovnih parametara kvalitete svježe dobivenog hladno prešanog ulja sikavice određene su primjenom standardnih metoda i prikazane su u **Tablici 4.** Ulje sikavice ima peroksidni broj 2,96 mmol O₂/kg, udio slobodnih masnih kiselina 2,13 %, udio vlage 0,086 % i udio netopljivih nečistoća 0,76 %, jodni broj 105,71 g I₂/100g ulja, saponifikacijski broj 189,42 mg KOH/g ulja. Ispitivani parametri upućuju na to da je proizvedeno ulje dobre kvalitete i da je u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19). Dobivene vrijednosti jednog broja i saponifikacijskog broja su u skladu s literaturnim podacima za ulje sikavice.

5.2. Rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti ulja sikavice Oven testom

U **Tablici 5.** prikazani su rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice, sa i bez dodanih antioksidanasa, određena Oven testom, tijekom 4 dana praćenjem Pbr svakih 24 sata.

Nakon 4 dana testa kontrolni uzorak (bez dodatka antioksidanasa) imao je vrijednost Pbr 12,41 (mmol O₂/kg). S obzirom da je početna vrijednost Pbr bila 2,96 (mmol O₂/kg) možemo zaključiti da je hladno prešano ulje sikavice izrazito podložno oksidacijskim promjenama ukoliko nije dodan nikakav antioksidans.

Tijekom 4 dana provedbe Oven testa, dobiveni rezultati prikazuju nam porast vrijednosti Pbr za svaki od uzoraka. Uzimajući u obzir 1. ili 2. dan bilo kojeg od uzoraka i primjerice 4. dan, vidljivo je da je 4. dan vrijednost Pbr imala najveću vrijednost, neovisno o dodanom antioksidansu.

Dodatkom ekstrakta zelenog čaja u udjelu od 0.25 % na količinu ulja, vrijednost Pbr nakon 4 dana ulja iznosila je 9,81 (mmol O₂/kg). Moslavac i sur. (2011.) su u svom istraživanju oksidacijske stabilnosti visokooleinskog suncokretovog ulja utvrdili da ekstrakt zelenog čaja također utječe na stabilnost biljnih ulja. Iz ovog rezultata nam je vidljivo da ekstrakt zelenog čaja pokazuje određena antioksidacijska svojstva, međutim i dalje je ta vrijednost Pbr relativno visoka.

Ekstrakt rtanjskog čaja 0,25 % daje nam 4. dan vrijednost Pbr od 12,50 (mmol O₂/kg) te u ovom slučaju kod ulja sikavice nije pokazao nikakvo antioksidacijsko djelovanje s obzirom da je vrijednost Pbr veća nego kod kontrolnog uzorka.

Ekstrakt ružmarina, tip StabilEnhance 0,25 %, 4. dan testa nam daje vrijednost 6,71 (mmol O₂/kg) te je iz rezultata vidljivo da navedeni ekstrakt ima zadovoljavajuća antioksidacijska svojstva na uzorku ulja sikavice s obzirom da je vrijednost Pbr i dalje ispod granične vrijednosti od 7 (mmol O₂/kg) prema Pravilniku.

Ružmarinska kiselina dodana je u ulje u koncentracijama 0,10 % i 0,15 %. Kod koncentracije od 0,15 % vidljivo je bolje antioksidacijsko djelovanje s obzirom da je vrijednost Pbr 4. dan bila 9,49 (mmol O₂/kg), a kod koncentracije od 0,10 % Pbr je iznosio 10,18 (mmol O₂/kg). Vrijednosti Pbr pokazuju nam kako ružmarinska kiselina pokazuje na ulju sikavice određeno antioksidacijsko djelovanje, međutim i dalje su vrijednosti Pbr dosta visoke.

Kofeinska kiselina dodana u ulje dala nam je gotovo identične rezultate kao i kod dodatka ružmarinske kiseline. Korišteni su isti udjeli 0,10 % i 0,15 %, a jedina razlika je bila u tome što kod koncentracije 0,10 % vrijednost Pbr je iznosila 9,34 (mmol O₂/kg) te je bila manja nego kod udjela 0,15 % gdje je Pbr iznosio 10,58 (mmol O₂/kg).

Nadalje, dolazimo do jednog sintetskog antioksidansa i možemo figurativno reći „pobjednika“ među korištenim antioksidansima. Riječ je o terc-butilhidrokinonu (TBHQ) koji je dodan u koncentraciji 0,01 %. Vrijednost Pbr 4. dan je iznosila 3,92 (mmol O₂/kg) te je vidljivo izrazito antioksidacijsko djelovanje na ulje sikavice. Dakle postignuta je značajna zaštita ulja sikavice od oksidacijskog kvarenja.

α – tokoferol i mješavina tokoferola nisu pokazali antioksidacijsko djelovanje na ulje sikavice, tj. vrijednosti Pbr 4. dan testa imale su veće vrijednosti nego što je imao kontrolni uzorak i iznosile su 15,28 i 16,26 (mmol O₂/kg).

Ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka 0,25% pokazao je zanemarivo malo antioksidacijsko djelovanje u ulju sikavice te je vrijednost Pbr iznosila 12,26 (mmol O₂/kg) što je približno jednako kontrolnom uzorku.

Zadnji antioksidans koji je dodan u ulje sikavice bio je ekstrakt pogače grožđa sorte Frankovka u koncentraciji 0,25 % te također nije pokazao antioksidacijsko djelovanje, s obzirom da je vrijednost Pbr 4. dan testa iznosila 14,36 (mmol O₂/kg).

Na **Slici 25.** prikazan je utjecaj pojedinog dodanog antioksidansa na stabilizaciju ulja sikaice nakon 4 dana Oven testa pri temperaturi 63 °C. Vrijednosti Pbr za dodani antioksidans u ulje pokazuju razliku u efikasnosti njihovog djelovanja na oksidacijsku stabilnost ili održivost ulja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Nakon provedenog Oven testa može se zaključiti da hladno prešano ulje sikavice ima nisku oksidacijsku stabilnost zbog toga što sadrži veliki udio nezasićenih masnih kiselina od čega najviše linolne.
2. Kod provedbe testa tijekom 4 dana došlo je do postepenog porasta vrijednosti Pbr kod svih ispitivanih uzoraka ulja.
3. Oven test je pokazao da najbolje antioksidacijsko djelovanje na hladno prešano ulje sikavice ima sintetski antioksidans terc-butilhidrokinon (TBHQ) u udjelu 0,01 %.
4. Od prirodnih antioksidanasa najbolje antioksidacijsko djelovanje imao je ekstrakt ružmarina, tip StabilEnhance 0,25 %.
5. Najslabije djelovanje pokazali su α -tokoferol i mješavina tokoferola s vrijednostima Pbr od 15,28 i 16,26 (mmol O₂/kg). Oni ne pokazuju antioksidacijsko djelovanje u ulju sikavice.
6. Dodatkom ekstrakta koštice grožđa sorte Frankovka 0,25 % u ulje sikavice nakon 4 dana testa dobivena je podjednaka vrijednost Pbr kao kod kontrolnog uzorka. To znači da ovaj antioksidans ne utječe na stabilizaciju ovog ulja.
7. Dodatkom ekstrakta pogače koštice sorte Frankovka 0,25 % nije došlo do zaštite ulja sikavice od oksidacijskog djelovanja.
8. Ekstrakt zelenog čaja dodan u ulje 0,25 % pokazuje zaštitu ulja od oksidacije, ali slabije od ekstrakta ružmarina.
9. Ekstrakt rtanjskog čaja ne štiti ulje sikavice od oksidacijskog kvarenja.
10. Dodatkom ružmarinske i kofeinske kiseline postiže se podjednaka efikasnost zaštite ulja od oksidacije.

7. LITERATURA

Bahmani M; Shirzad H, Rafieian S i Rafieian-Kopaei M: Silybum marianum: Beyond Hepatoprotection. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine* 20(4):292-301, 2015

Bera D, Lahiri D, Nag A: *Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparasion with synthetic antioxidants. Journal of Food Engineering*, 2006.

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

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

Ergović Ravančić M: *Tehnologija ulja i masti - priručnik za vježbe*. Veleučilište u Požegi, Požega, 2017.

Fathi – Achachlouei B i Azadmard – Damirchi S: Milk Thistle Seed oil constituents from different varieties grown in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 86:643-649, 2009.

Grlić Lj: *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*. Biblioteka Natura, Rijeka, 2005.

Kuštrak D: *Farmakognozija fitofarmacija*. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb, 2005.

Luttrordt H, Luther M, Slavin M, Yin J, Parry J i Yu L: Fatty acid profile, thymoquinon content, oxidative stability and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. *Journal of Food Science and Technology LEB* 43:1409-1413, 2010.

Meddeb W, Rezig L, Abderrabba M, Lizard G, Mejri M: Tunisian Milk Thistle: An investigation oft he chemical composition and the characterization od its cold-pressed seed oils. *International Journal of Molecular Sciences* 18:2582, 2017.

Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Vilušić M, Benčić Đ i Dominković, O: Utjecaj ekstrakta zelenog čaja i ružmarina na oksidacijsku stabilnost biljnih ulja, *Glasnik zaštite bilja* 6/2011.

Moslavac T: *Tehnologija ulja i masti*, Interna skripta. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2013.

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

Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M: *Antioxidants in food*. WoodhedPublishing, USA, 2001.

Pravilnik o jestivim uljima i mastima NN 11/19., 2019.

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

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

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

Shahidi F: Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research* 44:158-163, 2000.

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

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

8. POPIS SLIKA

Slika 1. Dobivanje triacilglicerola	6
Slika 2. Prikaz fosfolipida.....	6
Slika 3. Prikaz zasićenih masnih kiselina	7
Slika 4. Strukturna formula oleinske kiseline.....	9
Slika 5. Strukturna formula linolne kiseline	9
Slika 6. Prikaz sikavice	12
Slika 7. Prikaz sjemenke sikavice.....	13
Slika 8. Dobivanje hladno prešanog ulja sikavice	15
Slika 9. Faze autooksidacije.....	18
Slika 10. Prikaz bočice vitamina E, prirodnog antioksidansa	20
Slika 11. Prikaz terc-butilhidrokinona (TBHQ), sintetski antioksidans.....	21
Slika 12. Priprema uzorka za određivanje peroksidnog broja	23
Slika 13. Sjemenke sikavice korištene za proizvodnju hladno prešanog ulja	25
Slika 14. Antioksidansi korišteni u istraživanju	26
Slika 15. Ekstrakt StabilEnhance® OSR.....	27
Slika 16. Ružmarinska kiselina.....	27
Slika 17. Kofeinska kiselina	27
Slika 18. TBHQ, (sintetski antioksidans).....	28
Slika 19. Mješavina tokoferola	29
Slika 20. Vitamin E (α –tokoferol)	29
Slika 21. Vaganje i dodavanje antioksidansa u čaše	33
Slika 22. Uzorci s dodanim antioksidansima	34
Slika 23. Sušionik zagrijan na 63 °C za provedbu Oven testa	34
Slika 24. Utjecaj dodatka antioksidansa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja sikavice nakon 4 dana Oven testa pri 63 °C.....	38

9. POPIS TABLICA

Tablica 1. Najzastupljenije zasićene masne kiseline	8
Tablica 2. Važnije mononezasićene masne kiseline	10
Tablica 3. Važnije polinezasićene masne kiseline	11
Tablica 4. Rezultati ispitivanja osnovnih parametara kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice	36
Tablica 5. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja sikavice sa ili bez dodatka antioksidansa izražena peroksidnim brojem tijekom 4 dana Oven testa na 63 °C.....	37