

Utjecaj mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost lješnjakovog ulja

Mitrović, Marijana

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:338225>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-26**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

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



image not found or type unknown

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

Marijana Mitrović

**UTJECAJ MIKROVALNOG ZAGRIJAVANJA I DODATKA
ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST LJEŠNJAKOVOG
ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2013./2014. održanoj 10. srpnja 2014.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac
Pomoć pri izradi: *Daniela Paulik, tehnički suradnik*

UTJECAJ MIKROVALNOG ZAGRIJAVANJA I DODATKA ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST LJEŠNJAKOVOG ULJA

Marijana Mitrović, 210-DI

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja tretiranjem pri različitim jačinama i vremenima mikrovalnog zagrijavanja. Također, ispitivan je utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt nara i ekstrakt ružmarina) u udjelu 0,2% te sintetskog antioksidansa (propil galat) u udjelu 0,01% na promjenu stabilnosti ulja. Određivanje oksidacijske stabilnosti lješnjakovog ulja te utjecaj antioksidanasa provedeno je primjenom mikrovalnog zagrijavanja. Rezultati utjecaja mikrovalnog zagrijavanja na stabilnost lješnjakovog ulja prikazani su peroksidnim brojem (mmol O₂/kg). Porastom vremena tretiranja lješnjakovog ulja mikrovalnim zagrijavanjem kod konstantne snage uređaja od 300W dolazi do smanjenja održivosti ulja što rezultira porastom peroksidnog broja. Primjenom veće jačine mikrovalnog zagrijavanja dolazi do većeg oksidacijskog kvarenja. Dodatkom prirodnih antioksidanasa i sintetskog antioksidansa dolazi do porasta stabilnosti ulja prema oksidacijskom kvarenju.

Ključne riječi: Lješnjakovo ulje, oksidacijska stabilnost, mikrovalno zagrijavanje, prirodni antioksidansi, sintetski antioksidansi

Rad sadrži: 48 stranica
7 slika
12 tablica
54 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

| | |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Andrija Pozderović | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac | član-mentor |
| 3. izv. prof. dr. sc. Vedran Slačanac | član |
| 4. izv. prof. dr. sc. Jurislav Babić | zamjena člana |

Datum obrane: 06. listopada 2015.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Technology of Oils and Fats

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X. held on July 10, 2014.

Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD associate prof.

Technical assistance: *Danijela Paulik*, technical associate

IMPACT MICROWAVE HEATING AND THE ADDITION OF ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STABILITY OF HAZELNUT OIL

Marijana Mitrović, 210-DI

Summary:

The aim of this research was to evaluate the influence of microwave heating on the oxidative stability of cold-pressed hazelnut oil treatment at different intensities and times of microwave heating. It also examines the influence of natural antioxidants (green tea extract, pomegranate extract and rosemary extract) in the proportion of 0,2% and synthetic antioxidants (propyl gallate) in the proportion of 0,01% to change the stability of the oil. Determination of oxidative stability of hazelnut oil and the influence of antioxidants was conducted using microwave heating. The results of influence of microwave heating on the stability of hazelnut oil are indicated by peroxide number (mmol O₂/kg). Raising the time of the microwave heating treatment for the hazelnut oil at the constant power of 300W devices lead to decreased viability of oil, resulting in the increase of peroxide number. By using a more powerful microwave heating leads to higher oxidative deteriorations. Adding the natural antioxidants and the synthetic antioxidant leads to an increase in oil stability towards oxidative deterioration.

Key words: Hazelnut oil, oxidative stability microwave heating, natural antioxidants, synthetic antioxidants

Thesis contains: 48 pages
7 figures
12 tables
54 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. <i>Andrija Pozderović</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. <i>Vedran Slačanac</i> , PhD, associate prof. | member |
| 4. <i>Jurislav Babić</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: October 06, 2015.

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

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na predloženoj temi, stručnom usmjeravanju tijekom izvršavanja eksperimentalnog dijela te pri samom pisanju diplomskog rada.

Velika zahvala i tehničarki Danieli Paulik na pomoći i ugodnom ozračju pri izradi eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Najveće hvala upućujem svojoj majci i suprugu koji su mi omogućili studiranje. Hvala Vam na podršci, strpljenju, ljubavi i odricanjima.

Sadržaj

| | | |
|---------|---|----|
| 1. | UVOD..... | 1 |
| 2. | TEORIJSKI DIO | 3 |
| 2.1. | JESTIVA BILJNA ULJA..... | 4 |
| 2.2. | PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA | 9 |
| 2.2.1. | Lješnjak | 10 |
| 2.2.2. | Lješnjakovo ulje | 12 |
| 2.3. | VRSTE KVARENJA ULJA | 14 |
| 2.3.1. | Enzimski i mikrobiološki procesi | 14 |
| 2.3.2. | Kemijski procesi | 15 |
| 2.4. | STABILIZACIJA BILJNIH ULJA | 18 |
| 2.4.1. | Antioksidansi | 18 |
| 2.4.2. | Sinergisti | 20 |
| 2.5. | METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA..... | 20 |
| 2.6. | OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA | 22 |
| 2.6.1. | Schaal-Oven test..... | 23 |
| 2.6.2. | Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)..... | 23 |
| 2.6.3. | Rancimat test..... | 23 |
| 2.7. | MIKROVALNO ZAGRIJAVANJE | 24 |
| 2.7.1. | Oksidacijska promjena u biljnim uljima tijekom mikrovalnog zagrijavanja | 25 |
| 3. | EKSPERIMENTALNI DIO..... | 26 |
| 3.1. | ZADATAK..... | 27 |
| 3.2. | MATERIJALI I METODE..... | 27 |
| 3.2.1. | Materijali | 27 |
| 3.2.1.1 | Lješnjakovo ulje | 27 |
| 3.2.1.2 | Antioksidansi | 27 |
| 3.2.2. | Metode | 28 |
| 3.2.2.1 | Određivanje parametara kvalitete ulja..... | 28 |
| 3.2.2.2 | Određivanje sastava masnih kiselina..... | 29 |
| 3.2.2.3 | Priprema uzorka za ispitivanje održivosti ulja | 31 |
| 3.2.2.4 | Mikrovalno zagrijavanje lješnjakovog ulja | 31 |
| 4. | REZULTATI | 32 |
| 5. | RASPRAVA | 36 |
| 6. | ZAKLJUČCI..... | 40 |
| 7. | LITERATURA..... | 43 |

Popis oznaka, kratica i simbola

| | |
|------|---------------------------------|
| A• | Slobodni radikal antioksidansa |
| Abr | Anisidinski broj |
| AO | Antioksidans |
| BG | Butil galat |
| BHA | Butil hidroksianisol |
| BHT | Butil hidroksitoluen |
| DG | Dodecil galat |
| EMK | Esencijalne masne kiseline |
| EPA | Eikosapentaenska kiselina |
| HOO• | Radikal vodikovog peroksida |
| KI | Kalijev jodid |
| KOH | Kalijev hidroksid |
| MB | Mikrobiološki |
| MO | Mikroorganizmi |
| MK | Masne kiseline |
| MUFA | Mononezasićene masne kiseline |
| NMK | Nezasićene masne kiseline |
| NaOH | Natrijev hidroksid |
| OG | Oktil galat |
| Pbr | Peroksidni broj |
| PG | Propil galat |
| PUFA | Polinezasićene masne kiseline |
| R• | Slobodni radikal masne kiseline |
| ROO• | Slobodni radikal peroksida |
| TFA | Transmasne kiseline |
| ZMK | Zasićene masne kiseline |

1. UVOD

Lješnjak, (*lat. Corylus avellana L.*) je biološki visokovrijedna namirnica, ubraja se među najznačajnije energetske namirnice. Cijeni se zbog visokog udjela makro- i mikronutrijenata: proteina, ulja, vitamina, minerala itd. Jezgra lješnjaka namijenjena je za prehrambene svrhe, dok se ljuska prerađuje te se može koristiti kao gorivo, za proizvodnju furfurala, za bojanje vina te za proizvodnju drvenog ugljena.

Hladno prešana biljna ulja proizvode se postupkom prešanja, bez zagrijavanja sirovine, kako bi se održala potpuna kvaliteta i nutritivna vrijednost. Kod proizvodnje hladno prešanih ulja važna je kvaliteta sirovine. Sirovina, prije nego ode na prešanje mora proći proces čišćenja, sušenja, ljuštenja i usitnjavanja. Sirovo biljno ulje dobiveno prešanjem može se pročišćavati isključivo pranjem sa vodom, taloženjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja je jedno od najvažnijih svojstava biljnih ulja. Predstavlja vrijeme kroz koje se biljna ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije, odnosno oksidacije nezasićenog lanca masne kiseline, što dovodi do užeglosti i kvarenja biljnih ulja, narušavanja njihove kvalitete i organoleptičkih svojstava. Poznavanje oksidacijske stabilnosti važno je kako bi se moglo unaprijed utvrditi vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene autooksidacije te za određivanje roka uporabe.

Proces autooksidacije se ne može zaustaviti, ali se može usporiti dodatkom antioksidanasa koji mogu donirati vodikove atome slobodnim radikalima te ih tako konvertirati u stabilnije, neradikalne produkte. Poznati su brojni sintetski i prirodni antioksidansi, od čega se više preferiraju prirodni antioksidansi (Frega i sur., 1999.).

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi kako mikrovalno zagrijavanje pri različitim jačinama zagrijavanja i pri različitim vremenima trajanja zagrijavanja, utječe na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja. Osim toga, trebali smo utvrditi utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti lješnjakovog ulja. Od prirodnih antioksidanasa koristili smo ekstrakt ružmarina, zelenog čaja i nara, a od sintetskih antioksidanasa propil galat.

2. TEORIJSKI DIO

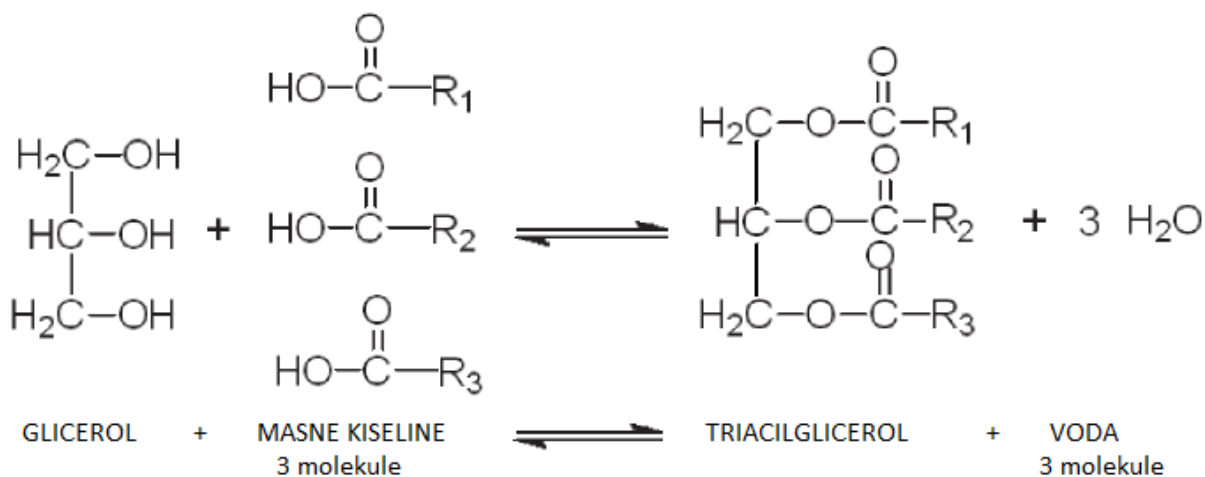
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Jestiva ulja i masti pripadaju grupi spojeva lipida. To su organske tvari različite kemijske strukture, netopljive u vodi, a topljive u organskim otapalima (dietil eter, heksan, benzen, kloroform, metanol). Predstavljaju estere trihidroksi alkohola glicerola i masnih kiselina te se najčešće nazivaju trigliceridi ili triacilgliceroli (Marcone, 2006.). Biljna ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina te su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti (Mandić, 2003.).

Podjela lipida s obzirom na strukturu i sastav biljnog ulja:

- jednostavni lipidi
- složeni lipidi
- derivati lipida

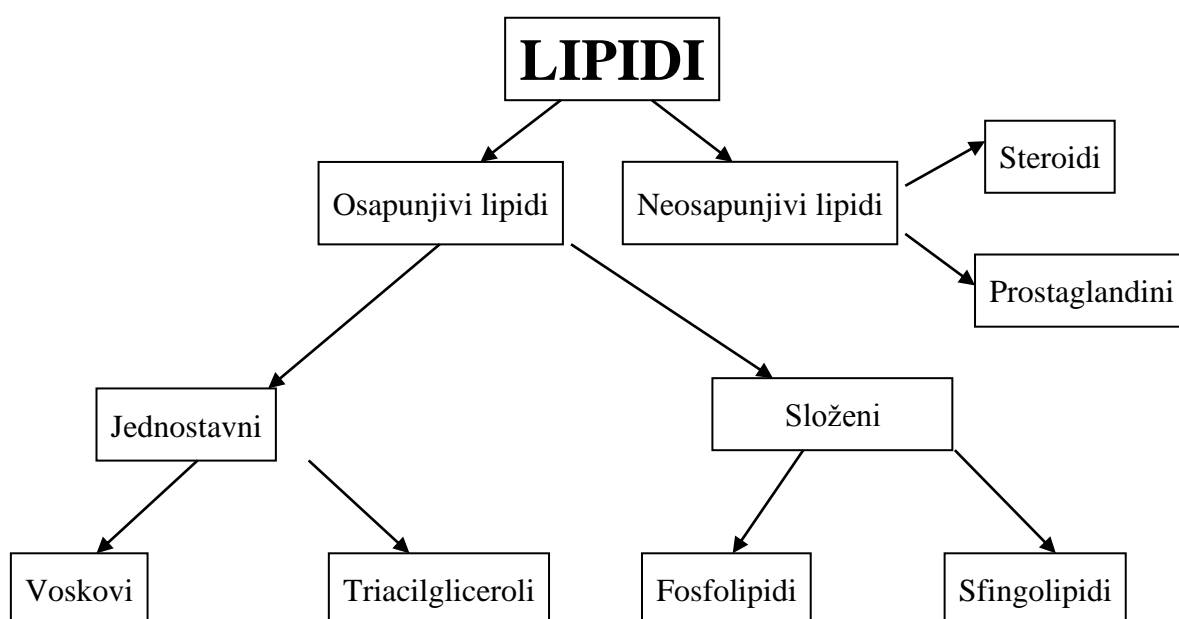
Jednostavni lipidi obuhvaćaju triacilglicerole masnih kiselina (ulja i masti) te voskove koji predstavljaju estere viših alkohola s višim masnim kiselinama. Ulja i masti (triacilgliceroli) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina (Swern, 1972.). Najčešće ih nalazimo u prirodi uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa.



Slika 1. Reakcija nastajanja triacilglicerola

Složeni lipidi su fosfolipidi, glikolipidi, lipoproteini, sulfolipidi, cerebrozidi i dr. Oni su pratitelji jednostavnih lipida, ali i lipidni sastojci u nekim dijelovima organizma. Često se nazivaju i polarni lipidi. Osim glicerola i masnih kiselina, sadrže i negliceridne sastojke kao što su fosfatidi, karotenoidi, liposolubilni vitamini (A, D, E, K), tokoferoli, steroli, pigmenti, voskovi i tragovi metala. U prirodnim uljima negliceridni sastojci su zastupljeni u količini od 1 do 2%, dok su izuzetak sojino i palmino ulje kod kojih je udio negliceridnih sastojaka 2-4%. Poželjni negliceridni sastojci su vitamini topljivi u mastima i karoteni, dok su voskovi, tragovi metala i fosfatidi nepoželjni negliceridni sastojci u uljima jer smanjuju kvalitetu ulja i moraju se potpuno ukloniti tijekom procesa rafinacije ulja (Odak, 2013.).

Derivati lipida su masne kiseline, alkoholi (steroli), ugljikovodici (karoteni), vitamini D, E i K. Dobivaju se procesom hidrolize jednostavnih i složenih lipida.



Slika 2. Klasifikacija lipida

Masne kiseline su dugačke molekule koje na jednom kraju imaju karboksilnu skupinu (-COOH), a na drugom kraju metilnu skupinu (-CH₃) tako da svojstva triglicerida ovise o molekulama masnih kiselina pri čemu je odlučujuća duljina njihovih lanaca i broj dvostrukih veza. Sadržavaju samo jednu karboksilnu skupinu pa ih zbog toga nazivamo monokarboksilnim kiselinama. Dobivaju se hidrolizom masti i ulja. Tri najčešće masne kiseline u prirodi su: palmitinska (16 C-atoma), stearinska (18 C-atoma) i oleinska (18 C-atoma). Sve prirodne masne kiseline imaju paran broj ugljikovih atoma vezanih u nerazgranati lanac. Fizikalna svojstva masnih kiselina ovise o dužini lanca, stupnju nezasićenosti i razgranatosti lanca. Kiseline s kratkim lancem su tekućine oštrog mirisa topljive u vodi. Porastom dužine lanca talište im raste, a topljivost u vodi opada. Razlikuju se prema broju C-atoma u molekuli, nezasićenosti C-atoma te broju i položaju dvostrukih veza.

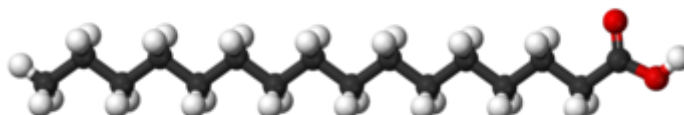
Prema broju C-atoma u molekuli, masne kiseline se dijele na:

- masne kiseline kratkog lanca (do 8 C-atoma)
- masne kiseline srednjeg lanca (od 8 do 12 C-atoma)
- masne kiseline dugackog lanca (iznad 12 C-atoma) (Swern, 1972.).

Prema stupnju nezasićenosti, masne kiseline se dijele na:

- zasićene masne kiseline
- nezasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline (ZMK) su masne kiseline koje u molekuli ne sadrže dvostruke veze između C atoma, a opća formula im je: CH₃(CH₂)COOH. Kod zasićenih masnih kiselina radikal (R-) je jednostavan parafinski lanac u kojem je svaki C atom zasićen. Između C-atoma su prisutne samo jednostruke veze te zbog toga palmitinska i stearinska kiselina imaju oblik ravnog štapića.



Slika 3. Kemijska struktura palmitinske kiseline

https://sr.wikipedia.org/wiki/Palmitinska_kiselina

Najvažnije svojstvo zasićenih masnih kiselina je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu. U prirodnim uljima i mastima dolaze zasićene masne kiseline sa 4 do 22 C-atoma. Masne kiseline koje sadrže 24 i 26 C-atoma dolaze u voskovima, dok zasićene masne kiseline sa neparnim brojem C-atoma dolaze u tragovima u prirodnim mastima.

Tablica 1. Najvažnije zasićene masne kiseline

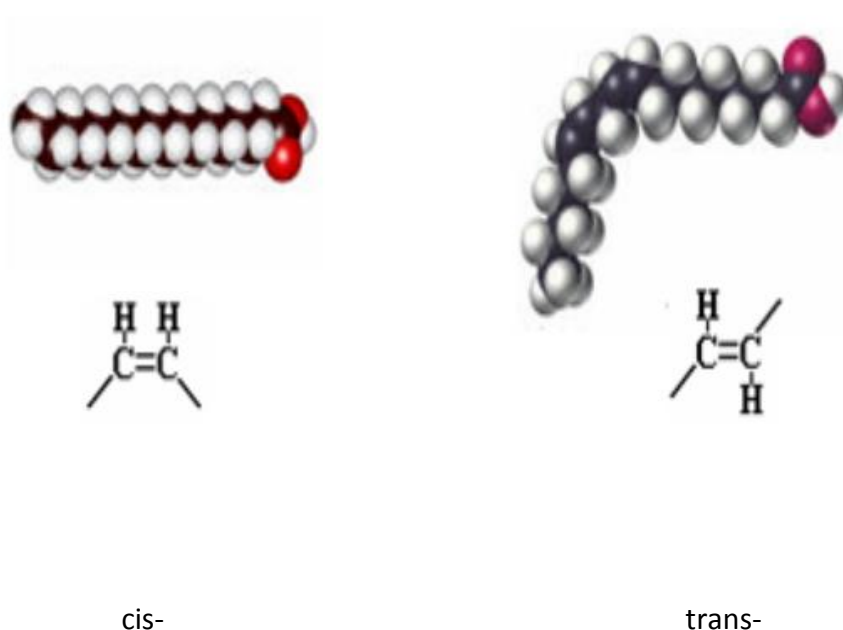
| Broj C atoma : broj dvostrukih veza | Naziv masne kiseline | Formula |
|-------------------------------------|----------------------|--|
| 4:0 | Maslačna | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ |
| 6:0 | Kaprnska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ |
| 8:0 | Kaprilna | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ |
| 10:0 | Kaprilnska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ |
| 12:0 | Laurinska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ |
| 14:0 | Miristinska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ |
| 16:0 | Palmitinska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ |
| 18:0 | Stearinska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ |
| 20:0 | Arahidska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$ |

Nezasićene masne kiseline (NMK) su masne kiseline koje u molekuli sadrže jednu ili više dvostrukih veza (-CH=CH-). Ovisno o broju dvostrukih veza dijele se na mononezasićene (jedna dvostruka veza) i polinezasićene (više dvostrukih veza). U biljnim uljima i životinjskim mastima najčešće se pojavljuju sa 18 C-atoma te s jednom, dvije ili tri dvostruke veze (**Tablica 2**). Najčešće prisutna mononezasićena masna kiselina u ulju je oleinska kiselina koja se nalazi u maslinovom, repičinom te visokooleinskom suncokretovom ulju. Manje je podložna oksidaciji od polinezasićenih masnih kiselina (Rade i Škevin, 2004.). Reaktivnost nezasićenih masnih kiselina ovisi o broju i položaju dvostrukih veza, stoga je važno poznavanje stupnja nezasićenosti i položaja dvostrukih veza u molekuli masne kiseline.

Tablica 2. Najvažnije nezasićene masne kiseline

| Broj C atoma : broj dvostrukih veza | Naziv masne kiseline | Formula |
|-------------------------------------|----------------------|---|
| 18:1 | Oleinska | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ |
| 18:2 | Linolna | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ |
| 18:3 | Linolenska | $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ |

Nezasićene masne kiseline mogu biti u *cis* i *trans* obliku (**Slika 4**), ovisno o prostornoj strukturi molekule. Kemijski sastav oba oblika je isti, dok se bitno razlikuju po fizikalnim svojstvima. *Cis* oblik nezasićene masne kiseline javlja se u prirodi, a *trans* oblik nastaje isključivo tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije biljnih ulja (O'Brien, 2004.). *Cis* oblik znači da su dva atoma vodika (H) na istoj strani dvostruke veze, dok je *trans* oblik suprotan, odnosno dva atoma vodika (H) vezana su na suprotnim stranama dvostruke veze. *Trans* oblici nezasićenih dvostrukih veza znatno su stabilniji nego *cis* oblici u termodinamičkom smislu, čime se objašnjava mogućnost stvaranja *trans* izomera tijekom termičkog tretmana procesa rafinacije (Odak, 2013.). Određivanje udjela *trans* masnih kiselina važno je zbog upoznavanja kvalitete masti i kontrole procesa hidrogenacije. Broj *cis* i *trans* izomera neke masne kiseline ovisi o broju dvostrukih veza.



Slika 4. *cis* i *trans* konfiguracija (<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>)

2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

U svijetu se za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava više od 20 vrsta biljaka, no samo 12 ima veći ekonomski značaj. Osnovna podjela ulja prema porijeklu sirovine može biti na ulja iz mesnatog dijela ploda i na ulja iz sjemena. Također, imamo i podjelu na osnovu većinskog udjela masnih kiselina te na osnovu porijekla sjemena.

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda:

- maslinovo ulje,
- palmino ulje,
- avokado ulje i dr.

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

- laurinske masti i ulja (palmine koštice, kokos...),
- masti palmitinske i stearinske kiseline (kacao maslac, shea maslac...),
- ulja palmitinske kiseline (pamukovo ulje, palmino ulje...),
- ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buče, repica...),
- ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, Camelina sativa...).

3. Ulja prema porijeklu biljke:

- ulja iz leguminoza (kikiriki, soja...),
- ulja krstašica (repica, slačica-senf) (Bockisch, 1998.).

4. Podjela ulja prema tehnološkom postupku proizvodnje (NN 41/12):

- rafinirana ulja
- hladno prešana ulja
- nerafinirana ulja

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

1. »Ulje« za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne vrste sirovih biljnih ulja;
2. »Biljno ulje« za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja

Postupak rafinacije obuhvaća procese deguminacije, neutralizacije, bijeljenja, vinterizacije i dezodorizacije prilikom kojih dolazi do smanjenja udjela prirodnih antioksidanasa (tokoferola), smanjenja karotena, lecitina i sterola te do mogućeg onečišćenja ulja teškim metalima koji ubrzavaju oksidaciju, a samim time dolazi do smanjenja stabilnosti ulja.

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50 °C. Nakon postupka prešanja može se provesti i postupak čišćenja te bistrenja ulja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (Moslavac, 2013.). Potrebno je osigurati da ulje nakon prešanja zadrži svoja prirodna svojstva, da ima što manje nepoželjnih sastojaka te da je ulje dobre kvalitete, ugodnog mirisa i okusa karakterističnog za sirovinu (Moslavac, 2013.).

Nerafinirana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, mehaničkim postupcima (prešanje) uz upotrebu topline. Može se provesti i postupak čišćenja, odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

2.2.1. Lješnjak

Drvo običnog europskog lješnjaka (lat. *Corylus avellana L.*), koje pripada porodici Betulaceae, grmolika je biljka koja doseže 3-8 m visine i daje plod sa vrlo visokim sadržajem ulja.



Slika 5. Stabljika i plod lješnjaka (https://hr.wikipedia.org/wiki/Obi%C4%8Dna_lijeska)

Najveći svjetski proizvođači lješnjaka su Turska, Španjolska i Italija koji osiguravaju gotovo cjelokupnu količinu lješnjaka na svjetskom tržištu. U Turskoj se proizvede preko 500 000 t lješnjaka godišnje. Plodovi se sakupljaju ručno, dok se ljuska odvaja pomoću strojeva. Ljuska se prerađuje te se može koristiti kao gorivo, za proizvodnju furfurala, za bojanje vina te za proizvodnju drvenog ugljena. Jezgra lješnjaka namijenjena je za prehrambene svrhe i vrlo je bogat izvor makro- i mikronutrijenata: proteina, ulja, vitamina, minerala itd. Preporučuje se kao komponenta zdrave prehrane zbog svog doprinosa boljem zdravstvenom stanju organizma, zaštite od mnogih bolesti, poput ateroskleroze i raka te poboljšanja imunološkog sustava. Brojni pozitivni zdravstveni učinci lješnjaka, utvrđeni dosadašnjim istraživanjima, pripisuju se aminokiselinskom sastavu proteina (visoki udio arginina), specifičnom sastavu masnih kiselina ulja i visokom sadržaju minornih komponenti poput β -sitosterola, tokoferola (vitamin E), piridoksina (vitamin B₆), kao i magnezija, željeza, bakra, selena itd. Osnovni kemijski sastav lješnjaka prikazan je u **Tablici 3** (Dimić, 2005.).

Tablica 3. Osnovni kemijski sastav lješnjakove jezgre

| Komponenta | Srednja vrijednost (%) | Interval variranja |
|------------------|------------------------|--------------------|
| Voda | 4,8 | 3,8 - 5,7 |
| Proteini | 14,1 | 11,6 - 15,7 |
| Ulje | 61,5 | 53,7 - 66,3 |
| Bezdušične tvari | 17,6 | 13,9 - 18,6 |
| Pepeo | 2,0 | 1,7 - 2,4 |

Najviše lješnjaka proizvodi se u turskim obalnim područjima uz Crno more, južnoj Europi (Španjolskoj, Portugalu, Italiji i Francuskoj) te u SAD-u (Oregon i Washington). Najveći svjetski proizvođač lješnjaka je Turska sa oko 74% ukupne svjetske proizvodnje. Slijedi ju Italija sa 16%, SAD sa 4% i Španjolska sa 3%. Ostale zemlje zajedno doprinose sa oko 3% u ukupnoj proizvodnji. Zbog visoke nutritivne vrijednosti, ugodne arome i sve veće zastupljenosti u konditorskoj industriji, u svijetu se bilježi veliko povećanje potražnje i potrošnje lješnjaka te se zbog toga na tržištu postižu vrlo dobri ekonomski učinci. Lješnjak se smatra najpopularnijim drvetom u Europi, a na tržištu je zastupljeno nekoliko vrsta. Svaka vrsta ima vlastiti nutritivni sastav, karakterističan okus i aromu (Alasalvar, 2008.). Plodovi lješnjaka sadrže 55 do 70,3% masnoće, koja se pretežno sastoji od nezasićenih masnih kiselina

Marijana Mitrović, Utjecaj mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost lješnjakovog ulja

(oleinska 82% i linolna 11%), triglicerida zasićenih masnih kiselina (stearinska 4% i palmitinska 3%) i mješavine triglicerida navedenih masnih kiselina (Miljković, 1991.). Proteina ima od 12 do 18%, a prevladavaju konilin i glutein te u manjoj mjeri albumin i prolamin. Ugljikohidrata ima do 14%, od čega je 4 do 10% šećera. Slijede mineralne tvari koje najvećim dijelom uključuju kalcij, fosfor, magnezij i kalij (Miljković, 1991.).

2.2.2. Lješnjakovo ulje

Lješnjakovo ulje je zlatnožute boje, vrlo ugodnog mirisa i slatkastog okusa. U zemljama sa velikom proizvodnjom lješnjaka koristi se u kulinarstvu kao obično rafinirano ulje, dok se u zemljama koje ga uvoze uglavnom koristi kao nerafinirano začinsko ulje. Koristi se u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji te kao sredstvo za podmazivanje vrlo delikatnih i preciznih instrumenata.

Tablica 4. Osnovne fizikalno-kemijske karakteristike lješnjakovog ulja

| Pokazatelj | (Karleskind, 1996.) | (Hui,1996.) |
|---|----------------------------|----------------------------|
| Relativna zapreminska masa (t °C/ voda t °C) | t = 20 °C 0,912 - 0,915 | t = 40 °C 0,899 - 0,904 |
| Indeks refrakcije (n ^{t_D}) | t = 20 °C 1,470 - 1,471 | t = 40 °C 1,462 - 1,463 |
| Viskozitet (cP); 20 °C | 66 - 67 | - |
| Jodni broj (g/100g) | 85 - 95 | 84 - 90 |
| Saponifikacijski broj (mg KOH/g) | 190 - 195 | - |
| Točka učvršćivanja (°C) | -18 do -20 | -18 do -20 |

Tablica 5. Sastav masnih kiselina lješnjakovog ulja

| Masna kiselina | (Wetherilt i Pala) | (Karleskind, 1996.) | (Commissione Technika, 1988.) | (Zlatanov i Antova, 1998.) |
|-----------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Palmitinska (16:0) | 5,9 - 7,4 | 5 - 9 | 4,5 - 7,5 | 8,6 |
| Stearinska (18:0) | 2,1 - 3,6 | 1 - 4 | 1,8 - 3,2 | 1,8 |
| Oleinska (18:1) | 72,3 - 80 | 66 - 83 | 77 - 84 | 83,2 |
| Linolna (18:2) | 9,8 - 17,7 | 8 - 25 | 6 - 14 | 1,5 |

Prema sastavu masnih kiselina, lješnjakovo ulje pripada oleinskom tipu ulja. Bogato je mononezasićenim masnim kiselinama, posebno oleinskom (75-80%) i manjim udjelom linolne kiseline. Lješnjakovo ulje koje je sastavom slično maslinovom ulju, uz industrijsku primjenu može imati veliku ulogu u ljudskoj prehrani. Sadržaj mononezasićenih masnih kiselina u prosjeku je oko 75%, dok je sadržaj zasićenih masnih kiselina 8-9%. Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari lješnjaka prikazan je u **Tablici 6** (Dimić, 2005.).

Tablica 6. Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari lješnjakovog ulja

| Pokazatelj | (Karleskind, 1996.) | (Zlatanov i Antova, 1998.) |
|--|---------------------|----------------------------|
| Sadržaj neosapunjivih materijala (g/kg) | 3 - 7 | 7 |
| Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg) | 750 - 1950 | 3000 |
| Sastav sterola: (% od ukupnih sterola) | | |
| Campesterol | 4 - 7 | - |
| β - Sitosterol | 82 - 88 | - |
| Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg) | 300 - 550 | 761 |
| Sastav tokoferola: (izražen u %) | | |
| α - tokoferol | 79 - 98 | 61,7 |
| γ - tokoferol | 2 - 19 | 34,3 |
| Triterpen alkoholi (mg/100g) | 15 - 17 | - |

Lješnjakovo ulje ima specifičan sastav neosapunjivih sastojaka. Sadrži ukupno 24 esencijalna i neesencijalna minerala, a najviše kalija, kao i vitamina topljivih u mastima, A, E, i K te vitamina topljivih u vodi, tiamina, riboflavina, niacina, pantotenske kiseline, folata i ostalih. Plod je izrazito bogat vitaminom E, biotinom i folatima, što se pripisuje njihovom povoljnom učinku na zdravlje (Kole, 2011.). Održivost lješnjakovog ulja je vrlo dobra zahvaljujući niskom sadržaju polinezasićenih masnih kiselina i visokom udjelu tokoferola koji ulju daje visoku nutritivnu vrijednost. Zbog toga se tijekom konzumiranja samo manji dio vitamina E troši za zaštitu mononezasićenih masnih kiselina, dok se veći dio zadržava u organizmu i služi kao zaštitni faktor u raznim oksidacijskim procesima. Pogača ili sačma koja zaostaje pri izdvajanju ulja iz lješnjakove jezgre je vrlo vrijedan nusproizvod. U Turskoj se npr. melje u brašno te se koristi u konditorskoj i pekarskoj industriji, a dodaje se i u stočnu hranu (Dimić, 2005.).

2.3. VRSTE KVARENJA ULJA

Jestiva biljna ulja vrlo brzo podliježu nepoželjnim promjenama te zbog toga imaju ograničenu trajnost. Procesi koji dovode do kvarenja ulja su kemijski, enzimski i mikrobiološki. Oni uzrokuju kvarenja koja ovise o vrsti, kvaliteti i uvjetima čuvanja ulja. Posljedice navedenih promjena su nastanak spojeva koji narušavaju organoleptička svojstva i smanjuju nutritivnu vrijednost ulja gubitkom biološki aktivnih tvari (esencijalne masne kiseline, provitamini, vitamini i dr.) i nastankom štetnih tvari (peroksidi i polimeri). Prema uzroku kvarenja ulja, procesi kvarenja se dijele na enzimske i mikrobiološke te kemijske (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Da bi došlo do ove vrste kvarenja neophodna je prisutnost enzima i mikroorganizama te odgovarajuća sredina i uvjeti za njihov razvoj (količina vode, pH i optimalna temperatura). Enzimsko kvarenje karakteristično je za ulje i mast u sirovini, a kvarenje mikroorganizmima za neke vrste ulja, masti i proizvode koji sadrže dosta masti. Enzimske i mikrobiološke procese kvarenja možemo podijeliti na hidrolitičku razgradnju i β -ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja u biljnim uljima je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida, uz prisutnost vode i enzima lipaze. U ulju nastaje unutar sjemenke, kao i u izdvojenom ulju ako je u dodiru s vodom ili ako se čuva u neprikladnim uvjetima. Posljedica je povećanje udjela slobodnih masnih kiselina, porast kiselosti ulja i nastajanje monoglicerida, diglicerida i glicerola. Pri temperaturama višim od 80 °C i nižim od -20 °C dolazi do inaktivacije lipolitičkih enzima čime se zaustavlja proces hidrolitičke razgradnje ulja (Rade i sur., 2001.). Tijekom hidrolize dolazi do cijepanja esterske veze masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triglicerida što rezultira nastajanjem slobodnih masnih kiselina. Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina (% SMK). U rafiniranim jestivim uljima dozvoljen udio SMK je 0,3%, izražen kao % oleinske kiseline, a u hladno prešanim i nerafiniranim uljima 2% SMK, izraženih kao oleinska kiselina, Pravilnik o jestivim uljima i mastima (NN 41/12).

β-ketooksidacija

β-ketooksidacija je proces u kojem mikroorganizmi u prisutnosti kisika napadaju zasićene masne kiseline i to metilensku grupu u β-položaju te nastaju primarni (β-keto kiseline) i sekundarni produkti (metil keton). Ova vrsta kvarenja karakteristična je za ulja i masti u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca (Oštrić-Matijašević, Turkulov, 1980.). Do kvarenja ulja dolazi djelovanjem plijesni roda *Aspergillus* i *Penicillium* i bakterija *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*. Posljedica ovog kvarenja su neugodan miris i okus (miris užglosti), a mogu nastati žuti, crveni i plavozeleni pigmenti koji uzrokuju obojenje masti (Čorbo, 2008.). β-ketooksidaciju ulja i masti moguće je spriječiti pasterezacijom, sterilizacijom, snižavanjem pH-vrijednosti ispod 5 i primjenom određenih aditiva (konzervanasa).

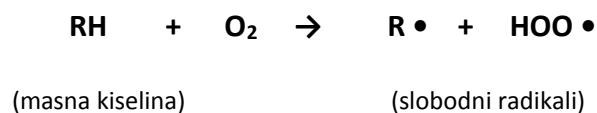
2.3.2. Kemijski procesi

Autooksidacija

Autooksidacija je vrsta kvarenja biljnih ulja do koje dolazi vezanjem kisika na nezasićene masne kiseline. Procesu autooksidacije podložna su sva biljna ulja kao i proizvodi koji sadrže ulje u svom sastavu. Masne kiseline koje sadrže jednu dvostruku vezu, kao i zasićene masne kiseline, puno su otpornije nego polinezasićene masne kiseline (Klapec, 2014.). Brzina kojom će se odvijati autooksidacija ovisi o sastavu ulja, uvjetima skladištenja i prisutnosti sastojaka koji je ubrzavaju i usporavaju. Autooksidaciju ubrzava povišena temperatura i veći broj prooksidanasa (temperatura, svjetlo, tragovi metala, dr.), a usporavaju je antioksidansi. Mehanizam autooksidacije je lančana reakcija stvaranja slobodnih radikala. Odvija se u 3 faze:

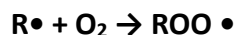
1. Inicijacija

Kisik iz zraka djeluje na nezasićene masne kiseline (RH) pri čemu na metilnim skupinama pod utjecajem topline, energije vidljivog ili UV svjetla ili uz katalitičko djelovanje iona metala dolazi do homolitičkog cijepanja, tj. do izdvajanja vodika i nastanka alkil radikala masne kiseline (R•).



2. Propagacija

Slobodni radikali masnih kiselina nastali u fazi inicijacije, u reakciji s kisikom stvaraju slobodne radikale peroksida ($\text{ROO}\cdot$) koji oduzimaju vodik iz molekula masnih kiselina ($\text{R}\cdot$) te nastaju hidroperoksidi (ROOH) koji su nestabilni i raspadaju se na dva nova radikala ($\text{RO}\cdot$) i ($\text{HO}\cdot$). Svaki od njih uzima vodik iz masnih kiselina i tako ponovno nastaju novi radikali ($\text{R}\cdot$) koji dalje pokreću novi niz reakcija.



3. Terminacija

U trećoj, završnoj fazi se nastavlja lančana reakcija sve dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno stvarajući polimere (R-R , ROOR) koji su inaktivni i stabilni pa se time završava reakcija (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.; Rade i sur., 2001.).



Primarni produkti autooksidacije su hidroperoksidi čijom razgradnjom nastaju sekundarni produkti: aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i dr. (Odak, 2013.). Najveći dio tih produkata već u vrlo malim količinama ulju daju neugodan, užegnut miris i okus.

Termooksidacija

Pri višim temperaturama (iznad 150 °C) oksidacija ulja se naglo ubrzava. Nakon određenog vremena zagrijavanja ulja, osim produkata oksidacije (hidroperoksidi i njihovi razgradni produkti) dolazi do nastanka produkata termooksidacije: cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina i triglicerida, oksipolimeri i ostali hlapljivi i nehlapljivi spojevi. Do sada je identificirano preko 400 spojeva nastalih u ulju ovom vrstom kvarenja (Odak, 2013.). Kod ulja s većim udjelom nezasićenih masnih kiselina, posebno linolne kiseline (50%) dolazi do bržeg stvaranja ovih spojeva.

Termooksidacija uzrokuje promjene izgleda i sastava ulja od kojih su neke odmah uočljive kao tamna boja i porast viskoziteta, a neke se moraju odrediti kemijskim i fizikalnim metodama. Fizikalna svojstva koja se mijenjaju tijekom prženja su: indeks refrakcije, specifična težina, viskozitet i boja po Lovibondu. Dolazi i do porasta udjela SMK, broja osapunjenja i peroksidnog broja. Za utvrđivanje kvalitete ulja tijekom prženja, preporučuje se određivanje jodnog broja. Sniženje jodnog broja (za 5%) je znak da se biljno ulje više ne može koristiti za prženje hrane (Odak, 2013.).

Reverzija

Reverzija je kvarenje ulja karakteristično za određene vrste ulja, prvenstveno za sojino i repičino. Tijekom kraćeg čuvanja dolazi do javljanja neugodnog mirisa i okusa po sirovini, travi i ribi, koji se posebno razvija prilikom zagrijavanja. Uzrok neugodnog mirisa i okusa su razgranati produkti linolenske kiseline i negliceridnih sastojaka koji nastaju procesom autooksidacije ulja. Da bi se usporila reverzija primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja kako bi se uklonila linolenska kiselina, ili se dodaju aditivi koji povećavaju održivost ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Određivanje stabilizacije biljnih ulja je važno kako bi se moglo utvrditi vrijeme tijekom kojeg ga možemo sačuvati bez većih promjena kvalitete. Čimbenici koji utječu na stabilnost biljnih ulja su: sastav i kvaliteta ulja, uvjeti prerade i čuvanja, vrsta ambalaže i dr. Oksidacijska stabilnost ili održivost može se produljiti dodatkom antioksidanasa i sinergista.

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su kemijske tvari koje u malim koncentracijama (0,005-0,02%) usporavaju oksidacijsko kvarenje ulja i masti te im produžuju održivost za tri do šest puta. Da bi antioksidansi mogli djelovati, moraju biti dodani u svježu mast ili ulje s peroksidnim brojem manjim od 1 mmol O₂/kg. Dodaju se prema zakonskim propisima kao aditivi u hrani u određenoj količini, a obilježavaju se slovom E i brojevima od 300 do 340. Ukoliko su dodani nakon završetka perioda indukcije, nemaju utjecaja na produljenje održivosti ulja. Antioksidacijska aktivnost ovisi ne samo o strukturnim svojstvima antioksidanasa, već i o mnogim drugim čimbenicima kao što su temperatura, svjetlost, tip supstrata, fizikalno stanje sistema, kao i o brojnim mikrokomponentama koje djeluju kao prooksidansi ili sinergisti (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001.).

Uvjeti koje antioksidansi moraju zadovoljiti su:

- dobra topljivost u uljima i mastima,
- aktivno djelovanje pri dodavanju malih koncentracija (0,001-0,02%),
- ne smiju uzrokovati strani okus i miris ni nakon duljeg skladištenja,
- moraju djelovati na proizvod u kojem se mast nalazi, a ne samo na mast,
- jednostavna identifikacija i određivanje antioksidanasa,
- ne smiju biti previše skupi (Čorbo, 2008.).

Mehanizam djelovanja

1. Antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili radikal masne kiseline (R•) prilikom čega dolazi do inaktivacije slobodnih radikala.



2. Slobodni radikal antioksidansa ($A\bullet$) se veže na slobodni radikal peroksida ($ROO\bullet$) ili masne kiseline ($R\bullet$) i time dolazi do hvatanja slobodnih radikala.



Ove dvije reakcije prekidaju lančanu reakciju oksidacije te na taj način produžuju održivost ulja i masti.

Djelovanje pojedinog antioksidansa izražava se pomoću zaštitnog faktora (PF) (protection factor) koji pokazuje koliko se puta povećava održivost ulja dodatkom antioksidanasa.

Izračunava se pomoću formule:

$$PF = IP_X / IP_K \quad (1)$$

IP_X -indukcijski period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa (h)

IP_K -indukcijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h)

Indukcijski period (IP) predstavlja broj sati potrebnih da ulje dosegne peroksidni broj od 5 mmolO₂/kg (Bandoniene i sur., 2000). Što je indukcijski period dulji, ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost.

S obzirom na podrijetlo, antioksidansi mogu biti prirodni i sintetski. U prirodne antioksidanse se ubrajaju tokoferoli, karotenoidi, flavanoidi, izoflavoni, vitamini A, C i E, likopen i lutein, minerali selen i cink i sve začinske biljke koje sadrže spojeve koji djeluju kao antioksidansi. U sintetske antioksidanse se ubrajaju propil galat (E 310), octil galat (E 311), dodecil galat (E 312), tercijalni butil hidrokinon (E 319), butilirani hidroksianisol (E 320) i butilirani hidroksitoluen (E 321). Prirodni antioksidansi imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje, ali su skuplji od sintetskih koji se iz tog razloga najčešće koriste.

2.4.2. Sinergisti

Kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produljuju njegovo djelovanje. Sinergisti se nazivaju sekundarnim antioksidansima jer ne prevode izravno slobodne radikale u stabilne molekule, nego posredno usporavaju oksidaciju. Dodaju se u jestiva ulja na kraju procesa dezodorizacije. Najčešće korišteni sinergisti su limunska, octena i askorbinska kiselina, lecitin i askorbil palmitat.

Načini djelovanja sinergista:

1. Doniraju antioksidansu vodikov atom i na taj način ga reduciraju i regeneriraju te produljuju njegovo djelovanje,
2. Vežu tragove metala (Fe, Cu), inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
3. Sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida tako što se vežu s radikalom antioksidansa i tako zaustavljaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Postoji više metoda za određivanje stupnja oksidacije ulja, ali niti jedna nije dovoljno precizna. Primjenom više metoda koje daju ukupan sadržaj oksidacijskih promjena možemo dobiti kompletan uvid u stupanj oksidacije ulja (Crapiste i sur., 1999.). Metode koje se primjenjuju su: senzorske, kemijske i fizikalne.

1. Senzorske metode

Senzorske metode određivanja stupnja oksidacije masti i ulja zasnivaju se na određivanju neugodnog, užeglog mirisa i okusa koji se javljaju zbog nastanka razgranatih, sekundarnih produkata oksidacije. Senzorsko (organoleptičko) ocjenjivanje biljnih ulja je važan pokazatelj oksidacijskog stanja ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

2. Kemijske metode

Metode kod kojih se određuju primarni produkti oksidacije (hidroperoksidi) i metode kod kojih se određuju sekundarni produkti oksidacije koji nastaju razgradnjom hidroperoksida.

Peroksidni broj (Pbr)

Određivanje peroksidnog broja je jedna od najprimjenjivanijih metoda za ispitivanje stupnja oksidacije ulja i masti. Peroksidni broj pokazuje količinu hidroperoksida kao primarnih produkata autooksidacije i izražava se u mmol O₂/kg.

Najviše se primjenjuju Lea i Wheeler jodometrijske metode, a zasnivaju se na određivanju količine joda kojeg iz kalij-jodida oslobađaju peroksidi sadržani u ulju i mastima (Gunstone, 2004.). Za određivanje Pbr može se koristiti i kolorimetrijska metoda koja se temelji na oksidaciji željezo (II) soli u željezo (III) soli, odnosno fero oblika soli u feri oblik mijenjanjem intenziteta nastalog obojenja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980., Rade i sur., 2001.).

Rafinirana biljna ulja dobre kvalitete su ona kod kojih Pbr ne prelazi 5 mmol O₂/kg, a hladno prešana i nerafinirana ulja dobre kvalitete su ona kod kojih Pbr ne prelazi 7 mmol O₂/kg. Nakon procesa dezodorizacije Pbr rafiniranih ulja bi trebao iznositi 0 mmol O₂/kg kako bi se ulje moglo skladištiti i čuvati kroz dulji vremenski period (najčešće do 12 mjeseci).

Anisidinski broj (Abr)

Anisidinski broj pokazuje količinu sekundarnih produkata oksidacije (Dimić i Turkulov, 2000.). Koristi za ispitivanje kvalitete sirovih i jestivih ulja jer omogućuje bolju procjenu ulja. Određuje se standardnom metodom ISO 6885, pod nazivom Određivanje anisidinskog broja (ISO, 2006.), a temelji se na reakciji p-anisidina sa višim nezasićenim aldehidima (2,4-dienal i 2-enal) u kiselom mediju, pri čemu nastaju Schiff-ove baze koje apsorbiraju u UV području na valnoj duljini od 330 do 350 nm.

Tiobarbiturni broj (TB)

Kolorimetrijska metoda kod koje određujemo stupanj oksidacije ulja na temelju količine nastalih sekundarnih produkata. Temelji se na reakciji tiobarbiturne kiseline i malondialdehida koji se formirao tijekom oksidacijskog cijepanja višestruko nezasićenih masnih kiselina (Gunstone, 2004.). Rezultat je pojava crvene boje, čiji se intenzitet očitava na 530 nm ili žuta boja, čiji se intenzitet očitava na 450 nm.

Totox broj

Totox broj predstavlja oksidacijsku vrijednost (OV) ulja koja se izračunava iz vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja. Daje dobar pregled količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja.

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

3. Fizikalne metode

Za procjenu stupnja oksidacije biljnih ulja i masti koriste se fizikalne metode prikazane u **Tablici 7.**

Tablica 7. Fizikalne metode i ispitivani parametar za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti (Dimić i Turkulov, 2000.).

| Fizikalne metode | Ispitivani parametar |
|---------------------------|---|
| UV – spektrofotometrija | Konjugirani dieni/trieni |
| IR – spektrofotometrija | Primarni i sekundarni produkti oksidacije |
| NMR (nukl.magn.rezonanca) | Hidroperoksidi i alkoholi |
| Fluorescencija | Karbonilni spojevi i ketoni |
| Plinska kromatografija | Hlapljivi spojevi |
| HPLC | Malonaldehid i sekundarni produkti |
| Indeks refrakcije | Primarni i sekundarni produkti oksidacije |
| Polarografija | Hidroperoksidi |
| Kulometrija | Hidroperoksidi |
| Kolonska kromatografija | Polimeri |

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Poznavanje održivosti posebno je važno kako bi se unaprijed odredilo vrijeme tijekom kojeg se proizvodi mogu čuvati bez promjena kvalitete. Održivost najviše ovisi o vrsti ulja, odnosno o sastavu masnih kiselina zato što polinezasićene masne kiseline oksidiraju puno brže od mononezasićenih i zasićenih masnih kiselina.

Metode koje se primjenjuju za određivanje održivosti zasnivaju se na ubrzanoj oksidaciji ulja pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces. U praksi su najveću primjenu našle metode kod kojih se proces oksidacije ubrzava djelovanjem temperature i zraka. Primjenom ovih metoda može se za nekoliko sati ili dana odrediti održivost ulja. Uzorci se drže na određenoj temperaturi i prati se porast Pbr ili promjena organoleptičkih svojstava (okus i miris). Za održivost ulja uzima se vrijeme u satima ili danima potrebno da ispitivani uzorak dosegne određenu, unaprijed utvrđenu vrijednost Pbr ili da se senzorski utvrdi pojava užeglog okusa i mirisa. Najveću primjenu imaju: Schaal-Oven test, Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) i Rancimat test.

2.6.1. Schaal-Oven test

Ovo je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za određivanje održivosti ulja i masti. Uzorci se drže u sušioniku ili termostatu pri temperaturi od 60°C ili 63 °C i prati se porast peroksidnog broja. Rezultat se izražava kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena,
- vrijeme u danima za koje peroksidni broj dosegne određenu vrijednost,
- vrijeme u danima za koje se senzorskim ispitivanjima utvrdi pojava užeglosti.

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

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

Swift test se provodi tako da se uzorci ulja zagrijavaju na 98 °C i da kroz njih prolazi struja zraka u Swift aparatu. U pravilnim vremenskim intervalima uzimaju se uzorci ulja i mjeri im se peroksidni broj. Uzorci se drže toliko dugo dok se ne dosegne vrijednost peroksidnog broja od maksimalno 5 mmol O₂/kg. Kvalitetna biljna ulja dobre održivosti nakon 8 sati ovog testa trebaju imati vrijednost peroksidnog broja manju od 5 mmol O₂/kg (Rade i sur., 2001.).

2.6.3. Rancimat test

Rancimat test provodi se u Rancimat uređaju, a temelji se na ubrzanom kvarenju biljnih ulja pri povišenim, konstantnim temperaturama (100, 110, 120 °C) i konstantnom protoku zraka kroz uzorak. Indukcijski period se određuje na temelju količine izdvojenih niže molekularnih hlapljivih kiselina. Tijekom procesa autooksidacije ulja, na kraju indukcijskog perioda nastaju znatne količine hlapljivih kiselina. Najveći udio otpada na mravlju kiselinu, a prisutne su još octena, propionska i kapronska kiselina u manjim količinama. Uvođenjem ovih hlapljivih spojeva u deioniziranu vodi i mjerenjem porasta njene provodljivosti, indirektno se prati tijek oksidacije ulja. Količina hlapljivih kiselina određuje se konduktometrijski sa automatskim registriranjem provodljivosti u funkciji vremena. Vrijeme indukcijskog perioda određeno na ovaj način označava se kao indeks održivosti ulja i masti pri određenoj temperaturi. Indukcijski period pokazuje koliko je ulje otporno prema oksidaciji, što je period duži (u satima), oksidacijska stabilnost (održivost) ulja je bolja (Čorbo, 2008.).

2.7. MIKROVALNO ZAGRIJAVANJE

Mikrovalno zagrijavanje temelji se na svojstvu tvari da apsorbira magnetsku energiju i pretvara je u toplinu. Primjenjuje se kao alternativa klasičnom zagrijavanju u različitim procesima prehrambene industrije. Zagrijavanje mikrovalovima ima prednost nad konvencionalnim termičkim postupcima (kondukcija, konvekcija i radijacija) zbog brzine kojom se proces ostvaruje. Konvencionalne metode ovise o polaganom kretanju topline od površine materijala do njegove unutrašnjosti, dok kod mikrovalnog zagrijavanja magnetsko polje zagrijava cijeli materijal istovremeno, a do zagrijavanja dolazi gotovo trenutačno. Ostale prednosti su veća brzina sušenja, jednoliko zagrijavanje materijala, djelotvorna ušteda energije, bolja i brža kontrola zagrijavanja te poboljšana kvaliteta.

Mikrovalovi su elektromagnetski valovi visoke frekvencije (između 300 MHz i 30 GHz), valne duljine od 1 mm do 1 m koji daju energiju molekulama u vodi, ulju i masnoćama te uzrokuju trenje koje proizvodi toplinu. Prijenos topline ovisi o stupnju pobuđenosti molekula u mediju i frekvenciji polja kojem je taj medij izložen, a količina topline ovisi o brzini trenja.

Važnu ulogu kod mikrovalnog zagrijavanja imaju dielektrična svojstva materijala: relativna dielektrična konstanta i relativni gubitak dielektričnosti (Lovrić, 2003.). Relativna dielektrična konstanta je sposobnost materijala da zadržava energiju, a relativni gubitak dielektričnosti je sposobnost materijala da troši, tj. gubi energiju.

Biljna ulja imaju znatno manji faktor gubitka dielektričnosti i upola manju specifičnu toplinu nego voda. Zbog toga će proizvod bogat uljem trebati slabije dovođenje topline za zagrijavanje.

2.7.1. Oksidacijska promjena u biljnim uljima tijekom mikrovalnog zagrijavanja

Tijekom mikrovalnog zagrijavanja u biljnim uljima nastaju različite kemijske promjene, a zbog izlaganja mikrovalovima dolazi i do stvaranja slobodnih radikala. Primjenom mikrovalnog zagrijavanja ulje se izlaže utjecaju visokih temperatura pa može doći do izomerizacije i formiranja trans izomera (Albi i sur., 1997.). Jestiva biljna ulja s visokim udjelom nezasićenih masnih kiselina, a posebno polinezasićenih izrazito su osjetljiva na oksidaciju.

Različita istraživanja provedena su za ispitivanje učinka zagrijavanja mikrovalovima na porast udjela slobodnim masnih kiselina u biljnom ulju. Dokazano je u većini rezultata blagi porast udjela slobodnih masnih kiselina u odnosu na konvencionalne metode zagrijavanja (konvekcija, kondukcija i radijacija). Isto tako, provedena istraživanja pokazuju da se pri mikrovalnom zagrijavanju znatno povećava vrijednost peroksidnog broja.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak istraživanja ovog diplomskog rada je utvrditi kako mikrovalno zagrijavanje pri različitim jačinama zagrijavanja i pri različitim vremenima trajanja zagrijavanja, utječe na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja. Osim toga, praćen je i utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakt ružmarina, nara i zelenog čaja) i sintetskog antioksidanasa (propil galat) na promjenu oksidacijske stabilnosti lješnjakovog ulja.

Primjenom standardnih metoda određeni su početni parametri kvalitete ulja: slobodne masne kiseline, peroksidni broj, voda i netopljive nečistoće.

U ispitivanju je korištena mikrovalna pećnica firme Samsung, model MW 73E.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1 Lješnjakovo ulje

Materijal korišten u ovom radu je hladno prešano lješnjakovo ulje (*Corylus avellana L.*) svježije proizvedeno u laboratoriju Prehrambeno-tehnološkog fakulteta na kolegiju Tehnologija ulja i masti.

3.2.1.2 Antioksidansi

Ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS

Prirodni antioksidans tip OxyLess CS je praškasti ekstrakt listova ružmarina (*Romanurus officinalis L.*), proizveden u firmi Naturex, Francuska. Udio karnosolne kiseline je od 18 do 22%, suhi ekstrakt je od 92 do 98%, a zaštitni faktor (PF) > 12. U ispitivanju je upotrijebljen antioksidans u udjelu 0,2% računato na masu ulja.

Ekstrakt zelenog čaja

Prirodni antioksidans je ekstrakt dobiven iz lišća biljke *Camellia sinensis L.* i u praškastom je obliku. Udio epigalokatehin galata (EGCG) veći je od 45%, a udio kofeina manji je od 0,5%. Udio katehina veći je od 80%, dok je udio ukupnih polifenola veći je od 98%. Proizvođač je firma Naturex, Francuska. U ispitivanju je upotrijebljen antioksidans u udjelu 0,2% računato na masu ulja.

Ekstrakt nara

Ekstrakt nara je praškasti prirodni antioksidans dobiven iz voća nara (*Punica granatum L.*). Udio suhog ekstrakta je veći od 95%, a sadrži više od 10% elagične kiseline. Proizvođač je firma Naturex, Francuska. U ispitivanju je upotrijebljen antioksidans u udjelu od 0,2% računato na masu ulja.

Propil galat

Propil galat je sintetski antioksidans, propilni ester galne kiseline koji je prirodni biljni fenolni spoj. U ispitivanju je upotrijebljen antioksidans u udjelu 0,01% računato na masu ulja.

3.2.2. Metode

3.2.2.1 Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Masti i ulja sadrže određeni udio slobodnih masnih kiselina koje nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triglicerida. Udio SMK ovisi o načinu dobivanja i prerade ulja, samim sirovinama i uvjetima skladištenja, a izražava se kao kiselinski broj, kiselinski stupanj ili % SMK (% oleinske kiseline).

Količina slobodnih masnih kiselina u uzorcima proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja određena je standardnom metodom AOCS 940.28 (1999). U Erlenmayer-ovu tikvicu od 300 mL odvagano je 5 g ulja. Zatim je dodano 50 mL neutralne smjese etera i etanola te je sadržaj promućkan. Nakon toga dodano je nekoliko kapi fenolftaleina te se vršila titracija 0,1%-tnom otopinom NaOH do promjene boje. Udio SMK izražen je kao % oleinske kiseline, a računa se prema formuli:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \times c \times M / 10 \times m \quad (3)$$

gdje je:

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

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

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

m – masa uzorka ulja za ispitivanje (g).

Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja. Njegovo određivanje jedna je od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije ulja. Određuje se standardnom metodom, jodometrijskim određivanjem točke završetka prema zahtjevima norme HRN EN ISO 3960 (HZN, 2007.). Zasniva se na sposobnosti peroksida da oslobode jod iz otopine kalijeva jodida, koji se nakon toga određuje titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata.

U Erlenmayer-ovu tikvicu od 100 mL odvagano je 1 g uzorka. Nakon toga je dodano 10 mL ledene octene kiseline i kloroforma, promješano i zatim dodano 0,2 mL otopine kalijeva jodida. Uzorak se točno jednu minutu homogenizirao nakon čega je dodano 20 mL destilirane vode i 0,5 mL otopine škroba kao indikatora te je odmah titrirano sa 0,1 M otopinom natrijeva tiosulfata.

Peroksidni broj predstavlja broj mL 0,01 M otopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ koja je potrebna za redukciju one količine joda koju oslobodi 1 g ulja iz KI. Računa se prema formuli:

$$\text{Pbr} = (V_1 - V_0) \times 5/m \text{ (mmol O}_2\text{/kg)} \quad (4)$$

gdje je:

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

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

m – masa uzorka ulja (g).

3.2.2.2 Određivanje sastava masnih kiselina

Priprema metilnih estera masnih kiselina provedena je prema normi HRN EN ISO 5509:2004. Odvagano je 200 mg uzorka lješnjakovog ulja u tikvicu od 100 mL te su dodane 2-3 kuglice za vrenje. Dodano je 4 mL 0,5 M NaOH (ili KOH) u metanol. Nakon tog je pipetom dodano 5 mL BF_3 /metanola preko hladila i kuhano još 4 minute. Zatim je pipetom dodano 5 mL heptana preko hladila i kuhano još 2 minute. Nakon toga je tikvica skinuta s hladila i ostavljena sa strane da se ohladi. Dodana je zasićena otopina NaCl kako bi heptan došao u grlo tikvice. Zatim je prebačeno par mililitara gornjeg heptanskog sloja u veću vijalicu te je dodan bezvodni Na_2SO_4 (na vrh žlice) da se osuši i izbistri. Na kraju je 1 mL uzorka prebačen u vijalicu za aparat i postavljen za analizu na GC-FID. Pripravljene metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom kromatografijom prema normi HRN EN ISO 5508:1999. Korišten je

plinski kromatograf 7890B (Agilent Technologies, Lake Forest, SAD) po temperaturnom programu prikazanom u **Tablici 8.**

Metilni esteri masnih kiselina identificirani su usporedbom s vremenima zadržavanja (engl. retention time) 11 metil estera masnih kiselina standardne smjese analizirane pri istim uvjetima. Uz uzorke i standard, pri svakoj analizi korišten je i certificirani referentni materijal, pripremljen i analiziran na isti način kao i uzorci. Rezultat je izražen kao % pojedine masne kiseline u odnosu na ukupno određene masne kiseline. Granica detekcije metode je bila 0,1%. Vrijednost utvrđene u validacijskom postupku za parametar ispitivosti su uspoređivane sa kriterijem definiranim Pravilnikom o provođenju analitičkim metoda i tumačenju rezultata (NN 2/2005.), koji za dokazivanje istinitosti pri udjelu mase > 10 µg/kg može odstupati od -20% do +10% u odnosu na certificiranu vrijednost.

Tablica 8. GC/FID uvjeti za određivanje sastava masnih kiselina

| | |
|--|---|
| Aparat: | Plinski kromatograf AGILENT 7890B s FID detektorom |
| Kolona: | Kapilarna 30 m x 0,25 mm (ID) x 0,25 µm |
| Stacionarna faza: | WAX - Crossbond® Carbowax® polyethylene glycol) |
| Temperaturni program: | Početa temp. kolone: 40 °C Vrijeme zadržavanja: 0.5 min Brzina zagrijavanja: 25 °C/min do 195 °C Brzina zagrijavanja: 3 °C/min do 205 °C Brzina zagrijavanja: 8 °C/min do 230 °C Vrijeme zadržavanja: 12.84 min Vrijeme trajanja metode: 25.998 min |
| Temperatura injektora: | 250 °C |
| Volumen injektora: | 1 µL |
| Ukupni protok plina: | 64.989 mL/min |
| Mod: | Split Split ratio: 30:1 Split flow: 59.99 mL/min Tlak u inletu: 18.22 psi |
| Protok plina: | 2 mL/min |
| Protok plina kroz detektor: | Varijabilan s obzirom na baznu liniju Make up (N ₂): 45mL/min Zrak: 250 mL/min H ₂ : 25 mL/min |
| Temperatura detektora | 250 °C |
| Standard korišten pri validaciji metode kao i pri određivanju uzorka ulja: | Fame mix Repeseed oil (Sigma Aldrich) - 11 parametara |

3.2.2.3 Priprema uzorka za ispitivanje održivosti ulja

U čašice od 100 mL izvaže se po 50 g ulja i zagrijava na magnetnoj miješalici do temperature od 70 °C. Nakon postignute temperature ulju se dodaje određena količina pojedinog antioksidansa (računato na masu ulja). Ulje se nastavlja zagrijavati 30 minuta na temperaturu od 70 do 80 °C uz stalno miješanje. Ulje se zatim presipa u Petrijeve zdjelice promjera 9 cm i stavlja u mikrovalnu pećnicu određene snage i vremena tretiranja. Nakon što se uzorci izvade, izmjeri se temperatura i uzorkuje se 1 g ulja u Erlenmayerovim tikvicama od 100 ml za određivanje Pbr. Uzorci se nakon toga vrte u mikrovalnu na još 5 min tretiranja mikrovalovima te se postupak ponavlja kroz svakih 5 min, narednih 25 min što je ukupno vrijeme ispitivanja održivosti ulja.

3.2.2.4 Mikrovalno zagrijavanje lješnjakovog ulja

Prethodno pripremljeni uzorci, sa i bez dodanog antioksidansa stavljaju se u mikrovalnu pećnicu određene snaga, na određeni vremenski period tretiranja radi utvrđivanja utjecaja mikrovalova na oksidacijsku stabilnost ulja.

Utjecaj mikrovalova na stabilnost ulja:

a) Utjecaj jačine zagrijavanja (snaga uređaja)

Ispitivani uzorak hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa, zagrijava se u mikrovalnoj pećnici pri različitim snagama (180 W, 300 W i 450 W) u konstantnom vremenu trajanja od 5 minuta. Za svaku sljedeću ispitanu snagu koristi se novi uzorak lješnjakovog ulja te se prati njegova otpornost prema oksidacijskom kvarenju.

b) Utjecaj vremena zagrijavanja

Ispitivani uzorak hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa, zagrijava se u mikrovalnoj pećnici u različitim vremenima trajanja zagrijavanja (5, 10, 15, 20 i 25 minuta) pri konstantnoj snazi uređaja od 300 W te se prati njegova otpornost prema oksidacijskom kvarenju.

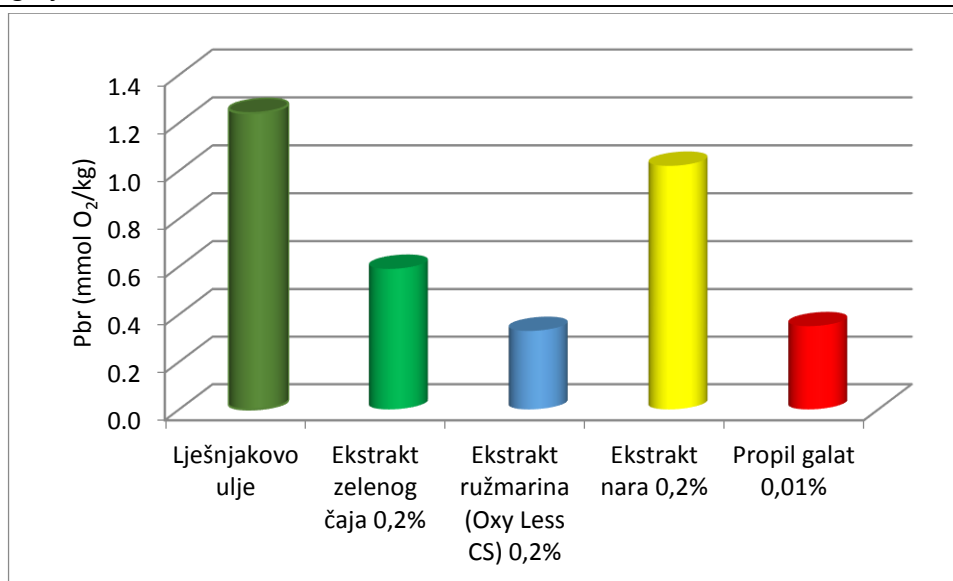
4. REZULTATI

Tablica 9. Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog lješnjakovog ulja

| UZORAK | Lješnjakovo ulje |
|---------------------------------------|------------------|
| Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 |
| SMK (% oleinske kiseline) | 0,42 |
| Anisidinski broj | 3,01 |
| Voda (%) | 0,05 |
| Netopljive nečistoće (%) | 0,42 |
| Totox broj | 3,01 |
| Jodni broj (g J ₂ /100 g) | 91,55 |
| Saponifikacijski broj (mg KOH/g) | 191,46 |

Tablica 10. Utjecaj vremena i temperature mikrovalnog zagrijavanja, kod snage uređaja od 300W, na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa

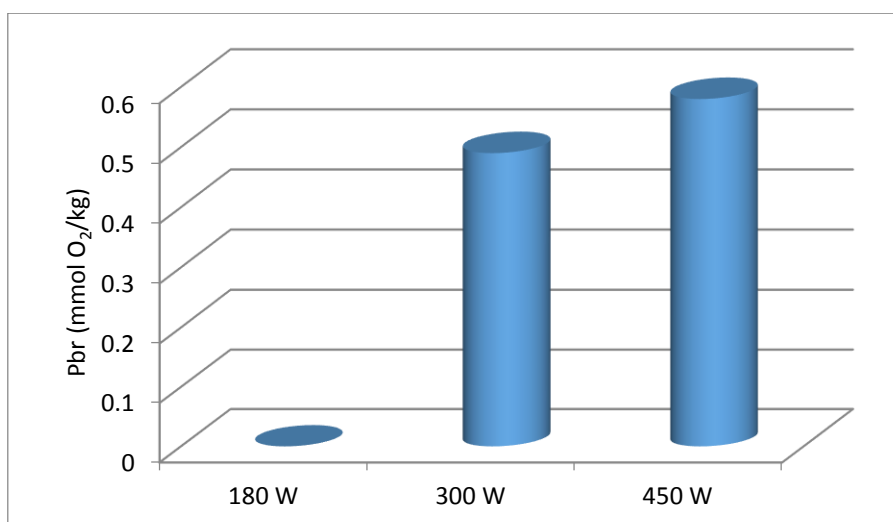
| Uzorci | Koncentracija antioksidansa (%) | | Vrijeme mikrovalnog zagrijavanja (min) | | | | |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--|------|------|------|------|
| | | | 5' | 10' | 15' | 20' | 25' |
| Lješnjakovo ulje | | T (°C) | 90 | 105 | 122 | 129 | 132 |
| | - | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0,24 | 0,49 | 0,63 | 0,93 | 1,24 |
| Ekstrakt zelenog čaja | | T (°C) | 93 | 110 | 123 | 130 | 133 |
| | 0,2% | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0,25 | 0,35 | 0,47 | 0,59 |
| Ekstrakt ružmarina (Oxy'Less CS) | | T (°C) | 91 | 109 | 125 | 131 | 132 |
| | 0,2% | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0 | 0 | 0,23 | 0,33 |
| Ekstrakt nara | | T (°C) | 91 | 109 | 123 | 129 | 133 |
| | 0,2% | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0,25 | 0,25 | 0,45 | 1,02 |
| PG (propil galat) | | T (°C) | 92 | 109 | 124 | 130 | 135 |
| | 0,01% | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0 | 0 | 0,25 | 0,35 |



Slika 6. Utjecaj dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja, kod snage 300 W

Tablica 11. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja, kod 5 min tretiranja, na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa

| Uzorci | Konzentracija antioksidanasa (%) | Snaga mikrovalnog zagrijavanja (W) | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|------|------|
| | | 180W | 300W | 450W |
| Lješnjakovo ulje | T (°C) | 63 | 92 | 104 |
| | Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0,49 | 0,58 |
| Ekstrakt zelenog čaja | T (°C) | 64 | 90 | 112 |
| | 0,2% Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0,25 | 0,55 |
| Ekstrakt ružmarina (Oxy´Less CS) | T (°C) | 66 | 91 | 108 |
| | 0,2% Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0 | 0 |
| Ekstrakt nara | T (°C) | 65 | 91 | 103 |
| | 0,2% Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0 | 0,25 |
| propil galat (PG) | T (°C) | 62 | 89 | 111 |
| | 0,01% Pbr (mmol O ₂ /kg) | 0 | 0 | 0 |



Slika 7. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja nakon 5 minuta tretiranja

Tablica 12. Sastav masnih kiselina hladno prešanog lješnjakovog ulja

| masna kiselina (naziv) | | W(%) (maseni udio pojedine masne kiseline u lješnjakovom ulju) |
|------------------------|----|--|
| Metil miristat | * | 0,23 |
| Metil palmitat | * | 5,47 |
| Metil stearat | * | 2,80 |
| Metil oleat | ** | 83,07 |
| Metil linoleat | ** | 7,90 |
| Metil linolenat | ** | 0,12 |
| Metil arasidat | * | 0,20 |
| Metil eikosenoat | ** | 0,21 |
| Metil behenat | * | 0,00 |
| Metil erukat | ** | 0,00 |
| Metil lignocerat | * | 0,00 |
| Suma | | 100 |
| Suma ZMK | | 8,704 |
| Suma NMK | | 91,296 |

Napomena: Oznake * i ** odnose se na zasićene masne kiseline (ZMK), odnosno nezasićene masne kiseline (NMK).

5. RASPRAVA

Ispitivanje utjecaja mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost ili održivost provedeno je na hladno prešanom lješnjakovom ulju proizvedenom na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku.

U **Tablici 9.** prikazani su osnovni parametri kvalitete hladno prešanog lješnjakovog ulja (peroksidni broj, anisidinski broj, Totox broj, slobodne masne kiseline, udio vode u ulju i netopljive nečistoće). Također, ispitivani su parametri jodni broj i saponifikacijski broj koji predstavljaju karakteristike za identifikaciju ulja.

Dobivene vrijednosti navedenih parametara ukazuju na to da je lješnjakovo ulje odlične kvalitete s obzirom da su vrijednosti u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12).

Peroksidni broj kao pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja ulja ima vrijednost 0 (mmol O₂/kg) što znači da je ulje proizvedeno iz kvalitetne sirovine, jezgre lješnjaka gdje nije došlo do oksidacijskog kvarenja.

Niska vrijednost udjela slobodnih masnih kiselina (%SMK) 0,42% u ulju potvrđuje da nije došlo ni do značajne hidrolitičke razgradnje triglicerida u ulju.

Udio netopljivih nečistoća (0,42%) u ulju predstavlja malo odstupanje od vrijednosti prema Pravilniku max. (0,1%) te je potrebno provesti filtraciju ulja ili produžiti vrijeme sedimentacije.

Također, ispitane su kemijske karakteristike lješnjakovog ulja potrebne za njegovu identifikaciju (jodni i saponifikacijski broj). Izračunata vrijednost za jodni broj je 91,55 (g/100g), a za saponifikacijski broj 191,46 (mg KOH/g) ulja što se podudara sa literaturnim vrijednostima (Dimić, 2005.).

Rezultati ispitivanja utjecaja vremena i temperature mikrovalnog zagrijavanja, kod snage uređaja 300 W, na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodatka antioksidanasa (prirodni i sintetski) prikazani su u **Tablici 10** i na **Slici 6**.

Mikrovalno zagrijavanje lješnjakovog ulja provedeno je u vremenskom periodu od 5 do 25 minuta u intervalima po 5 minuta. Lješnjakovo ulje (kontrolni uzorak) zagrijavano mikrovalovima pokazuje postepeni porast peroksidnog broja (Pbr) tijekom 25 min tretiranja. Početna vrijednost Pbr je 0 (mmol O₂/kg), a nakon 25 min mikrovalnog zagrijavanja dobiveno

je 1,24 (mmol O₂/kg). Tako niska vrijednost Pbr ulja nakon provedbe testa ukazuje na dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju.

Dodatkom ispitivanih antioksidanasa (ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta ružmarina tipa OxyLess CS, ekstrakta nara-udjela 0,2% i propil galata-udjela 0,01%) u lješnjakovo ulje postignut je dodatni porast stabilnosti (održivosti) ulja prema oksidacijskom kvarenju. Primjena ekstrakta ružmarina (tipa OxyLess CS) rezultira većom razinom zaštite lješnjakovog ulja od oksidacije, vrijednost Pbr nakon 25 min mikrovalnog zagrijavanja je 0,33 (mmol O₂/kg), u odnosu na druge ispitivane antioksidanse (**Slika 6**).

Nešto slabija razina zaštite ovog ulja od oksidacije postignuta je dodatkom ekstrakta zelenog čaja, Pbr je 0,59 (mmol O₂/kg) nakon 25 min mikrovalnog zagrijavanja.

Ekstrakt nara, udjela 0,2% također osigurava zaštitu lješnjakovog ulja od oksidacije u ovom ispitivanju, Pbr je na kraju testa 1,02 (mmol O₂/kg).

Korištenjem sintetskog antioksidansa propil galata (0,01%) dobivena je podjednaka razina zaštite ulja od oksidacije uzrokovane mikrovalovima kao i primjena prirodnog ekstrakta ružmarina Oxy Less CS (0,2%). Međutim, danas se iz zdravstvenih razloga preferira primjena prirodnih antioksidanasa (ekstrakti začinskih biljaka) u odnosu na kemijske, sintetske antioksidanse bez obzira što su oni jeftiniji.

U **Tablici 10** vidljivo je da se porastom vremena mikrovalnog zagrijavanja, kod snage 300 W, povećava i temperatura ulja koja ubrzava oksidacijsko kvarenje.

U **Tablici 11** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja snage mikrovalnog zagrijavanja (180 W, 300 W i 450 W), kod 5 minuta tretiranja na promjenu oksidacijske stabilnosti (održivosti) hladno prešanog lješnjakovog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa.

Dobiveni rezultati pokazuju da snaga mikrovalnoga zagrijavanja ima utjecaja na održivost lješnjakovog ulja, porastom snage ubrzava se oksidacija ulja što dovodi do porasta vrijednosti peroksidnog broja i temperature ulja.

Lješnjakovo ulje prije ovog testa imalo je vrijednost Pbr 0 (mmol O₂/kg), a nakon 5 min tretiranja mikrovalovima kod snage 180 W nije došlo do promjene Pbr. Daljnjim porastom snage na 300 W dolazi do porasta temperature ulja čime se ubrzava oksidacija te se povećava Pbr na 0,49 (mmol O₂/kg).

Mikrovalnim zagrijavanjem kod snage 450 W još se povećava temperatura ulja i vrijednost Pbr je 0,58 (mmol O₂/kg) nakon 5 min tretiranja mikrovalovima (**Slika 7**).

Primjenom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (0,2%), kod ovog ispitivanja, pokazalo se da on postiže veću stabilizaciju lješnjakovog ulja tijekom porasta snage mikrovalnog zagrijavanja u odnosu na ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara iste koncentracije.

Nakon mikrovalnog zagrijavanja, kod sve tri snage, vrijednost Pbr je ostala 0 (mmol O₂/kg). Dakle, ekstrakt ružmarina pokazuje odličnu zaštitu ovog ulja od oksidacije u uvjetima ovog testa.

Bolju efikasnost zaštite lješnjakovog ulja pokazuje ekstrakt nara, gdje je vrijednost Pbr 0,25 (mmol O₂/kg) u odnosu na ekstrakt zelenog čaja 0,55 (mmol O₂/kg), nakon zagrijavanja.

Također i kod ovog ispitivanja sintetski antioksidans propil galat (0,01%) pruža odličnu zaštitu ulja od oksidacije kao i ekstrakt ružmarina. Nakon sve tri snage mikrovalnog zagrijavanja lješnjakovog ulja dobivena je vrijednost Pbr 0 (mmol O₂/kg).

U **Tablici 12** je prikazan sastav masnih kiselina hladno prešanog lješnjakovog ulja. Rezultati analize pokazuju da u lješnjakovom ulju dominira mononezasićena oleinska masna kiselina (18:1) u udjelu 83,07% stoga je ovo ulje vrlo stabilno, tj. ima veću otpornost prema oksidacijskom kvarenju u odnosu na ulja gdje dominiraju polinezasićene masne kiseline.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja utjecaja mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost svježe proizvedenog hladno prešanog lješnjakovog ulja mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. Ispitivano hladno prešano lješnjakovo ulje je dobre kvalitete na što ukazuju niske vrijednosti osnovnih parametara kvalitete ulja koje su u skladu s Pravilnikom (NN 41/12).
2. Vrijeme mikrovalnog zagrijavanja (od 5 do 25 min), kod snage uređaja od 300 W, utječe na oksidacijsku stabilnost lješnjakovog ulja. Porastom vremena zagrijavanja ulja mikrovalovima povećava se oksidacija ulja pri čemu raste vrijednost peroksidnog broja.
3. Dodatkom ispitivanih prirodnih antioksidanasa (0,2%) i sintetskog propil galata (0,01%) u ulje postignuta je zaštita lješnjakovog ulja od oksidacije uzrokovane mikrovalnim zagrijavanjem.
4. Ekstrakt ružmarina (tip Oxy Less CS), udjela 0,2%, značajno povećava održivost, otpornost lješnjakovog ulja prema oksidacijskom kvarenju. Nakon 25 min mikrovalnog zagrijavanja dobivena je najniža vrijednost Pbr.
5. Primjenom ekstrakta zelenog čaja (0,2%) postiže se veća razina zaštite lješnjakovog ulja od oksidacije u odnosu na dodatak ekstrakta nara (0,2%).
6. Dodatak sintetskog antioksidansa propil galata (0,01%) osigurava podjednaku efikasnost zaštite lješnjakovog ulja od oksidacije kao i dodatak prirodnog ekstrakta ružmarina (0,2%). Nakon 25 min mikrovalnog zagrijavanja podjednake su vrijednosti Pbr.
7. Snaga mikrovalnog zagrijavanja (180 W, 300 W i 450 W) utječe na promjenu oksidacijske stabilnosti lješnjakovog ulja.
8. Porastom snage uređaja povećava se temperatura ulja i ubrzava oksidacijsko kvarenje te povećava vrijednost Pbr ulja tijekom 5 min tretiranja mikrovalovima.

9. Dodatkom ekstrakta ružmarina (Oxy less CS), udjela 0,2%, postiže se veća stabilizacija lješnjakovog ulja kod porasta snage mikrovalnog zagrijavanja u odnosu na ekstrakt zelenog čaja i nara (0,2%).

10. Veću razinu zaštite lješnjakovog ulja od oksidacije, kod porasta snage uređaja, ostvaruje dodatak ekstrakta nara u odnosu na ekstrakt zelenog čaja.

11. Primjenom sintetskog antioksidansa propil galata (0,01%) dobivena je ista efikasnost zaštite lješnjakovog ulja tijekom porasta snage uređaja kao i sa ekstraktom ružmarina (0,2%).

7. LITERATURA

- Abramović H, Abram H: *Effect of added rosemary extract on oxidative stability of Camelina sativa oil*. Acta agriculturae Slovenica 87 (2): 255-261, 2006.
- Alasalvar C, Shahidi F: *tree nuts: Composition, Phytochemicals and Health Effects*, Tylor & Francis Group, Boca Raton, 2008.
- Albi T, Lanzon A, Guinda A, Leon M, Perez-Camino M.C: *Microwave and conventional heating effects on thermoxidative degradation of edible fats*. Journal of Agricultural Food Chemistry. v.45, n.10, p.3795-3798, 1997.
- Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis P, P.R. and Gruzdiene: *Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil*. Food Res. Int., 33, 2000.
- Bockisch M: *Fats and oils handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Crapiste GH, Bredvan MIV, Carelli AA: *Oxidation of Sunflower Oil during Storage*. J. Am. Oil Chem. Soc., 76, 1437-1443, 1999.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.
- Dimić E: *Hladno ceđena ulja*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad, 2005.
- Dimić E., Turkulov J: *Kontrola kvalitete u tehnologiji jestivih ulja*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2000.
- Dostalova J, Hanzlik P, Eblova Z, & Pokorný J: *Oxidative changes of vegetable oils during microwave heating*. Czech Journal of food Science, 23, 230-239, 2005.
- Eskin NAM, Przybylski R: *Antioxidants and shelf life of foods*. In Eskin NAM, Robinson DS.: Food Shelf Life Stability. CRS press, NY, Washington, 2001.
- Frega N, Mozzon M, Lercker G: *Effect of Free Fatty Acids on Oxidative stability of Vegetable oil*. J Am Oil Chem Soc 76 (3): 325-329, 1999.
- Gazzani G, Vagnarell P, Cuzzoni MT, Mazza P: *Mutagenic activity of the Maillard reaction products of ribose with different amino acids*. Jurnal of Food Science 52 (3): 756-760, 1987.
- Gustone, FD: *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK, 2004.

Gordon MH: The development of oxidative rancidity in food. U Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.). Woodhead Publishing Ltd, 6-21, 2001.

Hraš AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D: *Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil*. Food Chem., 71, 2000.

Hui YH: *Bailey's industrial oil & fat products, Volume 2, Edible oils and fat products: Oils and oil seeds*, Fifth editios, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.

https://sr.wikipedia.org/wiki/Palmitinska_kiselina, 21.06.2015.

<http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>, 21.06.2015.

https://hr.wikipedia.org/wiki/Obi%C4%8Dna_lijeska, 10.07.2015.

Karleskind A: *Oils and fats Manual, Volume 1*, Intercept Ltd, Andover, Hampsire, UK, 1996.

Karlović Đ, Andrić N: *Kontrola kvalitete semena uljarica*, Tehnološki fakultet, Novi sad, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd, 1996.

Klapec T: *Opasnosti vezane uz hranu, kemijske i fizikalne opasnosti*. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2014.

Kole C: *Wild Crops Relatives: Genomic and Breeding Resources, Forest Trees*, Springer-Verlang Berlin Heidelberg, 2011.

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

Lovrić T: *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Hinus Zagreb, 2003.

Madhavi DL: *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives Food Science and Technology*, CRC Press, 1996.

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

- Marcone M: *Analytical Techniques in Food Biochemistry. In Food Biochemistry and Food Processing*. Blackwell Publishing, USA, 2006.
- Martin-Polvillo M, Marquez-Ruiz G, Dobarganes MC: *Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature*. Journal of the American Oil Chemists Society 81: 577-583, 2004.
- McMurry J: *Organic Chemistry, Seventh Edition*. Cornell University, 2008.
- Merill LI, Pike OA, Ogden LV, Dunn ML: *Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils With Added Antioxidants*. J. Am. Oil Chem. Soc., 85, 771-776, 2008.
- Miljković I: *Suvremeno voćarstvo*, nakladni zavod "Znanje", Zagreb, 1991.
- Moslavac T: *Materijali s predavanja na kolegiju "Tehnologija ulja i masti"*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2013.
- Nenadis N, Moutafidou A, Gerasopoulos D, Tsimidou MZ: *Quality characteristic of olive leaf-olive oil preparations*. European Journal of Lipid Science and Technology 112 (12): 1337-1344, 2010.
- Neđeral Nakić S, Rade D, Škevin D, Štrucelj D, Mokrovčak Ž, Bartolić M: *Chemical characteristic of oil from naked and husk seeds of Cucurbita pepo L*. European Journal Lipid Science and Technology 108, 936-943, 2006.
- NN 41/12. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Pravilnik o jestivim uljima i mastima.
- O'Brien RD: *Fats and Oils: Formulating and Processing for Application*, CRC Press, Washington, 2004.
- Odak I: *Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja konoplje*, diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, listopad, 2013.
- Oštrić-Matijašević B, Turkulov J: *Tehnologija ulja i masti*. Tehnološki fakultet, Novi sad, 1980.

Pan Y, Zhang X, Wang H, Liang Y, Zhu J, Li H, Zhang Z, Wu Q: *Antioxidant potential of ethanolic extract of Polygonum cuspidatum and application in peanut oil*. Food Chemistry 105, 2007.

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

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

Rade D, Škevin D: *Maslinovo ulje i zdravlje – važnost maslinovog ulja u prehrani*. Popularni stručni članci iz područja PBN-a, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, 2004.

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

Shi H, Noguchi N, Niki E: *Introducing naturale antioxidants. U Antioxidants in food*. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 147-158, 2001.

Suja, K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S.N., Jayalekshmy, A., Arumughan, C.: *Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection*. Food Chemistry 84: 393-400, 2004.

Stanojević Lj, Stanković M, Nikolić V, Nikolić Lj, Ristić D, Čanadanovic-Brunet J, Tumbas V: *Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of Hieracium pilosella L. Extracts*, Sensors 9, 2009.

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

Topallar H, Bayrak Y, Iscan M: *A Kinetic Study on the Autooxidation of Sunflowerseed Oil*. J. Am. Oil Chem. Soc., 74, 1997.

Volmut K: *Utjecaj propil galata i ekstrakta ružmarina na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja*. Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, specijalistički rad, 2010.

Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: *Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas*. U *Antioxidants in food*. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.

Wetherlit H, Pala M: *Composition of hazelnut and possible implications on helth*, paper in press.

Zlatanov MD, Antova GA: *Lipid composition of nuts from almond, hazelnut and walnut*, Scientific Works HIFFI-Plovdiv, Vol XLIII, Jubilee Scientific conference "DFSTT-98, 1998.