Utjecaj dodatka antioksidansa na održivost ulja sikavice

Tomljenović, Stjepana

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:109:796687

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Stjepana Tomljenović

UTJECAJ DODATKA ANTIOKSIDANSA NA ODRŽIVOST ULJA SIKAVICE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, ožujak 2021.

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na I. redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 30. listopada 2019.
Mentor: prof. dr. sc. Tihomir Moslavac
Pomoć pri izradi: Daniela Paulik, tehnički suradnik

UTJECAJ DODATKA ANTIOKSIDANSA NA ODRŽIVOST ULJA SIKAVICE

Stjepana Tomljenović

Sažetak: Sikavica (*Silybum marianum L.*) je dvogodišnja, zeljasta, krupna i razgranata biljka do 2 m visine. Sikavica je poznata po tvari silimarin koja povoljno djeluje na jetru, a nalazi se u sjemenkama. U ovom radu istraživana je održivost hladno prešanog ulja sikavice s dodatkom prirodnih antioksidanasa, umjetnog antioksidansa i sinergista, primjenom Schaal Oven testa pri 63 °C tijekom četiri dana. Od antioksidanasa korišteni su: ekstrakti ružmarina (tip StabilEnhance i tip OxyLess CS), α-tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt kadulje, eterično ulje (lavanda, slatki pelin, smilje, lovor, timijan i komorač), propil galat i sinergist limunska kiselina. Rezultati su pokazali da ekstrakt ružmarina (tip OxyLess CS 0,2 %) i ekstrakt ružmarina (tip OxyLess CS 0,2 %) sa sinergistom limunskom kiselinom (0,01 %) imaju najbolje antioksidacijsko djelovanje kod stabilizacije hladno prešanog ulja sikavice.

Ključne riječi: ulje sikavice, održivost ulja, oksidacijska stabilnost, antioksidansi, sinergisti

Rad sadrži: 58 stranica
27 slika
4 tablice
0 priloga
42 literaturne reference

Jezik izvornika: Hrvatski

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

1.	prof.dr.sc. *Vedran Slačanac*	predsjednik
2.	prof.dr.sc. *Tihomir Moslavac*	član mentor
3.	doc.dr.sc. *Antun Jozinović*	član
4.	prof.dr.sc. *Stela Jokić*	zamjena člana

Datum obrane: 8. ožujka 2021.

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-3100 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area:	Biotechnical sciences
Scientific field:	Food Technology
Course title:	Technoloy of Oils and Fats
Thesis subject	was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at it's session no. I in academic year 2019/2020 held on 30 October 2019.
Mentor:	Tihomir Moslavac, PhD, full prof.
Technical assistance:	Daniela Paulik, technical associate

Effect of Antioxidants on the Shelf Life of Milk Thistle Seed Oil

Stjepana Tomljenović

Summary: Milk thistle (*Silybum marianum L.*) is a biennial, herbaceous, tall and branched plant, which can grow up to 2 metres. It is known to contain silymarin, which is a substance that has a positive effect on the liver and it is found in the seeds of the plant. This is a research on the sustainability of milk thistle's cold pressed oil with the addition of natural antioxidants, artificial antioxidants and synergist. The method used for this research is the Schaal Oven test, which was applied for 4 days at 63°C. The antixodiants used were the rosemary extracts (StabilEnhance and Oxyless CS types), alpha tocopherol, mixed tocopherols, sage extract, essential oil (lavander, sweet wormwood, helichrysum, bay leaves, thyme), propyl gallate and a citric acid synergist. The results have shown that the rosemary extract of type Oxyless CS 0,2% and the rosemary extract of type Oxyless CS 0,2% with a citric acid synergist (0,02%) have the most prominent antioxidant effect on the cold pressed oil of milk thistle.

Key words: milk thistle oil, oil sustainability, oxidative stability, antioxidants, synergists

Thesis contains:	58	pages
	27	figures
	4	tables
	0	supplements
	42	references

Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Vedran Slačanac*, PhD, full prof.	chair person
2.	*Tihomir Moslavac*, PhD, full prof.	supervisor
3.	*Antun Jozinović*, PhD, assistant prof.	member
4.	*Stela Jokić*, PhD, full prof.	stand in

Defense date: March 8, 2021

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

Popis oznaka, kratica i simbola

SMK	slobodne masne kiseline
Pbr	peroksidni broj
COOH	karboksilna skupina
EPA	eikosapentaenska kiselina
DHA	dokosaheksaenska kiselina
IPA	ikosapentaenska kiselina
BHA	butilhidroksianisol
BHT	butilhidroksitoluen
BG	butil galat
OG	oktil galat
DG	dodecil galat
AB	anisidinski broj
A	apsorbancija
EtOH	etanol
UZV	ultrazvuk
NN	netopljive nečistoće
OPG	obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo
M	molarna masa
TBHQ	terc-butilhidrokinon
KI	kalijev jodid

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA 4
2.2. SIROVINE ZA PROIZVODNJU BILJNIH ULJA 9
2.2.1. Sikavica 12
2.2.2. Proizvodnja hladno prešanog ulja 14
2.2.3. Svojstva hladno prešanog ulja sikavice 17
2.3. KVARENJE ULJA I MASTI 20
2.3.1. Enzimsko i mikrobiološko kvarenje 20
2.3.2. Autooksidacija 21
2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA 22
2.4.1. Antioksidansi 22
2.4.2. Sinergisti 24
2.5. ODREĐIVANJE STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA 25
2.5.1. Senzorska analiza 25
2.5.2. Peroksidni broj 25
2.5.3. Anisidinski broj 26
2.5.4. Specifične apsorbancije 27
2.6. ODRŽIVOST BILJNIH ULJA 27
3. EKSPERIMENTALNI DIO 30
3.1. ZADATAK 31
3.2. MATERIJALI I METODE 31
3.2.1. Materijali 31
3.2.1.1. Hladno prešano ulje sikavice 31
3.2.1.2. Antioksidansi 33
3.2.2. Metode 36
3.2.2.1. Određivanje peroksidnog broja 36
3.2.2.2. Određivanje vlage u ulju 37
3.2.2.3. Određivanje slobodnih masnih kiselina 38
3.2.2.4. Određivanje netopljivih nečistoća u ulju 38
3.2.2.5. Priprema uzoraka s antioksidansima 40
3.2.2.6. Primjena Schaal Oven testa (Oven test) 42
4. REZULTATI 43
5. RASPRAVA 47
6. ZAKLJUČCI 51
7. LITERATURA 54

1. UVOD

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja i masti predstavlja vrijeme kroz koje se oni mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Oksidacijsko kvarenje ulja najčešći je tip kvarenja, a predstavlja proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masne kiseline. Poznavanje održivosti ulja važno je kako bi se unaprijed moglo odrediti vrijeme koje je potrebno da se ulje sačuva od jače izražene oksidacije te za određivanje roka upotrebe ulja. Brzina procesa autooksidacije ovisi o sastavu ulja, uvjetima čuvanja i karakteristikama prisutnih sastojaka. Produkti autooksidacije u malim količinama narušavaju senzorska svojstva ulja i daju mu neugodan miris i okus. U današnje vrijeme najviše se upotrebljavaju metode za određivanje održivosti biljnih ulja koje se temelje na ubrzanoj oksidaciji. Dodatkom antioksidansa može se poboljšati održivost biljnih ulja. Antioksidansi su tvari koje inhibiraju, usporavaju autooksidaciju ulja. Sikavica (lat. *Silybum marianum*) je dvogodišnja, zeljasta, krupna i razgranata biljka do 2 m visine. Sikavica je kao samonikla vrsta rasprostranjena u Dalmaciji i Hercegovini na suhim i sunčanim mjestima. Jedna je od najboljih biljaka za zaštitu i detoksikaciju jetre. Poznata je po kompleksu spojeva nazvanih silimarin koji povoljno djeluju na jetru. Silimarin se nalazi samo u plodu biljke. Sjemenke sikavice sadrže kvalitetno biljno ulje bogato nezasićenim masnim kiselinama, tokoferolima i sterolima. Najveći udio od masnih kiselina čini linolna kiselina (C 18:2), a zatim oleinska kiselina (C 18:1). Cilj istraživanja ovog rada bio je ispitati oksidacijsku stabilnost ili održivost hladno prešanog ulja sikavice dodatkom prirodnih antioksidanasa, umjetnog antioksidansa te sinergista. Od prirodnih antioksidanasa koristili su se: ekstrakt ružmarina, ekstrakt kadulje, α-tokoferol, mješavina tokoferola, eterično ulje lavande, eterično ulje slatkog pelina, eterično ulje smilja, eterično ulje lovora, eterično ulje timijana i eterično ulje komorača. Kao umjetni antioksidans korišten je propil galat (PG). Limunska kiselina korištena je kao sinergist. Primjenom standardnih metoda određeni su osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja sikavice: slobodne masne kiseline (SMK), peroksidni broj (Pbr), udio vlage te udio netopljivih nečistoća. Održivost ulja sikavice pratila se određivanjem vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) tijekom četiri dana pri konstantnoj temperaturi 63 °C Schaal Oven testom.

2. TEORIJSKI DIO

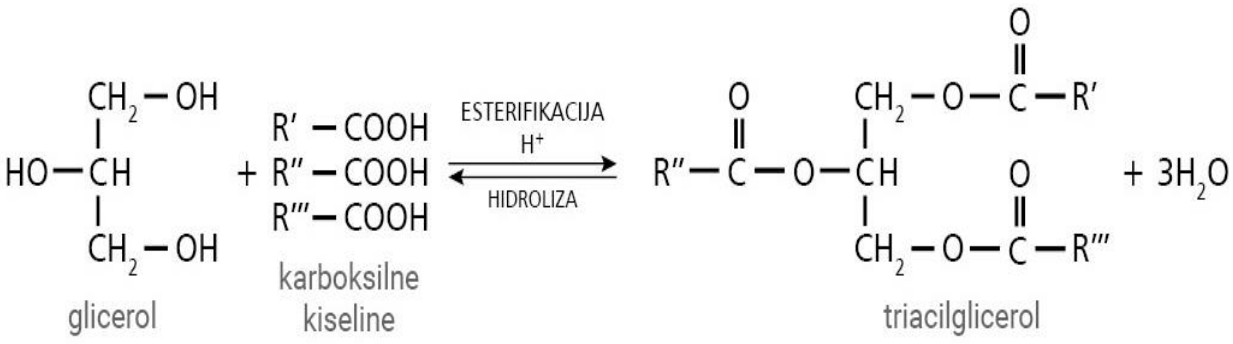
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Masti i ulja spojevi su biljnog i životinjskog podrijetla koji se prvenstveno sastoje od estera trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina. Smatraju se esterima triacilglicerola. Precizne razlike između pojmova mast i ulje nema. Mast se općenito odnosi na kruto stanje tvari, a ulje na tekuće (Mehlenbacher, 1960). Triacilgliceroli u organizmu služe kao energetska rezerva. Triacilgliceroli su nepolarni hidrofobni spojevi koji su netopljivi u vodi. Mješanjem vode i tricilglicerola dobiju se dvije faze jer triacilgliceroli imaju manju specifičnu gustoću od vode.

Lipidi se prema strukturi i sastavu biljnih ulja dijele na :

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

Jednostavni lipidi obuhvaćaju triacilglicerole masnih kiselina koje najčešće nalazimo u prirodi uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa te voskove koji su esteri viših masnih alkohola i viših masnih kiselina (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). Masne kiseline predstavljaju reaktivni dio u molekuli triglicerida, stoga imaju veliki utjecaj na svojstva molekule (Swern, 1972).



Slika 1 Reakcija nastajanja triacilglicerola

Složeni lipidi, uz glicerol i masne kiseline, sadrže i negliceridne sastojke. Udio negliceridnih sastojaka u prirodnim uljima kreće se od 1 do 2 %, izuzetak su pamukovo i sojino ulje čiji je udio i do 3,5 %. U složene lipide ubrajaju se fosfolipidi, glikolipidi, lipoproteini, aminolipidi, cerebrozidi, sulfolipidi i dr. Najčešći negliceridni sastojci u prirodnim uljima su liposolubilni vitamini (A, D, E i K), steroli, tokoferoli, fosfatidi, karoteni, pigmenti, voskovi, ugljikovodici, aldehidi, ketoni i tragovi metala. Liposolubilni vitamini i karoteni poželjni su negliceridni sastojci, za razliku od fosfatida, tragova metala i voskova koji se moraju ukloniti tijekom procesa rafinacije ulja jer smanjuju kvalitetu ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

Hidrolizom složenih i jednostavnih lipida nastaju derivati lipida. U derivate lipida ubrajaju se masne kiseline, vitamini A, D, E i K, ugljikovodici(karotenoidi) i alkoholi (steroli). Masne kiseline čine veliki udio ukupnog sastava molekule triacilglicerola (94-96 %). Svaka masna kiselina ima različita svojstva po kojima je karakteristična. Masne kiseline građene su od ugljikovodika s karakterističnom kiselinsko-karboksilnom skupinom COOH (Čorbo, 2008).

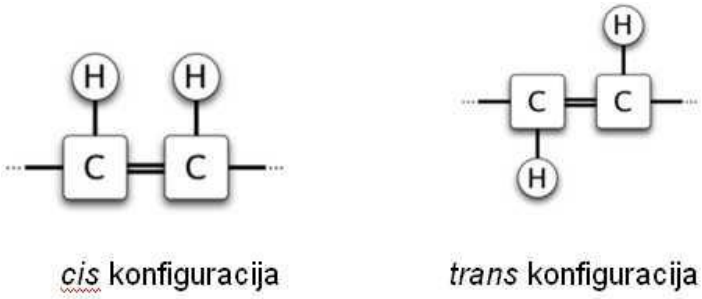
Podjela masnih kiselina prema broju ugljikovih atoma:

- masne kiseline kratkog lanca, do 8 ugljikovih atoma,
- masne kiseline srednjeg lanca, od 8 do 12 ugljikovih atoma i
- masne kiseline dugačkog lanca, više od 12 ugljikovih atoma.

Prema stupnju zasićenosti masne kiseline dijele se na:

- zasićene,
- nezasićene;
    - mononezasićene (jedna dvostruka veza) i
    - polinezasićene (od dvije do najviše šest dvostrukih veza).

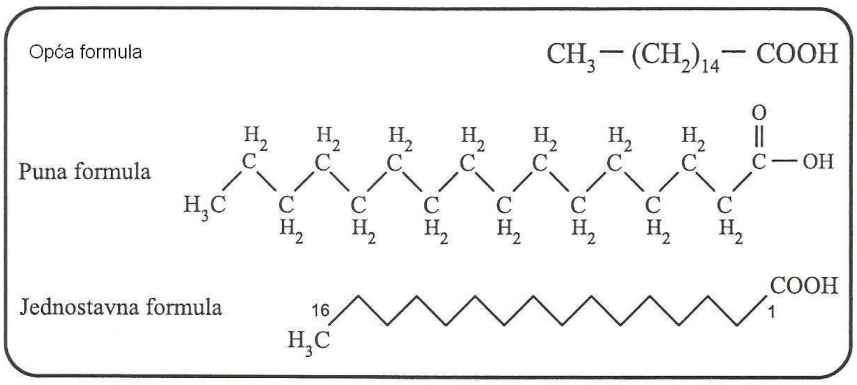
- prema prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko nezasićene veze;
    - cis- konfiguracija i
    - trans- konfiguracija.



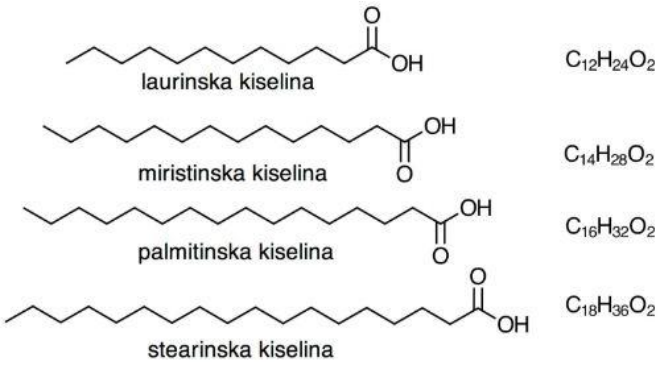
Slika 2 Cis i trans konfiguracija nezasićenih masnih kiselina (Web 1.)

Zasićene masne kiseline (ZMK)

Zasićene masne kiseline ne sadrže dvostruke veze jer svi ugljikovi atomi unutar lanca sadrže dva vodikova atoma te se uglavnom nalaze u mastima koje su pri sobnoj temperaturi u čvrstom agregatnom stanju (Swern, 1972). U biljnim i animalnim mastima najviše su rasprostranjene laurinska, miristinska, stearinska i palmitinska masna kiselina (Čorbo, 2008).



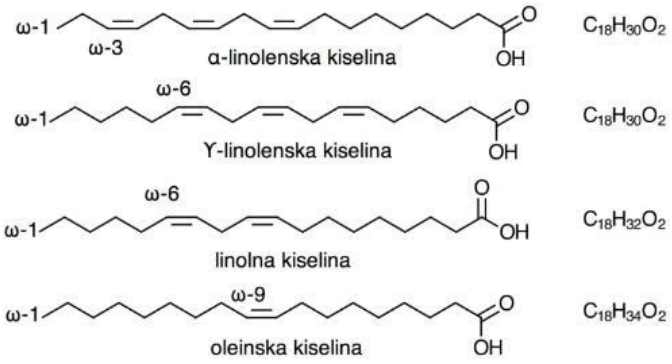
Slika 3 Shematski prikaz kemijske strukture palmitinske kiseline



Slika 4 Primjeri zasićenih masnih kiselina (Web 2.)

Nezasićene masne kiseline (NMK)

Jedno od glavnih karakteristika nezasićenih masnih kiselina je prisustvo jedne ili više dvostrukih veza. Masna kiselina s jednom dvostrukom vezom naziva se mononezasićenom masnom kiselinom, a ona s dvije ili više dvostrukih veza naziva se polinezasićenom masnom kiselinom (Čorbo, 2008).



Slika 5 Primjeri nezasićenih masnih kiselina (Web 2.)

Dvostruka veza može se nalaziti u različitim položajima u jednoj nezasićenoj masnoj kiselini, stoga je položaj dvostruke veze veoma važan za njihova svojstva. Lanac takvih kiselina ima početak i kraj. Početak predstavlja mjesto gdje je karboksilna skupina (-COOH), a kraj predstavlja mjesto gdje su tri atoma vodika vezana na atomu ugljika (CH3-). Omega (ω)

predstavlja kraj lanca te se prema položaju dvostruke veze od tog kraja razlikuju ω-3, ω-6 ili ω-9 masne kiseline.

Nezasićene masne kiseline mogu se pojaviti u cis i trans konfiguraciji. Reaktivnost nezasićene masne kiseline određena je položajem i brojem dvostrukih veza (Swern, 1972). S obzirom da lanci nezasićenih masnih kiselina cis konfiguracije na dvostrukoj vezi imaju zavoj ne posjeduju linearnu konformaciju te zbog toga ne mogu na odgovarajući način prileći ni na nezasićenu ni na zasićenu masnu kiselinu. Budući da nemaju mogućnost da se povežu s ostalim masnim kiselinama, nezasićene masne kiseline cis-konfiguracije snižavaju temperaturu tališta i prevladavaju u proizvodima koji su u tekućem agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Thornton Morrison i Neilson Boyd, 1979).

Trans oblici nezasićenih veza su stabilniji i slabije reaktivni u odnosu na cis oblike i mogu nastati tijekom termičke obrade ulja pri rafinaciji u fazi dezodorizacije. Budući da se kod jestivih nerafiniranih biljnih ulja ne primjenjuje postupak rafinacije, trans-masnih kiselina ne bi trebalo biti ni u tragovima (Selma Čorbo, 2008).

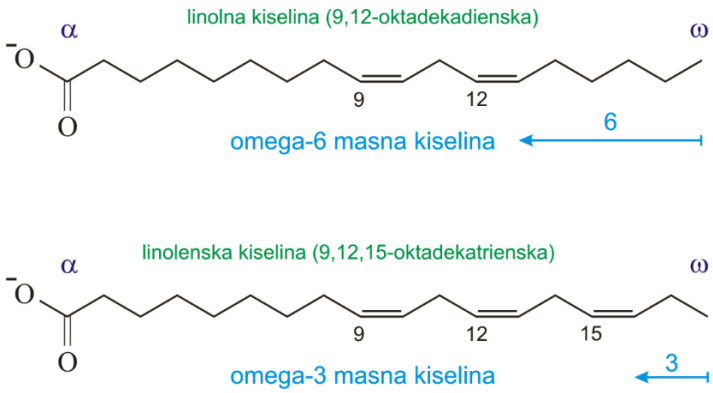
Esencijalne masne kiseline (EMK)

Esencijalne masne kiseline pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina sa 18, 20 i 22 ugljikova atoma i dvije do šest dvostrukih veza koje organizam ne može sintetizirati pa se moraju unositi prehranom. Sve dvostruke veze nalaze se u cis- konfiguraciji. Esencijalnim masnim kiselinama pripadaju arahidonska, linolna i linolenska masna kiselina.

Unos esencijalnih masnih kiselina nužan je zbog pravilne prehrane i metabolizma u organizmu, kao i metabolizma lipoproteina plazme i sinteze pojedinih polinezasićenih masnih kiselina dugačkog lanca (EPA i DHA kiseline) (Čorbo, 2008).

Podjela višestruko nezasićenih masnih kiselina na omega-3 i omega-6 skupinu (n-3 i n-6 skupina) posljedica je računanja dvostruke skupine, odnosno veze od metilnog kraja. Omega-3 skupini pripada linolenska kiselina i njezini derivati ikosapentaenska (C 20:5 ili IPA), eikosapentaenska (EPA) i dokosaheksaenska (C22:6 ili DHA) masna kiselina. Najviše ih ima u ulju riba sjevernih mora, te u pastrvama i ulju biljaka. U tijelu se arahidonska kiselina može dobiti iz linolne kiseline, a eikosapentaenska i dokosaheksaenska iz linolenske. Biljna ulja,

primjerice sojino, ulje morskih algi i kukuruzno ulje, izvori su linolne i linolenske kiseline; riblje ulje izvor je eikosapentaenske i dokosaheksaenske kiseline (Mandić, 2003).



Slika 6 Prikaz esencijalnih masnih kiselina (Web 3.)

2.2. SIROVINE ZA PROIZVODNJU BILJNIH ULJA

Za proizvodnju biljnih ulja koriste se sirovine koje su sastavni dio pojedinih sjemenki i plodova. Uljarice pripadaju najraširenijim kulturnim biljkama u svijetu, a najpoznatije su suncokret, soja i repica.

Glavne su sirovine za proizvodnju masti i ulja uljarice, čije sjemenke ili plod sadrži veću količinu ulja.

Sirovine moraju ispunjavati sljedeće uvjete:

- imati minimalan sadržaj ulja koji omogućava njihovo ekonomsko izdvajanje i
- biti pogodne za masovnu proizvodnju.

Podjela masti i ulja prema:

- podrijetlu sirovine (dobivena iz mesnatog dijela ploda) i
- podrijetlu sjemena (na osnovu dominantnih masnih kiselina).

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda:

- maslinovo ulje,
- palmino ulje,
- ulje avokada itd.

2. Ulja i masti iz sjemena ili ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:

- laurinske masti i ulja (kokosov orah, uljana palma i dr.),
- masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao maslac, shea-maslac i dr.),
- ulja palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje i dr.),
- ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, kukuruzne klice i dr.) i
- ulja linolenske kiseline (lan, soja, konoplja i dr.).

3. Ulja i masti prema podrijetlu biljke:

- ulja iz leguminoza (kikiriki, soja i dr.) i
- ulja krstašica (repica, slačica- senf) (Čorbo, 2008).

4. Podjela ulja prema tehnološkom postupku proizvodnje (NN 11/ 2019):

- rafinirana ulja,
- hladno prešana ulja i
- djevičanska ulja.

Rafinirana ulja su proizvodi dobiveni postupkom rafinacije jedne ili više vrsta sirovih ulja biljnog podrijetla, a na tržište se stavljaju pod nazivima:

- „ulje“, za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne vrste sirovog ulja biljnog podrijetla;
- „biljno ulje“, za ulje dobiveno postupkom miješanja i rafinacije više vrsta sirovih ulja biljnog podrijetla.

Rafinirana ulja moraju udovoljavati sljedećim zahtjevima:

- da su na 20 °C tekuća, bistra, karakteristične boje,
- da su neutralnog do karakterističnog mirisa i okusa, bez stranog i/ili užeglog mirisa i okusa,
- da ne sadrže više od 0,3 % slobodnih masnih kiselina (izraženih kao oleinska kiselina),
- da im peroksidni broj nije veći od 5 mmola O_2/kg ulja,
- da sadrže najviše 0,2 % vode i tvari hlapljivih na temperaturi od 105 °C i
- da sadrže najviše 0,05 % netopljivih nečistoća.

Hladno prešana ulja proizvodi su koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, samo mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, bez primjene topline. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja i to pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Djevičanska ulja proizvodi su koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, uz primjenu topline. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja i to pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Hladno prešana i djevičanska ulja moraju udovoljavati sljedećim zahtjevima:

- biti karakteristične boje,
- miris i okus moraju biti karakteristični za vrstu sjemena ili ploda, bez stranog i/ili užeglog mirisa i okusa,
- ne smiju sadržavati više od 2 % slobodnih masnih kiselina (izraženih kao oleinska kiselina),
- peroksidni broj nije veći od 7 mmola O_2/kg ulja,
- sadrže najviše 0,4 % vode i tvari hlapljivih na temperaturi od 105 °C,
- sadrže najviše 0,05 % netopljivih nečistoća i
- hladno prešana ulja ne smiju sadržavati više od 0,15 mg/kg stigmastadiena.

2.2.1. Sikavica

Sikavica (*Sylybum marianum (L.) Gartn.*) je jednogodišnja biljka roda *Siliybum* iz porodice *Asteraceae*. U prirodi je prisutna kao korov, ali i kao ljekovita biljka koja se koristi za zaštitu i regeneraciju jetre. Cijela biljka puna je bodlji koje je prije upotrebe potrebno ukloniti (Ahmad i sur., 2013). Rasprostranjena je u južnoj Europi i sjevernoj Africi. Samoniklo raste na području Sredozemlja. U Hrvatskoj se javlja samo na području uzduž jadranske obale kao ruderalna vrsta. U narodu je poznata pod imenom ošljebad, badelj, bijeli stričak i gospin trn. Rod *Silybum* u flori Hrvatske zastupljen je samo s jednom vrstom (Domac, 2002).

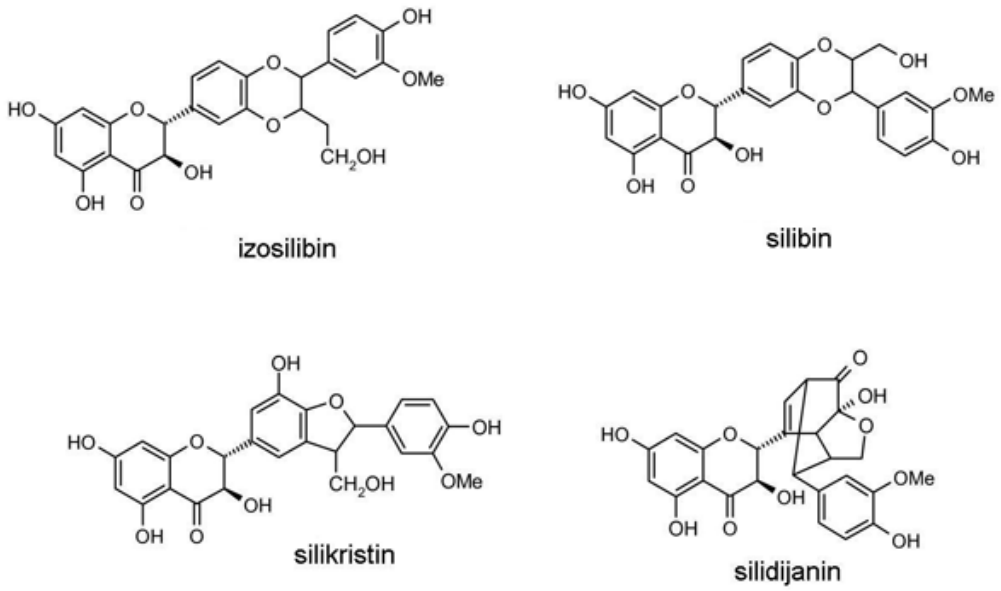


Slika 7 Izgled sikavice (Web 4.)

Glavni aktivni spojevi u sjemenkama sikavice su flavonolignani, poznatiji kao spoj silimarin koji se ekstrahira iz suhog perikarpa. Izuzev toga, u sastavu se još nalaze i flavonoidi; kvercetol i taksifolin. Udio silimarina u sjemenkama kreće se u rasponu od 1 do 3 % u suhoj tvari, a može dosegnuti i vrijednost do 4 % (Chiavari i sur., 1991).

Gašo-Sokač i sur. (2011) navode da je najkorisniji dio sikavice sjeme u kojem je aktivni sastojak silimarin prisutan u najvećoj koncentraciji. Silimarin je smjesa flavonolignana od kojih je glavni konstituent silibin, s malim količinama silidijanina, silikristina i izosilibina. Silibin čini 50-70 % silimarina te ima najveći stupanj biološke aktivnosti. Primjenjuje se u liječenju trovanja gljivama, hepatitisa i žutice te potiče obnavljanje stanica jetre. Sprječava peroksidaciju masti i oštećenje staničnih membrana. Silimarin potiče obnavljanje stanica jetre te se za liječenje koristi kao suhi standardizirani ekstrakt u obliku kapsula i tableta. Ljekovita svojstva pokazali

su i listovi sikavice te med sa sikavicom. Sjeme sikavice sadrži do 20 % ulja koje se uklanja prije izolacije silimarina te sadrži do 6 % silimarina. Ulje je bogato linolnom kiselinom, sterolima, esencijalnim fosfolipidima i vitaminom E. Hladno prešano ulje sikavice primjenu je pronašlo u proizvodnji funkcionalne hrane, prehrani i u kozmetičkoj industriji (Andrzejewska i sur., 2011.; Pospišil i sur., 2017).



Slika 8 Strukture izomera silimarina (Web 5.)

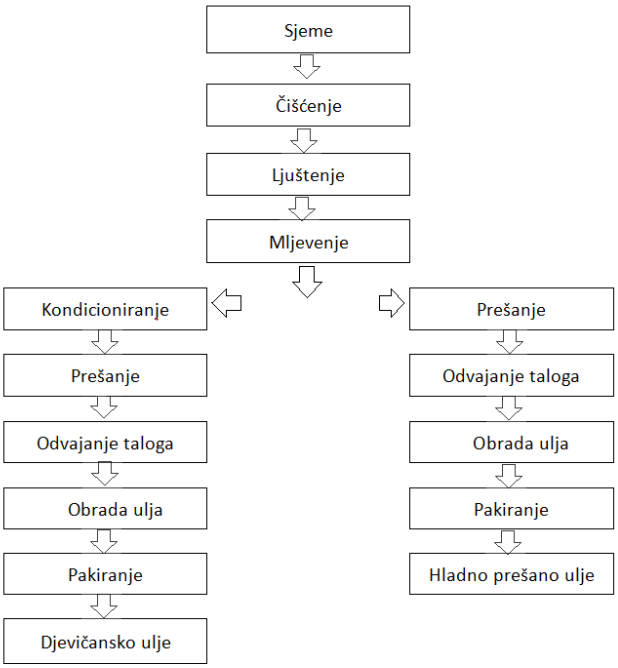
Kao izvor prirodnih antioksidanasa mogu se koristiti sjemenke i korijen sikavice jer su u odnosu na druge dijelove biljke bogatiji slobodnim radikalima. (Ahmad i sur., 2013).



Slika 9 Sjemenke sikavice (Web 6.)

2.2.2. Proizvodnja hladno prešanog ulja

Hladno prešana ulja biološki su vrijedan proizvod te se dobivaju prešanjem na temperaturi do 50 °C i konzumiraju direktno bez rafinacije. Može se provesti i postupak čišćenja, odnosno bistrenja i to pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.



Slika 10 Shema proizvodnje ulja hladnim i toplim prešanjem (Dimić, 2005).

Proces proizvodnje hladno prešanog ulja podijeljen je u dvije faze:

- priprema sirovine za izdvajanje ulja i
- izdvajanje ulja mehaničkim putem.

Priprema sirovine za preradu treba biti odrađena tako da se omogući lako izdvajanje ulja iz sirovine, a da biološke vrijednosti uljarice i hranjive tvari budu sačuvane. Obuhvaća tehnološke operacije čišćenja, ljuštenja i mljevenja. Postupak pripreme ovisi o vrsti sirovine pa može obuhvaćati samo čišćenje (Čorbo, 2008). Svrha čišćenja je odstranjivanje nečistoća koje mogu imati štetno djelovanje na uskladištene sjemenke, mogu onečistiti dobiveno ulje, pogaču ili sačmu, ali i prouzročiti štetu na uređaju za preradu sjemenki.

Ljuštenje sjemenki provodi se na način da se ljuska odvoji od jezgre. Budući da je jezgra bogata uljem i ostalim hranjivim sastojcima, ide na proces daljnje prerade. Prije operacije ljuštenja,

sjemenke se moraju sortirati po veličini jer se svaka frakcija ljušti posebno. Postupak ljuštenja provodi se zbog poboljšanja kvalitete ulja i pogače te porasta vrijednosti iskorištenja preše. Najčešće korištena metoda ljuštenja je mehanička metoda.

Mehanička metoda sastoji se od dviju operacija:

- razbijanja ljuske i oslobađanja jezgre udaranjem zrna o čvrstu podlogu i
- odvajanja ljuske od jezgre (Čorbo, 2008).

Postupak mljevenja treba se primijeniti bez obzira na sljedeći tehnološki proces. Mljeti se mogu čitave sjemenke s ljuskama ili samo njihove jezgre. Tehnološki proces mljevenja treba omogućiti razaranje stanica biljnog tkiva na način da se ulje lako vadi iz njih, ali da se samo ne cijedi. Kod ekstrakcije s otapalima mljevenje u obliku listića omogućuje bržu difuziju, lakše zagrijavanje, bolje prodiranje otapala u materijal, a prilikom prešanja lakše istjecanje ulja. Mlinovi na valjke najčešće se koriste za mljevenje sjemena i plodova uljarica (Rac, 1964).

Prešanje predstavlja mehaničku ekstrakciju materijala. Kako bi se izdvojila što veća količina ulja iz sirovine koristi se kombinacija prešanja i ekstrakcije s organskim otapalima.

Zahtjevi tehnološkog procesa prešanja:

- zadržavanje prirodnih svojstava,
- što manja količina nepoželjnih sastojaka i
- ulje dobre kvalitete i senzorskih svojstava.

Hidraulične preše prvu su primjenu pronašle prije čak 150 godina. To su najstariji uređaji za proizvodnju ulja i masti, a danas se koriste pretežno za preradu bundevinih koštica i masline. Mehanizam djelovanja hidrauličnih preša temelji se na Pascalovom zakonu koji kaže da se tlak u tekućinama širi na sve strane podjednako, tj. da se primjenom malih sila stvaraju visoki tlakovi.

Pužne preše ili kontinuirane preše zamijenile su hidraulične preše. Dijelovi pužne preše su: kućište, vodoravni puž na glavnoj osovini, koš oko puža, uređaj za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače. Rad pužnih preša temelji se na pužnici koja transportira sjemenke iz većeg, slobodnog, ali zatvorenog prostora u manji, čime se promjer kućišta smanjuje, a to dovodi do porasta tlaka i do cijeđenja ulja. Prije prešanja treba pripremiti sirovinu.

Postupak pripreme sirovine za prešanje:

- bubrenje bjelančevina eleoplazme zagrijavanjem samljevenog sjemenja te vlaženjem i sušenjem,
- pucanje staničnih stijenki i odvajanje ulja od bjelančevinastog dijela stanice (Rac, 1964).

Prilikom prešanja dolazi do rasta temperature zbog velikog trenja između materijala i preše. Budući da temperatura ulja kod proizvodnje hladno prešanih ulja ne smije prelaziti 50 °C, potrebno je provoditi prešanje pri nižem tlaku ili primijeniti preše posebne konstrukcije (Bockish, 1998).

Čišćenje sirovog ulja nakon prešanja provodi se zato što sirovo ulje sadrži vodu, sluzne tvari i razne netopljive nečistoće, koje mogu nepovoljno djelovati na senzorska svojstva i kvalitetu ulja.

Metode za odvajanje netopljivih nečistoća iz sirovog ulja:

- taloženje (sedimentacija),
- filtracija (pomoću filter preše) i
- centrifugalni separator.

Sedimentacija je najjednostavniji način odvajanja netopljivih nečistoća na način da se netopljive čestice, kao specifično teže od ulja, talože na dno rezervoara. Budući da je razlika u specifičnoj masi ulja i nečistoća mala, a viskozitet ulja visok, proces taloženja jako je spor. Taloženje može trajati od nekoliko dana do nekoliko mjeseci (Dimić, 2005).

Primjenom procesa filtracije sirovo ulje propušta se kroz filter na kojem zaostaju mehaničke nečistoće. Filtracija se može ponavljati više puta ovisno o potrebi. Filtracijsko sredstvo može biti tkanina od lana, vune, pamuka ili sintetičkih vlakana. Uređaji koji se koriste za filtriranje ulja su vibracijska sita, filter preše i centrifugalni separatori.

Prilikom odvajanja grubog taloga iz sirovog ulja koriste se vibracijska sita i centrifugalni separatori. Prednosti filtracije pomoću filter preša su njihova velika površina za filtriranje, jednostavna konstrukcija i rukovanje. Brzina filtracije je puno veća kod centrifugalnih separatora nego kod filtar preša jer centrifugalna sila pospješuje brzinu taloženja (Čorbo, 2008).

S obzirom na održivost, jestiva biljna ulja osjetljivi su proizvodi. Tijekom skladištenja važan je utjecaj kisika, temperature, svjetlosti i drugih čimbenika jer može doći do promjene kvalitete ulja. Funkcija ambalaže je zaštita upakiranog ulje od mogućih štetnih utjecaja, stoga je izbor ambalažnog materijala veoma važan.

Zahtjevi za izbor ambalažnog materijala:

- nemogućnost interakcije s proizvodom,
- potpuna zaštita proizvoda,
- mogućnost lakog otvaranja,
- pružanje svih potrebnih informacija,
- dobra fizikalno-mehanička svojstva,
- otpornost na vodenu paru, plinove, otopine i svjetlost i
- termokemijska otpornost kod prerade i punjenja.

Skladišne prostorije moraju biti suhe, prozračne, bez direktnog svjetla i toplinski izolirane jer se moraju održavati temperature od 3 do 5°C. Jestiva ulja se prije punjenja u malu ambalažu drže u rezervoarima koji se nalaze u zatvorenom prostoru zbog zaštite od nepovoljnih vanjskih čimbenika. Danas se često upotrebljavaju inox rezervoari. Pakiranje predstavlja tehnološki proces stavljanja proizvoda u ambalažu, osim toga, obuhvaća i operacije pripreme, odmjeravanja, zatvaranja, etiketiranja, obilježavanja skupnih pakiranja i pojedinačnih pakiranja i paletizacije. Najčešće korišteni ambalažni materijali za pakiranje jestivih ulja su staklo, polimerni i kombinirani materijali. Deklaracija proizvoda važna je za zaštitu sadržaja i pružanje informacija potrošaču. Sadrži sve potrebne informacije regulirane Pravilnikom.

2.2.3. Svojstva hladno prešanog ulja sikavice

Hladno prešano ulje sikavice ima visok udio ukupnih nezasićenih masnih kiselina (83 % ukupnih masnih kiselina). Linolna kiselina ima najveći udio od nezasićenih masnih kiselina, a zatim slijedi oleinska kiselina. Linolenska i eikosenska kiselina nalaze se u tragovima (Luttrodt i sur., 2010).

Tablica 1 Sastav masnih kiselina u ulju sikavice

Masne kiseline	Udio (%)					
	(Meddeb i sur., 2017)	**(Bahl i sur., 2015)**	**(Dabbour i sur., 2014)**	**(Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009)**	**(Khan i sur., 2007)**	**(El-Mallah i sur., 2003)**
Palmitinska kiselina (C16:0)	5,50 - 11,40	8,00 - 12,00	8,61	7,3 - 8,4	7,22	9,4
Stearinska kiselina (C18:0)	2,90 - 4,75	4,00 - 7,00	5,24	4,6 - 6,8	2	6,6
Oleinska kiselina (C18:1)	15,50 - 22,40	30 - 32	22,03	22,8 - 28,9	26,38	20,08
Linolna kiselina (C18:2)	60,30 - 57,00	45 - 49	56,79	49,7 - 56,6	64,4	53,3
Linolenska kiselina (C18:3)	-	<1 - 6	0,76	0,2 - 0,3	-	u tragovima
Arahidonska kiselina (C20:0)	1,80 - 2,90	0 - 4	2,88	2,9 - 4,3	-	3,8
Eikosenska kiselina(C20:1)	<0.2 - 0,85	-	0,76	0,8 - 0,9	-	0,5
Behenska kiselina (C22:0)	0,92 - 2,50	2,4	2,04	2,3 - 2,9	-	2,4
Lignocerna kiselina (C24:0)	0,55 - 0,92	-	0,58	0,6 - 0,8	-	0,7

Udio nezasićenih masnih kiselina ima određenu ulogu u oksidacijskoj stabilnosti finalnog ulja (oksidacijska stabilnost ulja niža je što je veći udio nezasićenih masnih kiselina). Udio polifenola i antioksidansa također utječe na oksidacijsku stabilnost. Polinezasićene masne kiseline poput linolne kiseline podložnije su oksidaciji od mononezasićenih masnih kiselina. Ulje je podložnije oksidaciji što je broj dvostrukih veza u masnim kiselinama veći (Khan i sur., 2007.; Dabbour i sur., 2014; Meddeb i sur., 2017).

Tablica 2 Udio zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina u ulju sikavice

Masne kiseline	**Količina u ulju sikavice (%)**		
	(Meddeb i sur., 2017.)	**(Dabbour i sur., 2014.)**	**(Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009.)**
SFA - zasićene masne kiseline	16,26 - 17,95	19,53	18,9 - 22, 8
MUFA - mononezasićene masne kiseline	16,23 - 22,41	22,92	23,7 - 29,7
PUFA - polinezasićene masne kiseline	57,00 - 60,31	57,55	49,9 - 53,9

Sastav masnih kiselina ulja sikavice bogat je nezasićenim masnim kiselinama poput suncokretovog i sojinog ulja. Ulje sikavice slično je repičinom ulju i lanenom ulju u kojima oleinska i linolna kisleina čine 70 – 85 %. Za razliku od uljane repice, ulje sikavice i lana sadrži više linolne nego oleinske kiseline (Fathi-Achachlouei i Azadmard-Damirchi, 2009).



Slika 11 Proces proizvodnje hladno prešanog ulja sikavice primjenom pužne preše

2.3. KVARENJE ULJA I MASTI

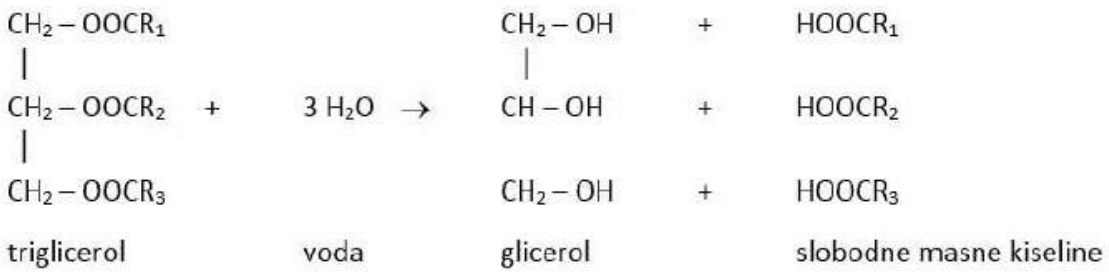
Masti i ulja imaju ograničeno vrijeme trajanja nakon kojeg podliježu nepoželjnim promjenama. Stupanj kvarenja masti i ulja ovisi o vrsti sirovine, kemijskom sastavu, uvjetima prerade i skladištenja. Dolazi do promjene organoleptičkih svojstava i prehrambene vrijednosti te gubitka vrijednih tvari kao što su vitamini, esencijalne masne kiseline, provitamini i drugi sastojci. Razgradni produkti koji nastaju kao posljedica kvarenja daju uljima i mastima neugodan miris i okus. Takve masnoće štetne su po zdravlje, stoga se ne koriste u prehrani, ali se upotrebljavaju u tehničke svrhe. Važno je da se od trenutka proizvodnje do potrošnje sačuvaju svojstva kvalitete jestivih ulja i masti.

Vrste kvarenja:

- Enzimsko i mikrobiološko kvarenje i
- Autooksidacija.

2.3.1. Enzimsko i mikrobiološko kvarenje

Hidrolitička razgradnja i β-keto oksidacija ubrajaju se u enzimske i mikrobiološke procese kvarenja ulja i masti. Enzimsko i mikrobiološko kvarenje javlja se u uvjetima koji su pogodni za njihov razvoj (voda, određena pH sredina i dr.). **Slika 12** pokazuje da djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisustvo vode dolazi do hidrolize triacilglicerola, uz oslobađanje jedne, dvije ili tri molekule masnih kiselina i glicerola, a posljedica je povećanje slobodnih masnih kiselina u ulju (povećava se kiselost ulja).



Slika 12 Hidroliza triacilglicerola

Optimalna temperatura za aktivnost lipaze je 45 °C, temperatura do 55 °C ubrzava proces, dok pri temperaturi iznad 80 °C i -20 °C dolazi do inaktivacije enzima. Ova vrsta kvarenja karakteristična je za ulja i masti u samoj sirovini, maslacu, margarinu, životinjskom masnom tkivu i u nekim mesnim i mliječnim proizvodima koji sadrže veći postotak vode. Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) u rafiniranim jestivim biljnim uljima i dozvoljen je sadržaj slobodnih masnih kiselina do 0,3 %, a kod životinjskih masti do 0,75 %. Prilikom rafinacije višak se mora odstraniti kako bi se spriječilo njihovo povećanje u uljima. Ketoni su produkti hidrolitičkog kvarenja koji masnoćama daju neugodan miris i okus – stran, kiseo i sapunski (Čorbo, 2008).

Mikrobiološko kvarenje karakteristično je za sve vrste masnoća i proizvode koji sadrže dosta masti. Masti i ulja koje u svom sastavu imaju masne kiseline s kraćom ili srednjom dužinom lanca podliježu β-oksidaciji. Gljivice roda *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis* uzrokuju ovu vrstu kvarenja (Čorbo, 2008). β-keto kiseline predstavljaju primarne produkte β-oksidacije, a metil ketoni čine sekundarne produkte. Mala količina metil ketona daje mastima neugodan miris po užeglosti, karakterističan za tu vrstu kvarenja. Moguće je nastajanje dvije masne kiseline kraćeg lanca iz β-kiselina u prisustvu vode. Sprječavanje β-oksidacije postiže se sterilizacijom, pasterizacijom, prilagodbom pH-sredine do 5 ili dodavanjem nekih aditiva (Lelas, 2008).

2.3.2. Autooksidacija

Djelovanje kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline masti dovodi do autooksidacije masti. Autooksidaciju ubrzavaju povišena temperatura i prooksidansi (svjetlost, tragovi metala i dr.), a usporavaju antioksidansi. Budući da se polinezasićene komponente oksidiraju puno brže u odnosu na mononezasićene ili zasićene komponente, smatraju se esencijalnim komponentama u procesu autooksidacije. Autooksidacija je lančana rekacija stvaranja slobodnih radikala u više faza (Swern, 1972; Čorbo, 2008).

U prvoj fazi stvaraju se slobodni radikali masnih kiselina (R.) djelovanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline masti. U drugoj fazi nastaju hidroperoksidi (ROOH) i slobodni radikali peroksida (ROO·) vezanjem O_2 na slobodne radikale masnih kiselina (R·). Hidroperoksidi su primarni produkti oksidacije koji se dalje razgrađuju djelovanjem

temperature na slobodne radikale (RO·, ROO· i dr.) i sekundarne produkte oksidacije (masne kiseline, alkoholi i dr.). Do treće faze dolazi reakcijom između slobodnih radikala, pri čemu nastaju polimeri koji su neaktivni i stabilni (Mehlenbacher, 1960).



Slika 13 Tijek autooksidacije

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje inhibiraju ili usporavaju oksidacijsko kvarenje te time produžuju održivost ulja. Takav način djelovanja dovodi do sprječavanja lančanih reakcija stvaranja slobodnih radikala (Knez, 2014). Koriste se za stabilizaciju ulja i masti, dodaju se u malim koncentracijama, ali dovoljnima za usporavanje procesa autooksidacije. Poznati su prirodni i sintetski antioksidansi. Antioksidans sprječava oksidaciju dok se ne potroši. Vremensko djelovanje antioksidansa ovisi o dodanoj koncentraciji, vrsti antioksidansa i uvjetima čuvanja.

Antioksidansi dodani u koncentraciji 0,005 do 0,2 % povećavaju održivost masti 3 do 6 puta, međutim, ukoliko je antioksidans dodan masti u kojoj je već nastupila oksidacija, oksidacija se ne može spriječiti. Djelovanje antioksidansa prikazano je dvjema reakcijama.

- Antioksidans (AH) daje vodik (H) koji se veže na slobodni radikal masne kiseline (R·) ili slobodni radikal peroksida (ROO·)

  AH +ROO· → ROOH +A· ili AH +R· → RH +A· i

- Slobodni radikal antioksidansa (A·) veže se na slobodni radikal (ROO· ili R·)

  A· + ROO· → ROOA ili A· +R· → RA·

Lako oslobađanje atoma vodika uvjet je da bi neki kemijski spoj bio antioksidans, zato je najveći broj antioksidansa fenolnog tipa jer ti spojevi posjeduju aktivan vodikov atom.

Prirodni antioksidansi

U posljednje vrijeme istražuju se različiti biljni materijali koji sadrže fenolne spojeve i pokazuju antioksidacijska svojstva u biljnim uljima. Najpoznatiji prirodni antioksidansi su tokoferoli. Razni ekstrakti začinskih biljaka (zeleni čaj, kadulja, ružmarin, origano, crni papar i dr.) upotrebljavaju se za zaštitu biljnih ulja od oksidacijskog kvarenja (Moslavac i sur., 2014).

Konopljino ulje zaštićeno je od oksidacijskog kvarenja dodatkom mješavine tokoferola u koncentraciji 0,05 %, dok pri koncentraciji 0,15 % nema zaštite (Tokić, 2019).

Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi jeftiniji su od prirodnih, ali je opće poznato da prirodni antioksidansi imaju jače, učinkovitije i zdravstveno sigurnije djelovanje u odnosu na sintetske (Moslavac i sur., 2009). Najpoznatiji sintetski antioksidansi su butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT), propil galat (PG), butil galat (BG), oktil galat (OG) i dodecil galat (DG). Maksimalno dozvoljena koncentracija za BHA iznosi 0,02 %, a za ostale antioksidanse 0,01 % (Čorbo, 2008).



Slika 14 Prirodni antioksidansi i umjetni antioksidans PG

Dodatkom terc-butilhidrokinona (TBHQ) u koncentraciji 0,01 % postignuta je najbolja zaštita od oksidacijskog kvarenja u hladno prešanom ulju sikavice (Furundžija, 2020).

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji produžuju djelovanje antioksidansa, dodani zajedno s nekim antioksidansom, ali nemaju antioksidacijsko djelovanje. Najčešće korišteni sinergisti su: limunska kiselina, askorbinska kiselina, octena kiselina, lecitin, askorbilpalmitat i monoizopropilcitrat. Uz antioksidans dodaje se 0,01 do 0,02 % sinergista. Ispitivanjima se

mora utvrditi odgovaranje sinergista pojedinom antioksidansu jer svaki sinergist ne odgovara svakom antioksidansu.

Načini djelovanja sinergista

Sinergisti vežu tragove metala, inaktiviraju ih i sprječavaju prooksidacijsko djelovanje. Antioksidansu daju vodikov atom i tako ga regeneriraju te produžuju vrijeme trajanja. Sinergist se veže s radikalom antioksidansa i tako sprječava djelovanje na razgradnju peroksida. (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

2.5. ODREĐIVANJE STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA

Kvaliteta biljnih ulja, upotreba u prehrani i vremenski period skladištenja određuje se stupnjem oksidacije. Primjenjuje se više metoda za praćenje oksidacijskih promjena jer nijedna ne obuhvaća sve produkte razgradnje.

Metode određivanja stupnja oksidacije ulja:

- senzorska ispitivanja,
- peroksidni broj,
- anisidinski broj i
- specifične apsorbancije.

2.5.1. Senzorska analiza

Temelji se na određivanju neprijatnog, užeglog mirisa i okusa ulja i masti zbog prisustva sekundarnih produkata oksidacije. Važna je za ispitivanje kvalitete ulja, iako je subjektivna i u skladu s tim nedovoljna za konačnu ocjenu pojedinog proizvoda.

2.5.2. Peroksidni broj

Metoda određivanja peroksidnog broja (Pbr) pripada u grupu najstarijih i najčešćih metoda za određivanje primarnih produkata oksidacije. Peroksidni broj predstavlja indikator svježine,

odnosno užeglosti neke masti ili ulja. Najčešće korištena jodometrijska metoda je Lea i Wheeler metoda. Određuje se količina joda kojeg oslobode peroksidi u ulju iz kalijevog jodida (Gunstone, 2004). Peroksidni broj kod rafiniranih ulja ne smije biti veći od 5 mmola O_2/kg ulja, a kod hladno prešanih i djevičanskih ulja ne smije biti veći od 7 mmola O_2/kg ulja (Pravilnik, NN 11/19).



Slika 15 Metoda određivanja peroksidnog broja

2.5.3. Anisidinski broj

Direktno određivanje količine nehlapljivih karbonilnih spojeva koji predstavljaju sekundarne produkte oksidacije ulja (aldehidi) omogućuje anisidinski broj (AB). Nehlapljivi karbonilni spojevi negativno utječu na održivost ulja i senzorska svojstva. Ulje ima slabiju održivost što je veća vrijednost anisidinskog broja. Biljno ulje dobre kvalitete treba imati vrijednost anisidinskog broja manju od 10, iako nema ograničenja u zakonskom propisu. Određivanje anisidinskog broja temelji se na reakciji p-anisidina s višim nezasićenim aldehidima (2,4-dienal i 2-enal) u kiselom mediju (octenoj kiselini), pri čemu nastaju Schiffove baze (Moslavac i sur., 2010).

2.5.4. Specifične apsorbancije

Primarni produkti oksidacije (konjugirani dieni, konjugirani hidroperoksidi) imaju maksimalnu apsorbanciju na 232 nm, a sekundarni produkti oksidacije (aldehidi, ketoni) na 270 nm. Ulja su više oksidirana što su vrijednosti apsorbancije na spomenutim valnim duljinama veće. R-vrijednost predstavlja odnos navedenih vrijednosti apsorbancija i važan je za procjenu kvalitete nerafiniranog biljnog ulja (Oštrić- Matijašević i Turkulov, 1980).

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

2.6. ODRŽIVOST BILJNIH ULJA

Održivost ili oksidacijska stabilnost ulja je vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od autooksidacije. Jako je važno poznavanje održivosti kako bi se unaprijed odredilo vrijeme tijekom kojeg se proizvodi mogu sačuvati bez promjena kvalitete. Budući da su autooksidacijske promjene pri sobnoj temperaturi spore, za određivanje održivosti koriste se metode ubrzanog kvarenja. Utjecajem određenih prooksidanasa, kao što je toplina, postiže se ubrzano kvarenje (Dimić, 2005; Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

Najpoznatije metode za određivanje održivosti su: Schaal Oven test, AOM test (Swift test), test održivosti na 98 °C i Rancimat test.

Schaal Oven test ili Oven test

Schaal Oven test pripada u grupu najjednostavnijih i najprimjenjivanijih metoda za određivanje održivosti jestivih biljnih ulja. Uzorci biljnih ulja zagrijavaju se u termostatu pri temperaturi od 63 °C pri čemu se prate senzorske promjene ulja koje su nastale oksidacijskim kvarenjem u vremenskim razmacima (satima, danima). Osim senzorskih promjena, prati se i promjena vrijednosti peroksidnog broja. Primjenom Oven testa, rezultat oksidacijske aktivnosti ispitivanog svježe proizvedenog hladno prešanog ulja izražen je kao vrijednost peroksidnog broja tijekom 4 dana. Za procjenu stvarne održivosti biljnih ulja rezultati Oven testa daju najprihvatljivije točan podatak. Istraživanjima je dokazano da vrijednost jednog dana održivosti ulja koje je ispitano Oven testom odgovara stvarnoj održivosti ulja pri sobnoj temperaturi oko 20 °C od 6 do 12 dana (Čorbo, 2008; Moslavac i sur., 2014).

AOM test (Swift test)

Uzorak ulja se podvrgava zagrijavanju u Swift uređaju uz konstantan dotok zraka pri temperaturi 97,8 °C. Peroksidni broj određuje se u pravilnim vremenskim razmacima, kao i određivanje vremena koje je potrebno da se postigne granična vrijednost za Pbr (najčešće 5 mmol O_2/kg). Budući da je metoda standardizirana i reproducibilna, smatra se da 1 sat održivosti u uvjetima Swift testa odgovara oko 20 sati održivosti pri sobnoj temperaturi (Dimić, 2005).

Test održivosti pri 98 °C

Uzorci se zagrijavaju u sušioniku na 98 °C određeno vrijeme. Istraživanja ukazuju na dobru povezanost rezultata dobivenih tom metodom, Swift testom i Oven testom. Rezultati dobiveni ovim testom daju nam približni podatak za procjenu stvarne održivosti ispitivanog uzorka. Dokazano je da jedan sat testa održivosti na 98 °C odgovara 10 do 15 dana čuvanja uzorka pri sobnoj temperaturi (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Moslavac i sur., 2020).

Moslavac i sur. (2020) ispitivali su oksidacijsku stabilnost masti jazavca primjenom navedenog testa te su utvrdili da je dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (tip OxyLess CS) postignuta bolja zaštita u odnosu na sintetski antioksidans propil galat (PG).

Rancimat test

Rancimat test temelji se na ubrzanom kvarenju biljnih ulja na povišenim temperaturama i konstantnom dotoku zraka odgovarajuće brzine protoka u uzorak ulja. Tijekom autooksidacije ulja na kraju indukcijskog perioda nastaju veće količine isparljivih kiselina, a mravlja kiselina čini najveći udio. U isto vrijeme u manjim količinama stvaraju se octena kiselina, propionska kiselina i druge. Indukcijski period predstavlja broj sati koji je potreban da analizirani uzorak ulja dosegne peroksidni broj (Pbr) u vrijednosti od 5 mmol O_2/kg. Indukcijski period oksidacije ulja određuje se na temelju količine izdvojenih kratko lančanih hlapljivih organskih kiselina koje su uvedene u demineraliziranu vodu i mjerenjem porasta vodljivosti, na indirektan način prati se tijek oksidacijskog kvarenja ulja. Na otpornost ispitivanog ulja prema oksidaciji pokazuje dobivena vrijednost indukcijskog perioda (vrijeme u satima). Održivost ulja veća je što je vrijednost indukcijskog perioda veća (Čorbo, 2008; Moslavac i sur., 2010).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati održivost hladno prešanog ulja sikavice dodatkom 12 vrsta različitih antioksidanasa primjenom Schaal Oven testa pri 63 °C. Ukupno je bilo četrnaest uzoraka. Kontrolni uzorak bio je bez dodatka antioksidansa, a ostali su sadržavali pojedinačni antioksidans u koncentracijama 0,1, 0,2 i 0,01 %. Korišteno je jedanaest prirodnih antioksidanasa, jedna kombinacija prirodnog antioksidansa i sinergista te jedan umjetni antioksidans. Cilj je bio istražiti koji je najpogodniji antioksidans za održivost hladno prešanog ulja sikavice praćenjem promjena vrijednosti peroksidnog broja u trajanju od četiri dana. Prirodni antioksidansi koji su korišteni tijekom ispitivanja su: ekstrakti ružmarina (tip Oxy'Less CS i tip StabilEnhance), ekstrakt kadulje (65 % EtOH, UZV), α-tokoferol, mješavina tokoferola, eterična ulja (lavande, slatkog pelina, smilja, lovora, timijana i komorača). Kao sinergist korištena je limunska kiselina, a od umjetnih antioksidanasa propil galat (PG). Prije ispitivanja održivosti ulja sikavice određeni su parametri kvalitete ulja (peroksidni broj, slobodne masne kiseline, udio netopljivih nečistoća i udio vlage) primjenom standardnih metoda.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Hladno prešano ulje sikavice

Sirovina koja je korištena u proizvodnji hladno prešanog ulja je očišćena, osušena i neoljuštena sjemenka sikavice podrijetlom iz OPG-a Vučemilović.

Očišćena, osušena, neoljuštena i nesamljevena sjemenka sikavice prešana je laboratorijskom kontinuiranom pužnom prešom kapaciteta prerade uljarica 20 kg/h i snage elektromotora 1,5 kW. Produkti prešanja su sirovo ulje, uljni talog i pogača. Sirovo ulje sikavice raspodijeljeno je u staklenke nakon čega se taložilo u vremenskom periodu od 14 dana u tamnom prostoru na sobnoj temperaturi. Nakon toga provedena je vakuum filtracija zbog uklanjanja krutih čestica iz sirovog ulja sikavice.

Filtrirano hladno prešano ulje sikavice čuvano je na 4 °C u hladnjaku do ispitivanja osnovnih parametara kvalitete ulja i provedbe testa održivosti uz dodatak antioksidanasa.



Slika 16 Prešanje laboratorijskom pužnom prešom



Slika 17 Prešanje i izlaz sirovog ulja



Slika 18 Filtrirano hladno prešano ulje sikavice

3.2.1.2. Antioksidansi

Za ispitivanje održivosti hladno prešanog ulja sikavice korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi.

Prirodni antioksidansi i njihov udio:

- ekstrakt ružmarina (tip Oxy´Less® CS) 0,2 %,
- ekstrakt ružmarina (tip StabilEnhance) 0,2 %,
- ekstrakt ružmarina (tip StabilEnhance) 0,2 % i sinergist limunska kiselina 0,01 %,
- ekstrakt kadulje (65 % EtOH, UZV) 0,2 %,
- α-tokoferol 0,1 %,
- mješavina tokoferola 0,1 %,
- eterično ulje lavande 0,1 %,
- eterično ulje slatkog pelina 0,1 %,
- eterično ulje smilja 0,1 %,
- eterično ulje lovora 0,1 %,

- eterično ulje timijana 0,1 % i
- eterično ulje komorača 0,1 %.

Sintetski antioksidans i njegov udio:

- Propil galat (PG) 0,01 %

Ekstrakt ružmarina (Oxy´Less® CS)

Ovaj antioksidans proizveden je u Francuskoj, u tvornici NATUREX. Dobiven je od listova ružmarina *Romarinus officinalis L.* te je praškast. Zaštitni faktor (PF) veći je od 12, a udio karnosolne kiseline je od 18 do 22 % (Moslavac i sur., 2017).

Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance)

Ekstrakt ružmarina dobiven iz lišća biljke *Romarinus officinalis* L. Proizveden je u Francuskoj u tvornici Naturex. Navedeni ekstrakt ima min. 5 % karnosolne kiseline. Predstavlja noviji proizvod koji je dobra zamjena sintetskim antioksidansima (Moslavac i sur., 2011).

Ekstrakt kadulje

U laboratorijskom mlinu usitnjeni su osušeni listovi kadulje. Poslije usitnjavanja slijedi postupak pripremanja tinkture. Tinktura je pripremljena u omjeru 1:10 (10 g usitnjenog materijala sa 100 mL 65 % etanola). Tinktura se čuva 96 sati na sobnoj temperaturi u tamnom prostoru. Za pripremu ekstrakta koristi se ultrazvuk frekvencije 37 Hz u trajanju od 60 minuta na 30 °C. Za uklanjanje grubih čestica primjenjuje se postupak filtracije. Dobiveni ekstrakt koncentrira se na rotacijskom vakuumskom uparivaču na 15 °C do volumena od 10 mL. Skladišti se u tamnim bočicama pri sobnoj temperaturi na mračnom mjestu.

α-tokoferol

Prirodni vitamin E i stabilizator ulja koji je proizvela tvrtka KEMIG d.o.o. u Hrvatskoj.

Mješavina tokoferola

Sadrži 0-15 % α-tokoferola, manje od 5 % β-tokoferola, 55-75 % γ-tokoferola i 20-30 % δ-tokoferola. Minimalni udio tokoferola iznosi 95 %.

Eterično ulje lavande

Postupkom destilacije cvijeta lavande dobije se eterično ulje. Zbog fenolnog sastava ima antioksidacijsko djelovanje. Glavni sastojci su linalilacetat (esteri) i linalol (alkoholi).

Eterično ulje slatkog pelina

Slatki pelin je biljka karakterističnog izgleda jer ima lišće koje podsjeća na paprat, dok mirisom podsjeća na kamfor. Glavna aktivna komponenta slatkog pelina je artemisinin.

Eterično ulje smilja

Dobiveno je destilacijom zlatnih cvjetova koji nikada ne venu. U sastavu ima estere i alkohole koji imaju antioksidacijsku aktivnost.

Eterično ulje lovora

Eterično ulje lovora ekstrahira se parnom destilacijom svježih listova lovora čiji je naziv *Laurus Nobilis*. Ulje je bogato oksidima (1,8-cineol) i monoterpenolima (15 % linalola i 5 % α-terpineola).

Eterično ulje timijana

Timijan je mala, jedva zamjetna biljka, a intenzivna mirisa. Najpoznatija vrsta timijana je *Thymus vulgaris*. Sadrži niz ljekovitih spojeva kao što su glikozidi fenolnih spojeva, flavonoidi i ružmarinska kiselina.

Eterično ulje komorača

Komorač naraste do dva metra, ima perjaste listove, a cvjetovi su zlatnožute boje. Eterično ulje komorača proizvodi se parnom destilacijom sjemenki. Glavni sastojci eteričnog ulja komorača su: 80 % trans-anetol, 4,5 % metil-kavikol, 6 % limonen, 2 % fenkone, 1 % anisaldehid.

Limunska kiselina - sinergist

Limunska kiselina monohidrat ($C_6H_8O_7$) je bijela kristalna tvar kisela okusa, dobro topljiva u vodi.

Propil galat (PG)

Propil galat je sintetski antioksidans koji je propilni ester galne kiseline, a ona je prirodni biljni fenolni spoj.



Slika 19 Upotrijebljeni antioksidansi

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidni broj (Pbr) je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja. Za ispitivanje primarnih produkata oksidacije ulja (hidroperoksidi i peroksidi) najčešće se koristi metoda određivanja peroksidnog broja. Standardna metoda za određivanje peroksidnog broja je jodometrijska metoda. Osnova metode je sposobnost peroksida da oslobode jod iz otopine kalijeva jodida, a koji se zatim određuje titracijom s otopinom natrij tiosulfata. Peroksidni broj predstavlja volumen 0,002 M otopine natrij tiosulfata koji je potreban za redukciju one količine joda koju oslobodi 1 g ulja iz kalij jodida.

U smjesi octene kiseline i kloroforma otopljen je uzorak ulja, poslije toga dodan je kalijev jodid (KI). Uzorak se miješa rukom jednu minutu, zatim se razrijedi sa 20 mL prethodno prokuhane i ohlađene destilirane vode. Nakon toga dodaje se 0,5 mL otopine škroba i titrira se s 0,01 M otopinom $Na_2S_20_3$. Slijepa proba provodi se bez ulja na isti način.

Formula izračunavanja peroksidnog broja:

$$Pbr\ (mmol\ O_2/\ kg) = (V_2 - V_1)\ *5\ /\ m$$

V_2-volumen otopine $Na_2S_2O_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka ulja (mL);

V_1-volumen otopine $Na_2S_2O_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepe probe (mL);

m- masa uzorka ulja (g)



Slika 20 Aparatura i reagensi potrebni za određivanje peroksidnog broja

3.2.2.2. Određivanje vlage u ulju

Hidrolitičke promjene nastaju zbog prisutnosti vlage u uljima što dovodi do porasta slobodnih masnih kiselina, a samim time i povećanja kiselosti čime se narušava kvaliteta ulja. Veća količina vlage može biti razlogom zamućenja ulja.

U osušenu, ohlađenu u eksikatoru i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem izvaže se uzorak. U zagrijan sušionik na 103 °C stavi se posudica s podignutim poklopcem. Nakon 120 minuta sušenja posudica sa zatvorenim poklopcem stavlja se u eksikator na hlađenje do sobne temperature. Nakon hlađenja slijedi vaganje uzorka. Sušenje, hlađenje i vaganje se ponavlja (uz dosušivanje od 30 minuta) sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja ne bude manji od 0,002 g.

Formula izračunavanja udjela vlage u ulju:

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

m_0 – masa staklene posudice (g);

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

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

3.2.2.3. Određivanje slobodnih masnih kiselina

Posljedica hidrolize triacilglicerola u prisustvu lipolitičkih enzima i vode je kiselost jestivih biljnih ulja koja je izražena kao udio slobodnih masnih kiselina (SMK). Nastale slobodne masne kiseline određuju se standardnom metodom (ISO 660: 1996) temeljene na principu titracije s otopinom natrij hidroksida (NaOH).

Formula za izračunavanje udjela SMK izraženih kao oleinska kiselina:

SMK (% oleinske kiseline) = V·c·M / 10·m

V= volumen utrošene otopine natrij hidroksida za titraciju uzorka (mL),

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

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

m= masa ispitivanog uzorka ulja (g).

U prethodno izvagani uzorak doda se neutralna smjesa etanola i etera koja se promućka. Nakon toga, doda se nekoliko kapi fenolftaleina i provede se postupak titracije uzorka s 0,1 M otopinom NaOH do promjene boje.

3.2.2.4. Određivanje netopljivih nečistoća u ulju

Netopljive nečistoće svojstvene su sirovim uljima i njihova je količina ograničena odgovarajućim standardima za pojedinu vrstu ulja. Mehaničke nečistoće poput mineralnih tvari ili organskih sastojaka (dijelovi biljke uljarice) čine netopljive nečistoće u ulju. Osim mehaničkih nečistoća, u ulju se mogu naći i razni ugljikohidrati, smole, tvari s dušikom, oksidirane masne kiseline, laktoni masnih kiselina, hidroksi masne kiseline i njihovi gliceridi.

Uzorak ulja izvagan je u tikvicu te je dodano organsko otapalo petroleter. Zatvorena i dobro promućkana tikvica ostavi se da stoji na 20 °C u vremenskom trajanju od 20 do 30 minuta. Nakon toga, primijenjena je vakuum filtracija kroz stakleni lijevak sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istom vrstom otapala. Na filteru je zaostao netopljivi talog koji je sušen do konstantne mase, ohlađen i izvagan.

Formula za izračunavanje udjela netopljivih nečistoća u ulju:

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

m_0 – masa uzorka (g);

m_1 – masa osušenog lijevka (g);

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



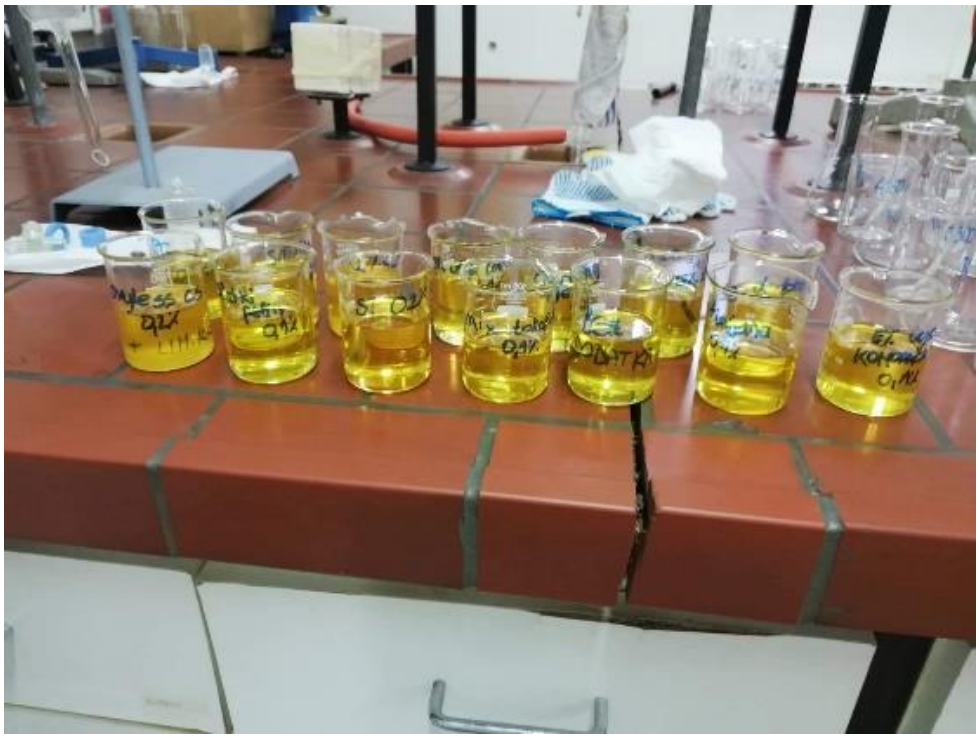
Slika 21 Određivanje netopljivih nečistoća u ulju



Slika 22 Primjena vakuum filtracije

3.2.2.5. Priprema uzoraka s antioksidansima

Unaprijed određena količina antioksidansa dodana je u čašu od 100 mL. Nakon toga dodano je ulje sikavice. Hladno prešano ulje sikavice bez antioksidansa je kontrolni uzorak. Na temperaturi od 70 do 80 °C zagrijani su pripremljeni uzorci (**Slika 24**), uz miješanje ta temperatura održavana je 30 minuta. Tako pripremljeni uzorci stavljeni su na temperaturu 63 °C u sušionik s ventilacijom. Primjenom Schaal Oven testa praćena je održivost uzoraka hladno prešanog ulja sikavice tijekom 4 dana.



Slika 23 Pripremljeni uzorci za ispitivanje održivosti ulja



Slika 24 Zagrijavanje uzoraka ulja s dodanim antioksidansima

3.2.2.6. Primjena Schaal Oven testa (Oven test)

Primjenom ovog testa održivosti uzorci ulja (**Slika 15**) sa i bez dodatka pojedinog antioksidansa zagrijavaju se u sušioniku pri temperaturi 63 °C (**Slika 25**) te se prati promjena vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) ili senzorske promjene nastale oksidacijskim kvarenjem ulja. Svakih 24 sata provodi se uzorkovanje ulja.

Rezultat za održivost ispitivanih uzoraka ulja prikazan je kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O_2/kg) tijekom četiri dana.



Slika 25 Pripremljeni uzorci u sušioniku za početak Oven testa



Slika 26 Primjena sušionika za provedbu Schaal Oven testa pri 63 °C

4. REZULTATI

U **tablici 3** prikazane su početne kemijske karakteristike, odnosno parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice.

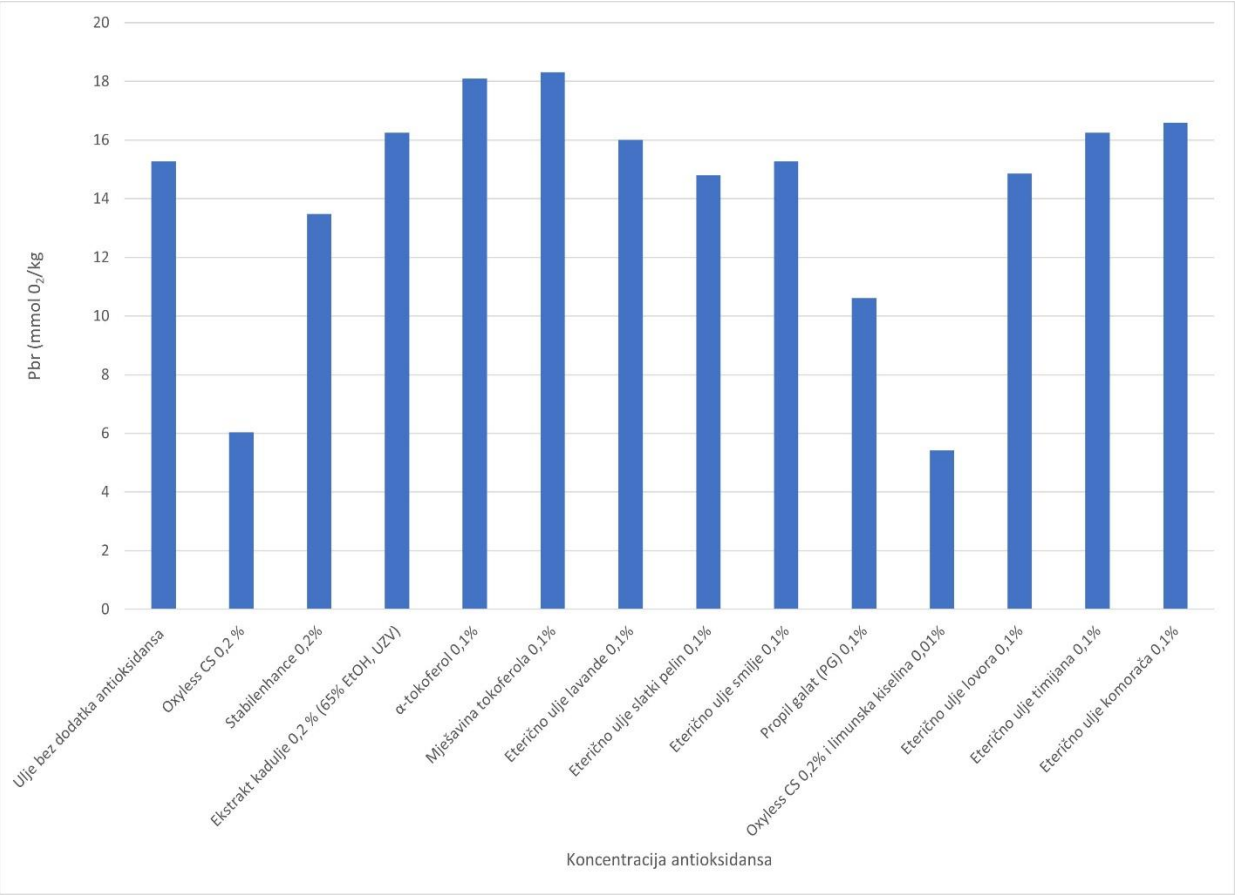
Tablica 3 Rezultati osnovnih parametara kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja sikavice

PARAMETRI KVALITETE ULJA	**REZULTATI**	**PRAVILNIK (NN 11/19)**
Pbr (mmol O_2/kg)	2,59	max. 7
SMK (%)	1,01	max. 2
NN (%)	0,26	max. 0,05
Udio vlage (%)	0,06	max. 0,4

- Pbr – peroksidni broj,
- SMK – slobodne masne kiseline i
- NN – netopljive nečistoće.

Tablica 4 Utjecaj dodatka antioksidanasa (prirodni, sintetski) na promjene održivosti hladno prešanog ulja sikavice određenog primjenom Schaal Oven testa na 63 °C

UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2/kg)				
		0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Ulje bez dodatka antioksidansa	-	2,59	6,25	9,22	13,51	**15,28**
Ekstrakt ružmarina OxyLess CS	0,2		3,49	4,48	4,98	6,03
Ekstrakt ružmarina StabilEnhance	0,2		5,45	8,04	12,50	13,48
Ekstrakt kadulje, 65 % EtOH, UZV	0,2		6,50	9,36	12,94	16,25
α-tokoferol	0,1		6,82	11,56	14,78	18,10
Mješavina tokoferola	0,1		7,04	9,90	13,80	18,32
Eterično ulje lavande	0,1		7,43	9,32	12,44	16,00
Eterično ulje slatki pelin	0,1		5,45	8,46	12,82	14,80
Eterično ulje smilje	0,1		5,97	9,00	13,15	15,28
Propil galat (PG)	0,01		4,98	6,41	8,38	10,61
OxyLess CS i limunska kiselina	0,2 i 0,01		3,45	3,92	4,88	5,42
Eterično ulje lovora	0,1		5,94	8,55	11,76	14,86
Eterično ulje timijana	0,1		5,97	8,42	13,50	16,25
Eterično ulje komorača	0,1		6,68	9,18	13,50	16,59



Slika 27 Utjecaj vrste i koncentracije antioksidanasa i sinergista na održivost hladno prešanog ulja sikavice nakon 4 dana Oven testa

5. RASPRAVA

U **tablici 3** prikazani su osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja sikavice koji su određeni standardnim metodama. Prema rezultatima vrijednost peroksidnog broja (Pbr) iznosi 2,59 mmol O_2/kg, udio slobodnih masnih kiselina je 1,01 %, udio netopljivih nečistoća je 0,26 %, a udio vlage iznosi 0,06 %. Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) hladno prešano ulje sikavice nalazi se u granicama dozvoljene vrijednosti, osim udjela netopljivih nečistoća čiji udio iznosi 0,26 %, a maksimalno dozvoljena vrijednost iznosi 0,05 %. Budući da se postupcima taloženja, filtracije ili centrifugiranja može smanjiti udio netopljivih nečistoća, zaključuje se da je hladno prešano ulje sikavice dobre kvalitete. Moslavac i sur. (2016.) u svom su istraživanju utvrdili da hladno prešano makovo ulje premašuje maksimalno dozvoljenu vrijednost udjela slobodnih masnih kiselina (SMK). Udio slobodnih masnih kiselina (SMK) hladno prešanog makovog ulja iznosio je 6,87 %, što je puno veći iznos u odnosu na gore spomenuto hladno prešano ulje sikavice.

Rezultati ispitivanja održivosti hladno prešanog ulja sikavice, sa i bez dodanih antioksidanasa i sinergista, primjenom Schaal Oven testa u trajanju od četiri dana pri temperaturi 63 °C , određeni su mjerenjem vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) svakih 24 sata i prikazani su u **tablici 4**. Osim peroksidnog broja (Pbr) praćene su i senzorske promjene kvalitete ulja.

Uzorak s antioksidansom ekstraktom ružmarina (tip OxyLess CS, 0,2 %) postao je lagano mutan i poprimio crvenkasto-smećkastu boju.

Uzorci s eteričnim uljima lavande, lovora i smilja poprimili su miris po antioksidansu.

Vrijednost peroksidnog broja (Pbr) uzorka bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak) 4. dan iznosila je 15,28 mmol O_2/kg. Hladno prešano ulje sikavice bez dodanog antioksidansa podložno je oksidacijskim promjenama jer je polazna vrijednost peroksidnog broja (Pbr) iznosila 2,59 mmol O_2/kg.

Uočeno je da se vrijednost peroksidnog broja svaki sljedeći dan testa sve više povećavala bez obzira na vrstu i koncentraciju dodanog antioksidansa.

Dodatkom ekstrakta ružmarina udjela 0,2 % (tip OxyLess CS) u ulju sikavice dolazi do blagog porasta peroksidnog broja u odnosu na uzorak s ekstraktom ružmarina 0,2 % (tip Stabilenhance) koji četvrti dan iznosi 13,48 mmol O_2/kg te ima mali učinak u antioksidacijskom djelovanju u odnosu na kontrolni uzorak ulja.. Vrijednost peroksidnog broja uzorka s

ekstraktom ružmarina (tip OxyLess CS) nakon 4 dana testa iznosi 6,03 mmol O_2/kg, stoga je vidljivo da taj ekstrakt ima zadovoljavajuće antioksidacijsko djelovanje i značajno usporava oksidacijsko kvarenje ovog ulja u odnosu na kontrolni uzorak. U svom istraživanju Moslavac i sur. (2019) pokazuju da ekstrakt ružmarina udjela 0,2 i 0,4 % (tip OxyLess CS) ima bolja antioksidacijska svojstva i bolje štiti ulje koštica grožđa od oksidacijskog kvarenja u odnosu na ekstrakt ružmarina udjela 0,2 i 0,4 % (tip Stabilenhance OSR).

Najmanji porast vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) tijekom 4 dana testa uočen je kod uzorka s kombinacijom dodatka prirodnog antioksidansa i sinergista. Riječ je o ekstraktu ružmarina udjela 0,2 % (tip Oxyless CS) i limunskoj kiselini udjela 0,01 %. Nakon 4 dana testa, vrijednost peroksidnog broja (Pbr) navedenog uzorka iznosila je 5,42 mmol O_2/kg, što je manje od vrijednosti kod uzorka bez dodanog sinergista, stoga uzorak s kombinacijom ekstrakta ružmarina i sinergista ima najbolja antioksidacijska svojstva i pruža ulju najveću zaštitu od oksidacijskog kvarenja.

U ispitivanju oksidacijske stabilnosti ulja sikavice (Furundžija, 2020) utvrdio je da ekstrakt ružmarina 0,25 % (tip StabilEnhance) pokazuje najbolja antioksidacijska svojstva u ulju sikavice u odnosu na ostale uzorke. Četvrti dan testa peroksidni broj (Pbr) iznosio je 6,71 mmol 0_2/kg, a u ovom radu 13,48 mmol 0_2/kg, ali je i manja koncentracija dodanog antioksidansa (0,2 %).

Mješavina tokoferola i α-tokoferol nisu pokazali antioksidacijsko djelovanje jer su vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) nakon testa bile veće od kontrolnog uzorka i iznosile su 18,32 mmol O_2/kg i 18,10 mmol O_2/kg.

Ulje sa ekstraktom kadulje udjela 0,2 % nakon četvrtog dana testa ima vrijednost peroksidnog broja (Pbr) 16,25 mmol O_2/kg te ne pokazuje nikakvo antioksidacijsko djelovanje jer je Pbr veći od vrijednosti kontrolnog uzorka. U ispitivanju održivosti konopljinog ulja (Tokić, 2019) dokazuje se da ekstrakti kadulje u različitim koncentracijama imaju antioksidacijsko djelovanje i štite ulje od oksidacije.

U ovom istraživanju većina eteričnih ulja nisu pokazala antioksidacijsko djelovanje u ulju sikavice jer su vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) bile veće od kontrolnog uzorka nakon 4 dana testa. Neznatno antioksidacijsko djelovanje primijećeno je na uzorku s eteričnim uljem lovora i slatkog pelina čiji je peroksidni broj (Pbr) četvrtog dana iznosio 14,86 i 14,80 mmol O_2/kg. Peroksidna vrijednost navedenog uzorka malo je niža u odnosu na vrijednost kontrolnog

uzorka. Eterično ulje smilja četvrti dan testa pokazuje istu vrijednost peroksidnog broja kao i kontrolni uzorak, samim time praktično nema antioksidacijsko djelovanje. Najveću vrijednost peroksidnog broja (Pbr) nakon 4 dana testa pokazalo je eterično ulje komorača (16,59 mmol O_2/kg) i timijana (16,25 mmol O_2/kg). Također eterično ulje lavande ne pokazuje zaštitu ulja sikavice od oksidacijskog kvarenja, Pbr je nakon 4 dana testa veći u odnosu na kontrolni uzorak.

Sintetski antioksidans koji se koristio je propil galat (PG). Pokazuje antioksidacijsko djelovanje, ali slabije u odnosu na neke prirodne antioksidanse i sinergiste. Peroksidni broj nakon četvrtog dana testa iznosio je 10,61 mmol O_2/kg, što je manje od vrijednosti kontrolnog uzorka, ali prelazi maksimalno dozvoljene vrijednosti prema Pravilniku. Za ispitivanje održivosti ulja sikavice (Furundžija, 2020) koristio je kao sintetski antioksidans terc-butilhidrokinon (TBHQ) udjela 0,01 % koji je pokazao puno bolje antioksidacijsko djelovanje (Pbr- 3,92 mmol O_2/kg) u odnosu na propil galat (PG).

Moslavac i sur. (2019) u istraživanju utjecaja antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost ulja koštica grožđa navode da je propil galat (PG) značajno zaštitio ulje koštica grožđa od oksidacijskog kvarenja.

Na **slici 27** vidljiv je utjecaj dodatka antioksidanasa i sinergista na održivost ulja sikavice nakon 4 dana provedbe testa. Slika pokazuje usporedbu djelovanja antioksidanasa u zaštiti ovog ulja od oksidacije. Vidljivo je da najbolju zaštitu ulja sikavice pruža ekstrakt ružmarina (OxyLess CS) i u kombinaciji sa sinergistom limunskom kiselinom. Od eteričnih ulja najbolju antioksidacijsku aktivnost pokazuju lovor i slatki pelin.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju određivanja osnovnih parametara kvalitete ulja i ispitivanjem utjecaja dodatka antioksidanasa i sinergista na održivost hladno prešanog ulja sikavice, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Usporedbom osnovnih parametara kvalitete hladno prešanog ulja sikavice s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN11/19) utvrđeno je da je navedeno ulje dobre kvalitete.
2. Na temelju dobivenih rezultata Schaal Oven testom može se zaključiti da hladno prešano ulje sikavice ima nisku održivost ili oksidacijsku stabilnost jer sadrži puno nezasićenih masnih kiselina, a najviše linolne.
3. Primjenom Schaal Oven testa tijekom četiri dana došlo je do postupnog porasta vrijednosti peroksidnog broja u svim uzorcima.
4. Najbolja zaštita od oksidacijskog kvarenja, odnosno najbolje antioksidacijsko djelovanje na hladno prešanom ulju sikavice postignuto je kombinacijom ekstrakta ružmarina 0,2 % (tip OxyLess CS) i sinergista limunske kiseline udjela 0,01 %.
5. Najbolje antioksidacijsko djelovanje od prirodnih antioksidanasa pokazao je ekstrakt ružmarina 0,2 % (tip Oxyless CS).
6. Ekstrakt ružmarina (tip StabilEnhance) udjela 0,2 % pokazao je malo antioksidacijsko djelovanje jer je peroksidna vrijednost nešto niža od vrijednosti kontrolnog uzorka.
7. Ekstrakt kadulje udjela 0,2 % ne pruža zaštitu od oksidacijskog kvarenja hladno prešanom ulju sikavice.
8. Sintetski antioksidans propil galat (PG) pokazuje antioksidacijsko djelovanje, ali slabije u odnosu na već spomenute prirodne antioksidanse i sinergist limunsku kiselinu.
9. Mješavina tokoferola i α-tokoferol ne pokazuju antioksidacijsko djelovanje u hladno prešanom ulju sikavice jer imaju veće vrijednosti peroksidnog broja od kontrolnog uzorka ulja.
10. Eterično ulje slatkog pelina i eterično ulje lovora imaju malo nižu vrijednost peroksidnog broja (Pbr) u odnosu na kontrolni uzorak, što znači da neznatno utječu na stabilizaciju ulja sikavice.

11. Eterično ulje lavande, eterično ulje timijana i eterično ulje komorača imaju veće vrijednosti peroksidnog broja od kontrolnog uzorka nakon 4 dana testa te ne štite ulje od oksidacijskog kvarenja.

7. LITERATURA

Ahmad N, Fazal H, Haider Abbasi B, Anwar S, Basir A: DPPH free radical scavenging activity and pheno-typic difference in hepatoprotective plant (Silybum marianum L.). *Toxicology and Industrial Health* 29(5): 460-467, 2013.

Andrzejewska J, Sadowska K, Mielcarek S: Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan con-tent of the fruits of milk thistle (Silybum marianum L. Gaertn,) grown on light soil in a moderate climate. *Industrial Crops and Products* 33: 462-468, 2011.

Bahl J R, Bansal R P, Goel R, Kumar S: Properties of the seed oil of a dwarf cultivar of the pharmaceutical silymarin producing plant Silybum marianum (L.) Gaertn. developed in India. Indian Journal of Natural Products and Resources 6 (2):127–133, 2015.

Bockisch M: *Fats and oils handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.

Chiavari G, Galletti G. C, Marotti M, Piccaglia R: Sylimarin content of different Sylybum marianum L. Gaertn. cultivars. *Herba Hungar* 1-2: 23-27, 1991.

Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, Sarajevo, 2008.

Dabbour I R, Al-Ismail K M, Takruri H R, Azzeh F S: Chemical characteristics and antioxidant content properties of cold pressed seed oil of wild milk thistle plant grown in Jordan. Pakistan Journal of Nutrtion 13 (2):67–78, 2014.

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

Domac R: *Flora hrvatske*. Školska knjiga, Zagreb, 2002.

El-Mallah M. H, Safinaz, El-Shami M, Hassanein M M: Detailed studies on some lipids of Silybum marianum(L.) seed oil. Grasas Aceites 54:397-402, 2003.

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.

Furundžija S: Stabilizacija ulja sikavice s prirodnim i sintetskim antioksidansima. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.

Gašo-Sokač D, Kovač S, Bušić V: Isolation of Active Substances from the Seeds of the Milk Thistle Plant (Silybum marianum) and Determination of Antioxidant Activity. *Kem. Ind.* 60 (9):441-445 , 2011.

Gunstone FD: *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK, 2004.

Khan I, Khattak H U, Ullah I, Bangash F K: Study of the physicochemical properties of Silybum marianum seed oil. Journal of the Chemical Society of Pakistan 29:545–548, 2007.

Knez M: Antioksidansi. *Završni rad.* Odjel za kemiju, Osijek, 2014.

Lelas V: *Procesi pripreme hrane*. Golden marketing – Tehnička knjiga , Zagreb, 2008.

Luttrodt 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.

Mandić M: *Znanost o prehrani*. Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno - tehnološki fakultet Osijek, 2003.

Mehlenbacher V. C: *The Analysis of Fats and Oils*. The Garrard Press, Publishers, Champaign, Illinois, 1960.

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, Volmut K, Benčić Đ: Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom antioksidansa. *Glasnik zaštite bilja* 6:136-145, 2009.

Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Perl Pirički A, Volmut K, Benčić Đ: Komparativna studija oksidacije stabilnosti različitih biljaka s rancimat metodom i oven testom. *Glasnik zaštite bilja* 4:74-82 , 2010.

Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Pašić M, Lenart L: Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. *Glasnik zaštite bilja* 5:34-42, 2010.

Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Drčec M: Utjecaj dodatka ekstrakta ružmarina i maslinovog lista na oksidacijsku stabilnost bučinog ulja. *Glasnik zaštite bilja* 5:58-66, 2011.

Moslavac T, Jokić S, Pozderović A, Pichler A, Škof B: Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog bučinog ulja. *Glasnik zaštite bilja* 6:70-79 , 2014.

Moslavac T, Jokić S, Aladić K, Galović M, Šubarić D: Proizvodnja hladno prešanog makovog ulja. *Hranom do zdravlja : Hranom do zdravlja: 9. međunarodni znanstveno-stručni skup :*132-143, 2016.

Moslavac T, Šaravanja M, Jokić S, Šubarić D, Jakobović M: Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja koštica grožđa. *Glasnik zaštite bilja* 6:48-57, 2019.

Moslavac T; Jokić S, Šubarić D, Aladić K, Konjarević A: Utjecaj dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost masti jazavca. *Meso* XXII:46-55, 2020.

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

Pospišil M, Brčid M, Pospišil A, Butorac J, Šoljid M: Utjecaj količine sjemena za sjetvu na agronomska svojstva i sastavnice prinosa sikavice (Silybum marianum L. Gaertn.), str 285-289, 52. *Hrvatski i 12. Međunarodni simpozij agronoma*, Dubrovnik, 2017

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

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

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

Thornton Morrison R, Neilson Boyd R: *Organska kemija*, 3. izd., Sveučilišna naklada Liber, Zagreb, 1979.

Tokić M: Utjecaj antioksidansa i sinergista na održivost konopljinog ulja. *Diplomski rad.* Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2019.

Web 1 : https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/masne-kiseline [pristupljeno, 22.10.2020]

Web 2 : https://www.plantagea.hr/aromaterapija/kemizam-masnih-kiselina/ [pristupljeno, 3.11.2020]

Web 3 : https://www.periodni.com/gallery/omega_masne_kiseline.png [pristupljeno, 6.12.2020]

Web 4 : https://www.krenizdravo.hr/zdravlje/alternativna-medicina/biljna-ljekarna/sikavica-za-zastitu-i-zdravlje-jetre [pristupljeno, 6.8.2020]

Web 5 : http://www.inpharma.hr/index.php/news/154/22/Sikavica-Silybum-marianum [pristupljeno 14.9.2020]

Web 6 : https://naturalwealth.com.hr/zivjeti-zdravije/iz-prirode-zdravlje/sikavica-42/ [pristupljeno, 1.8.2020]