Stabilizacija hladno prešanog ulja kukuruzne klice

Tot, Nikolina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:140064

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

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

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

Nikolina Tot

STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA KUKURUZNE KLICE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje:	Biotehničke znanosti
Znanstveno polje:	Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet:	Tehnologija ulja i masti
Tema rada	je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 21. rujna 2020.
Mentor:	prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Komentor:	doc. dr. sc. *Ante Lončarić*
Pomoć pri izradi:	*Daniela Paulik*, tehnički suradnik

Stabilizacija hladno prešanog ulja kukuruzne klice

Nikolina Tot, 0113140481

Sažetak:
Kukuruz, *Zea mays* L. predstavlja vodeću poljoprivrednu kulturu prema uzgoju u svijetu. Potječe iz Centralnog dijela Meksika. Kukuruzne klice izdvojene iz zrna kukuruza služe za dobivanje ulja. Sastav klice ovisi o postupku izdvajanja te kemijskom sastavu. Ulje kukuruznih klica, zbog dobre oksidacijske stabilnosti, visokog udjela esencijalnih masnih kiselina i tokoferola te dobrih senzorskih svojstava, spada u grupu visokovrijednih nutritivnih ulja. U radu je ispitan utjecaj dodatka sintetskih i prirodnih antioksidansa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja kukuruznih klica. Upotrijebljeni antioksidansi su: ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt koštica grožđa sorte Frankovka, ekstrakt ružmarina, TBHQ, α-tokoferol, mješavina tokoferola, kofeinska kiselina i ružmarinska kiselina. Učinkovitost dodataka navedenih antioksidansa na stabilizaciju ulja određena je SchaalOven testom oksidacijske stabilnosti pri konstantnoj temperaturi 63 °C. Primjenom standardnih metoda određeni su i osnovni parametri kvalitete ulja kukuruznih klica: udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, udio netopljivih nečistoća, udio vlage, saponifikacijski i jodni broj. Dobiveni rezultati ukazuju da sintetski antioksidansi imaju bolju učinkovitost u zaštiti od oksidacijskog kvarenja kod ulja kukuruznih klica u odnosu na prirodne antioksidanse. Najučinkovitiji je sintetski antioksidans TBHQ u usporavanju oksidacijskog kvarenja ulja kukuruznih klica. Od prirodnih antioksidanasa najveću efikasnost zaštite ovog ulja pokazuje ekstrakt ružmarina.

Ključne riječi: hladno prešano ulje kukuruznih klica, antioksidansi, oksidacijska stabilnost

Rad sadrži: 56 stranica
18 slika
10 tablica
44 literaturne reference

Jezik izvornika: Hrvatski

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

1.	doc. dr. sc. *Antun Jozinović*	predsjednik
2.	prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*	član-mentor
3.	doc. dr. sc. *Ante Lončarić*	član-komentor
4.	prof. dr. sc. *Stela Jokić*	zamjena člana

Datum obrane: 19. listopada 2020.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X. held on September 21, 2020.
Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, full prof.
Co-mentor: *Ante Lončarić,* PhD, assistant prof.
Technical assistance: *Daniela Paulik*, technical associate

Stabilization of Cold Pressed Corn Germ Oil

Nikolina Tot, 0113140481

Summary: Corn*, Zea mays* L., presents the leading cultivated crop in the world. It derives from central Mexico. Corn germs separated from corn grain are used for production of oil. Structure of the germ depends on the process of separation and chemical composition. Corn germ oil, because of good oxidation stability, high levels of essential oils, tocopherol and good sensory characteristics, belong to the group of high-value oils. This work examines the influence of adding synthetic and natural antioxidants on the change of oxidation stability of coldpressed corn germ oil. Used antioxidants are: green tea extract, heather tea extract, frankovka grape seed extract, rosemary extract, TBHQ, α-tocopherol, tocopherol mixture, caffein acid and rosemary acid. The efficiency of adding antioxidants on oil stabilization was determined by SchaalOven test of oxidation stability at a constant temperature 63 °C. Using standard methods, basic parameters of corn germ oil quality: percentage of elevated fatty acids, peroxide number, percentage of insoluble impurities, moisture percentage, saponification and iodine number, were determined. The obained results show that synthetic antioxidants have a better efficiency in protection from oxidative deterioration of corn germ oil by comparison with natural antioxidants. The most efficient one in deceleration of oxidative deterioration of maize-germ oil is synthetic antioxidant TBHQ. Of the natural antioxidants, rosemary extract shows greater efficiency in protecting this oil.

Key words: cold pressed corn germ oil, antioxidants, oxidative stability

Thesis contains:
56 pages
18 figures
10 tables
44 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. *Antun Jozinović*, PhD, assistant prof. — chair person
2. *Tihomir Moslavac*, PhD, full prof. — supervisor
3. *Ante Lončarić*, PhD, assistant prof. — co-supervisor
4. *Stela Jokić*, PhD, prof. — stand-in

Defense date: October 19, 2020

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

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
   2.1. SASTAV MASTI I ULJA 4
      2.1.1. Trigliceridi (triacilgliceroli) 5
      2.1.2. Masne kiseline 5
         2.1.2.1. Nezasićene masne kiseline 6
         2.1.2.2. Zasićene masne kiseline 8
      2.1.3. Negliceridni sastojci 10
   2.2. JESTIVA BILJNA ULJA 12
      2.2.1. Kukuruz kao sirovina 14
      2.2.2. Sastav kukuruzne klice i svojstva ulja kukuruzne klice 16
   2.3. VRSTE KVARENJA JESTIVIH BILJNIH ULJA 19
      2.3.1. Kemijski procesi kvarenja 20
      2.3.2. Mikrobiološki i enzimski procesi kvarenja 23
   2.4. STABILIZACIJA JESTIVIH BILJNIH ULJA 25
      2.4.1. Antioksidansi 25
      2.4.2. Sinergisti 27
   2.5. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA 28
      2.5.1. Schaal Oven test ili Oven test 29
      2.5.2. Rancimat test 29
      2.5.3. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) 30
      2.5.4. Test održivosti na 98 °C 30
3. EKSPERIMENTALNI DIO 31
   3.1. ZADATAK 32
   3.2. MATERIJALI I METODE 32
      3.2.1. Materijali 32
      3.2.2. Metode 35
         3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja 35
         3.2.2.2. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja 38

3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja 41
4. REZULTATI 43
5. RASPRAVA 47
6. ZAKLJUČCI 51
7. LITERATURA 53

Popis oznaka, kratica i simbola

-OH	hidroksilna skupina
-COOH	karboksilna skupina
AH	antioksidans
ROO•	slobodni radikal peroksida
R•	slobodni radikal masne kiseline
SMK	slobodne masne kiseline
mmol O_2/kg	milimol aktivnog kisika po kilogramu ulja
AI	antioksidativni indeks
Pbr	peroksidni broj
KI	kalijev jodid
TBHQ	tercijarni butilhidrokinon
$Na_2S_2O_3$	natrijev tiosulfat
NaOH	natrijev hidroksid

1. UVOD

Jestive masti i ulja spadaju u skupinu organskih spojeva koje nazivamo lipidima. Prema podrijetlu, masti i ulja mogu biti životinjskog i biljnog podrijetla. Lipidi predstavljaju skupinu tvari koje su netopljive u vodi, a iz tkiva i stanica mogu se ekstrahirati pomoću nepolarnih organskih otapala.

Prema *Pravilniku o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19) jestiva biljna ulja se definiraju kao proizvodi koji se dobivaju od sjemenki ili plodova biljaka, a sastoje se od triglicerida masnih kiselina, neznatnih količina ostalih lipida, poput voskova, fosfolipida, neosapunjivih tvari, slobodnih masnih kiselina te mono- i diglicerida. Ovisno o tehnološkom postupku proizvodnje, dijele se na: rafinirana, djevičanska i hladno prešana ulja.

Hladno prešano ulje dobiva se postupkom prešanja bez primjene temperature. Nečistoće iz ulja uklanjaju se postupcima sedimentacije i filtracije. Takva ulja ne prolaze proces rafinacije, stoga imaju očuvane sve prirodno prisutne tvari, primjerice vitamine, esencijalne masne kiseline i antioksidanse. Sve ove karakteristike ga čine nutritivno visokovrijednim proizvodom.

Kukuruz, *Zea mays* L. predstavlja vodeću poljoprivrednu kulturu prema uzgoju u svijetu. Potječe iz centralnog dijela Meksika (Moslavac, 2015). Kukuruzne klice izdvojene iz zrna kukuruza služe za dobivanje ulja. Sastav klice ovisi o postupku izdvajanja, a dva su osnovna postupka izdvajanja klice iz zrna: vlažni – mokri postupak (škrobarski postupak) i suhi postupak (mlinarski postupak). Ulje kukuruznih klica, zbog dobre održivosti, odnosno oksidacijske stabilnosti, visokog udjela esencijalnih masnih kiselina i tokoferola, dobrih senzorskih svojstava te malih varijacija u sastavu masnih kiselina, spada u grupu visokovrijednih nutritivnih ulja. Najvažnija odlika kvalitetnog ulja kukuruznih klica je dobra oksidacijska stabilnost u odnosu na druga jestiva ulja.

Oksidacijska stabilnost, odnosno održivost biljnih ulja, predstavlja vremenski period kroz koji se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Održivost ovisi o sastavu masnih kiselina. Razlikujemo više metoda koje se primjenjuju za određivanje održivosti, a zasnivaju se na ubrzanoj oksidaciji ulja ili masti pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces kvarenja. U praksi su najviše primjenjivane one metode kod kojih se proces oksidacije ubrzava djelovanjem topline. Stabilnost ulja poboljšava se prirodnim i sintetskim antioksidansima te sinergistima, a njihovo djelovanje ovisi o koncentraciji, vrsti te uvjetima čuvanja ulja.

Zadatak ovog rada je bio ispitati utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog nerafiniranog ulja kukuruznih klica. Primjenom standardnih metoda ispitani su parametri kvalitete ulja koji su uspoređeni s *Pravilnikom o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19). Utjecaj dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog nerafiniranog ulja kukuruznih klica ispitan je Oven testom pri 63 °C u sušioniku.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SASTAV MASTI I ULJA

Jestive masti i ulja pripadaju skupini organskih spojeva životinjskog i biljnog podrijetla koji se nazivaju lipidima. Lipidi predstavljaju skupinu tvari koje su netopljive u vodi, a iz tkiva i stanica mogu se ekstrahirati pomoću nepolarnih organskih otapala, kao što su heksan, dietil eter, metanol, kloroform i sl. (Pine, 1994). Lipide dijelimo prema sastavu, podrijetlu te agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi.

Podjela prema sastavu lipida:

- jednostavni lipidi: masti i voskovi,
- složeni lipidi: glikolipidi, aminolipidi, sulfolipidi i
- derivati lipida: masne kiseline, masni alkoholi, aldehidi, steroli i dr.

Podjela prema podrijetlu:

- biljni (vegetabilni) lipidi i
- životinjski (animalni) lipidi (Sadadinović, 2008).

Masti i ulja sastavni su dio prehrane ljudi, a spadaju u makronutrijente zajedno s bjelančevinama i ugljikohidratima. Shodno tome, 1 gram masti daje 9 kcal energije (Čorbo, 2008; Ljubisavljević, 1987). Također su važni jer doprinose očuvanju mentalnog zdravlja ljudi te su izvor esencijalnih masnih kiselina.

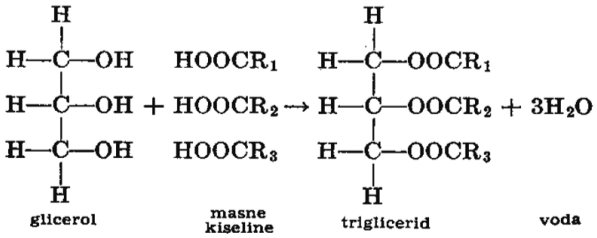
S kemijskog gledišta, masti i ulja predstavljaju u vodi netopljive estere alkohola glicerola i masnih kiselina, tzv. triacilglicerola. U manjoj količinu su prisutni diacilgliceroli, monoacilgliceroli, slobodne masne kiseline te negliceridne komponente u količini od 1 do 3 % (Gunstone, 2013).

Masti i ulja, iako imaju sličan kemijski sastav, razlikuju se prema fizikalnim svojstvima koja uključuju različito agregatno stanju pri sobnoj temperaturi što je povezano s različitim udjelom zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. Ulja imaju veći udio nezasićenih masnih kiselina te se nalaze u tekućem agregatnom stanju, dok masti imaju više zasićenih masnih kiselina te se nalaze u čvrstom agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi. Važno je napomenuti da ulja uz nezasićene masne kiseline sadrže i znatne količine zasićenih masnih kiselina, kao što i masti sadrže znatne količine nezasićenih masnih kiselina (Grün, 2004).

U sastav masti i ulja ubrajaju se trigliceridi (triacilgliceroli), masne kiseline i negliceridni sastojci.

2.1.1. Trigliceridi (triacilgliceroli)

Trigliceridi predstavljaju estere trovalentnog alkohola glicerola i triju istih ili različitih molekula masnih kiselina pri čemu nastaje jedna molekula triacilglicerola i tri molekule vode. Na **Slici 1** prikazana je reakcija nastajanja triacilglicerola.



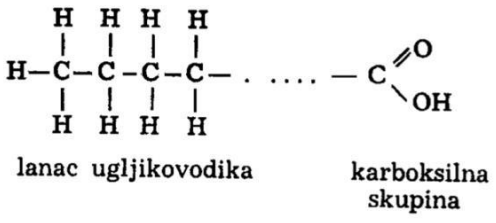
Slika 1 Reakcija nastajanja triacilglicerola (Moslavac, 2015)

Glicerol je bezbojni, kristalno viskozni šećerni alkohol koji se sastoji od tri hidroksilne (-OH) skupine. Obuhvaća 4 – 16 % mase u sastavu neutralnih lipida. Topljiv je u vodi i alkoholu. Razlikujemo jednostavne i mješovite triacilglicerole. Jednostavni triacilgliceroli su sastavljeni od glicerola i tri iste masne kiseline, dok su mješoviti triacilgliceroli sastavljeni od glicerola i tri različite masne kiseline (Čorbo, 2008).

U udjelu od 1 do 3 % masti i biljna ulja sadržavaju monogliceride i digliceride koji se sastoje od jedne ili dvije masne kiseline, te jedne ili dvije slobodne hidroksilne (-OH) skupine. Zbog emulgirajućih svojstava monogliceridi upotrebljavaju se kao emulgatori.

2.1.2. Masne kiseline

Masne kiseline su najčešće ravnolančane molekule koje sadrže 14 – 22 ugljikova atoma (Pine, 1994). Opća formula masnih kiselina je R – COOH, pri čemu R predstavlja ugljikovodični lanac, a COOH karboksilnu skupinu. Na **Slici 2** prikazana je strukturna formula masne kiseline.



Slika 2 Strukturna formula masne kiseline (Moslavac, 2015)

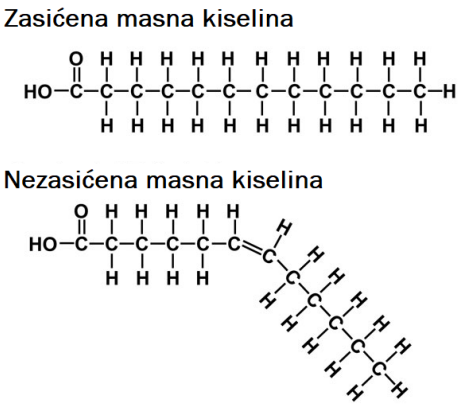
Masne kiseline dijele se s obzirom na broj ugljikovih atoma, stupnju nezasićenosti ugljikovih atoma, kao što je prikazano na **Slici 3**, te prema broju i položaju dvostrukih veza u molekuli.

Podjela s obzirom na broj ugljikovih atoma:

- masne kiseline kratkog lanca (do 8 ugljikovih atoma),
- masne kiseline srednjeg lanca (od 8 do 12 ugljikovih atoma) i
- masne kiseline dugog lanca (više od 12 ugljikovih atoma) (Swern, 1972).

Podjela s obzirom na stupanj nezasićenosti ugljikovih atoma:

- nezasićene masne kiseline – mononezasićene (prisutna je jedna dvostruka veza) i polinezasićene (prisutnost od 2 do 6 dvostrukih veza) i
- zasićene masne kiseline.



Slika 3 Strukturne formule zasićenih i nezasićenih masnih kiselina (Rupčić, 2018)

2.1.2.1. Nezasićene masne kiseline

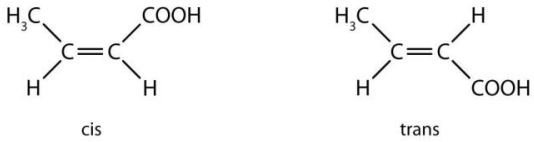
Nezasićene masne kiseline, prikazane u **Tablici 1,** su one masne kiseline koje imaju jednu ili više dvostrukih veza u svom sastavu. Više ih ima u uljima, nego u mastima. Masne kiseline koje imaju 18 ugljikovih atoma i jednu, dvije ili tri dvostruke veze prisutne su u prirodnim mastima i uljima. Općenito, nezasićene masne kiseline su izuzetno nestabilne te lako prelaze u različite strukturne i geometrijske oblike (Swern, 1972). Razlikuju se prema broju dvostrukih veza te prema prostornoj konfiguraciji dijelova molekule s obje strane nezasićene dvostruke veze.

Tablica 1 Najvažnije nezasićene masne kiseline (Moslavac, 2015)

Naziv masne kiseline	Broj C atoma: broj dvostrukih veza	Formula	Podrijetlo
Palmitoleinska	16:1	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$	Maslac, biljne i marinske masti
Oleinska	18:1	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	Sve biljne i životinjske masti
Eruka	22:1	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{11}COOH$	Ulja sjemena krstašica
Linolna	18:2	$CH_3(CH_2)_4CH=CH\cdot CH_2\cdot CH=CH(CH_2)_7COOH$	U većini biljnih i životinjskih masti
Linolenska	18:3	$CH_3CH_2CH=CH\cdot CH_2\cdot CH=CH\cdot CH_2\cdot CH=CH\cdot (CH_2)_7$ COOH	Ulje lana, soje, oraha, konoplje i sl.

Prema broju dvostrukih veza razlikuju se mononezasićene i polinezasiće masne kiseline. Kod mononezasićenih masnih kiselina prisutna je samo jedna dvostruka veza, dok su kod polinezasićenih masnih kiselina prisutne dvije ili više dvostrukih veza (Hoffman, 1989). Zbog jedne dvostruke veze, mononezasićene masne kiseline imaju niže talište od zasićenih masnih kiselina s istim brojem ugljikovih atoma. Shodno tome, gliceridi mononezasićenih masnih kiselina na sobnoj temperaturi nalaze se u tekućem agregatnom stanju (Rac, 1964). Najpoznatije mononezasićene masne kiseline su oleinska i palmitoleinska, a najpoznatije polinezasićene masne kiseline su linolna i linolenska.

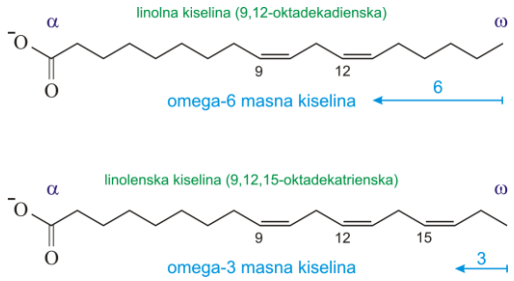
Prema prostornoj konfiguraciji dijelova molekule, s obje strane dvostruke veze, razlikuju se dva geometrijska izomerna oblika prema položaju vodikovog atoma, to su *cis*- i *trans*- oblik. Razlika između *cis* izomernog oblika i *trans* oblika je u tome što se kod *cis* oblika vodikovi atomi nalaze na istoj strani dvostruke veze, a kod *trans* oblika vodikovi atomi nalaze se na suprotnim stranama dvostruke veze, kao što je prikazano na **Slici 4.** Udio *trans* masnih kiselina značajan je za pravilno vođenje procesa hidrogenacije te određivanje kvalitete masti i ulja (Sadadinović, 2008). Industrijskom preradom masnoća nastaje *trans* izomerni oblik, primjerice termičkom obradom, rafinacijom, dezodorizacijom te hidrogenacijom ulja i masti. *Trans* masne kiseline su manje reaktivne od *cis* masnih kiselina (Moslavac, 2015).



Slika 4 Izomerni oblici masnih kiselina (Anadolac, 2020)

Dvostruke veze kod nezasićenih masnih kiselina mogu biti konjugirane ili izolirane. Izolirane dvostruke veze su one koje su razdvojene s metilenskim skupinama, dok se kod konjugiranog oblika dvostruke veze nalaze u susjednim položajima te su one rijetko prisutne u uljima i mastima (Moslavac, 2015).

Esencijalne masne kiseline su one masne kiseline koje naš organizam ne može proizvesti, već ih je potrebno unositi prehranom. Imaju mnoge važne uloge u organizmu, na primjer važan su izvor energije, važne su za normalno funkcioniranje organizma, sastavni su elementi staničnih membrana i lipoproteina krvne plazme, važni su u smanjenju koncentracije triglicerida i kolesterola u krvi te smanjuju pojavu upalnih procesa i rizik od srčanih oboljenja. U esencijalne masne kiseline ubrajamo linolnu i linolensku kiselinu, prikazane na **Slici 5** (Hoffmann, 1989).



Slika 5 Strukturne formule esencijalnih masnih kiselina (Generalić, 2020)

2.1.2.2. Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline su kiseline koje ne sadrže niti jednu dvostruku vezu zbog toga što su na svaki ugljikov atom unutar lanca vezana dva atoma vodika. To znači da su sve veze u sastavu zasićenih masnih kiselina jednostruke (Swern, 1972). U prirodnim uljima i mastima najviše su zastupljene zasićene masne kiseline od 4 do 22 ugljikova atoma, dok su kod voskova zastupljenije one zasićene masne kiseline koje imaju broj ugljikovih atoma od 24 do 26. Što je veći broj ugljikovih atoma u ugljikovodičnom lancu tada konzistencija masnih kiselina

prelazi iz tekućeg u čvrsto stanje, a masne kiseline s najvećim brojem ugljikovih atoma imaju sličnu konzistenciju, kao voskovi. Porastom dužine lanca povećava se vrelište, točka topljenja i refrakcijski indeks, a smanjuju se gustoća i topljivost masti u vodi (Hoffmann, 1989).

U **Tablici 2** prikazane su neke od najznačajnijih zasićenih masnih kiselina. Najzastupljenije zasićene masne kiselinu u mastima i uljima su: stearinska, palmitinska, laurinska i miristinska masna kiselina. U mliječnoj masti dominiraju niže masne kiseline s 4 – 10 ugljikovih atoma (Moslavac, 2015).

Tablica 2 Najvažnije zasićene masne kiseline

Naziv masne kiseline	Broj C atoma	Formula	Podrijetlo
Maslačna	4	$CH_3(CH_2)_2COOH$	Maslac
Kapronska	6	$CH_3(CH_2)_4COOH$	Maslac, kokosova mast
Kaprilna	8	$CH_3(CH_2)_6COOH$	Maslac, masti kokosa, palmi i sjemenja uljarica
Kaprinska	10	$CH_3(CH_2)_8COOH$	Maslac, kokosova i kitova mast
Laurinska	12	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	Sjemenke masti iz porodica lovora i palmi, mliječne masti
Miristinska	14	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	Većina životinjskih i biljnih masti
Palmitinska	16	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	Sve životinjske i biljne masti
Stearinska	18	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	Tamo gdje je prisutna palmitinska kiselina
Arahinska	20	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	Arašidovo i riblje ulje
Behenska	22	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$	Arašidovo, repičino i gorušićino ulje
Lignocerinska	24	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	Arašidovo ulje, u malim količinama u životinjskim mastima
Cerotinska	26	$CH_3(CH_2)_{24}COOH$	Pčelinji i drugi voskovi

2.1.3. Negliceridni sastojci

Negliceridni sastojci prisutni su u uljima i mastima u malom udjelu, od 1 do 2 %. Izuzetak su neka biljna ulja, poput ulja soje i ulja pamuka jer sadrže od 3,5 do 4 % negliceridnih sastojaka. Negliceridni sastojci su: tokoferoli, karotenoidi, liposolubilni vitamini, steroli, fosfatidi, pigmenti, voskovi, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi i ketoni te tragovi metala (Moslavac, 2015). Uklanjaju se većinom obradom s vodom i rafinacijom. Uklanjanje nepoželjnih negliceridnih sastojaka je važno zbog toga što smanjuju kvalitetu ulja, primjerice uklanjanje tragova metala i voskova. Nasuprot tomu, postoje i poželjni negliceridni sastojci, kao što su liposolubilni vitamini, tokoferoli i karotenoidi koje je potrebno maksimalno sačuvati tijekom prerade ulja (O'Brien, 2004; Moslavac, 2015).

Liposolubilni vitamini su poželjni negliceridni sastojci. To su vitamini skupine A, D, E i K. Topljivi su u mastima i uljima. Vitamini skupine A i D prisutni su samo u životinjskim mastima, odnosno u maslacu i ulju jetre nekih riba, dok su vitamini skupine K prisutni u sjemenkama soje i konoplje.

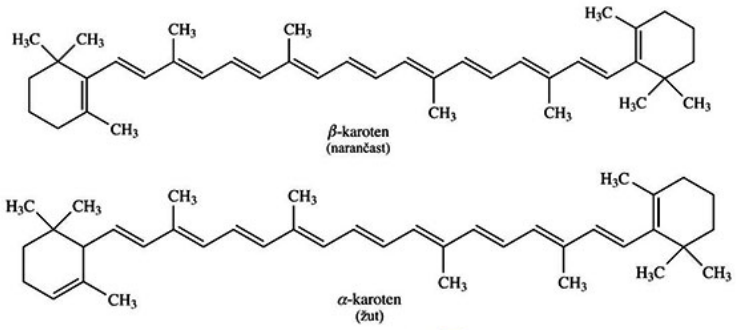
Tokoferoli su također poželjni negliceridni sastojci. Biljna ulja sadrže više tokoferola. Razlikujemo α-, β-, γ- i δ- tokoferol. Imaju antioksidacijsko djelovanje, odnosno predstavljaju prirodne antioksidanse fenolnog tipa koji usporavaju proces oksidacije ulja i masti te blokiraju štetno djelovanje slobodnih radikala. Ulje kukuruznih klica ima visok udio ukupnih tokoferola u γ-formi do 79 %, dok sojino ulje ima 63 % γ-forme, a suncokretovo ulje 96 % α-forme (Moslavac, 2015). U **Tablici 3,** koja prikazuje biološki aktivitet i antioksidacijsko djelovanje najvažnijih tokoferola, vidljivo je da najbolje vitaminsko djelovanje ima α-tokoferol, a najbolje antioksidacijsko djelovanje δ-tokoferol. Sadržaj tokoferola je manji u uljima dobivenim ekstrakcijom, a veći u uljima dobivenim prešanjem.

Tablica 3 Biološki aktivitet i antioksidacijsko djelovanje tokoferola (Moslavac, 2015)

Naziv tokoferola	Biološki aktivitet/Vitaminsko djelovanje	Antioksidacijsko djelovanje
α-tokoferol	100	100
β-tokoferol	33	110
γ-tokoferol	1	160
δ-tokoferol	1	170

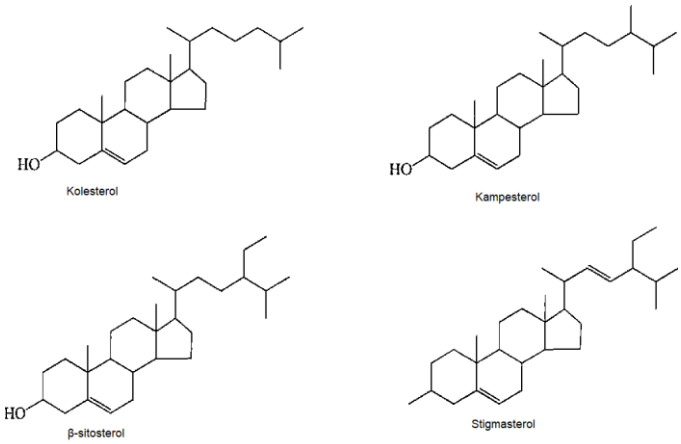
Karotenoidi spadaju u poželjne negliceridne sastojke. Vrlo su rasprostranjena skupina pigmenata u biljnim uljima i mastima te su odgovorni za nijanse boje od žute do crvene.

Najzastupljeniji su u palminom ulju, ulju kukuruznih klica i suncokretovom ulju. Najpoznatiji karotenoidi u uljima i mastima su α- i β-karoteni, prikazani na **Slici 6.** Važni su zbog provitaminskog djelovanje, antioksidacijskog djelovanja te poboljšavanju imunološkog sustava i zaštiti od UV zračenja. Karoteni su vrlo nestabilni zbog visokog stupnja nezasićenosti pa se tijekom oksidacije i termičke obrade njihova struktura narušava, pri čemu dolazi do gubitka kromogenih svojstava (Moslavac, 2015).



Slika 6 Strukturne formule α-karotena i β-karotena (Bukan, 2016)

Steroli predstavljaju visokomolekularne cikličke alkohole, derivate ciklopentanofenantrena. Na **Slici 7** prikazani su neki od značajnijih sterola. Postoje zoosteroli i fitosteroli. Zoosteroli su podrijetlom iz životinjskih masti, a najvažniji predstavnik je kolesterol. Fitosteroli su podrijetlom iz biljnih ulja, a to su β-sitosterol, stigmasterol, brasikasterol i kampesterol. Količina i vrsta sterola je važna za identifikaciju ulja (Moslavac, 2015).



Slika 7 Strukturne formule značajnijih sterola (Alqarni, 2015)

Fosfatidi su nepoželjni negliceridni sastojci koji uzrokuju potamnjivanje ulja te smanjuju rok trajanja ulja. Sastoje se od polivalentnog alkohola glicerola na koji su povezane masne kiseline te fosforna kiselina esterificirana baznom amino skupinom. Fosfatidi koji se nalaze u biljnim

uljima su: lecitin, kefalin i inozitol. U sojinom ulju nalazi se najviše fosfatida, a u sezamovom ulju najmanje. U ulju kukuruzne klice nalaze se u udjelu od 1,0 do 2,0 % (Moslavac, 2015).

Pigmenti predstavljaju poželjne negliceridne sastojke i daju uljima karakterističnu boju za sirovinu od koje se dobiva ulje. Najvažniji predstavnik je klorofil, pigment zelene boje koji se nalazi u sojinom, konopljinom, maslinovom ulju i drugim sličnim uljima. Djelomično se uklanjaju rafinacijom u svrhu dobivanja svijetlo – žute boje koja je važna kod potrošača tijekom kupnje (Čorbo, 2008; Moslavac, 2015).

Voskovi su ceridi, odnosno esteri viših masnih kiselina i viših masnih alkohola. Predstavljaju netopljive spojeve u vodi i prisutni su u uljima u udjelu do 0,15 %. Nalaze se posebice u biljnim uljima, kao što je suncokretovo ulje te ulje kukuruznih klica. Uklanjaju se procesom vinterizacije koji obuhvaća kristalizaciju i filtraciju voskova (Moslavac, 2015).

Najvažniji predstavnici glikozida su sezamol, prisutan u sezamovom ulju, te sinalbin, prisutan u ulju gorušice. Sezamovo ulje, zbog antioksidacijskih svojstava sezamola, otpornije je na oksidacijsko kvarenje (Moslavac, 2015).

Zasićeni i nezasićeni alifatski ugljikovodici prisutni su u malom udjelu u uljima i mastima. Imaju neparan broj ugljikovih atoma te mogu imati nerazgranatu ili razgranatu strukturu. U maslinovom ulju prirodno prisutan je skvalen koji služi za dokazivanje krivotvorenja ulja (Bockish, 1998).

Najprisutniji masni alkoholi su: cetil, stearil, oleil, miricil i butil alkohol. Nalaze se u manjim količinama u nekolicini masti.

Aldehidi i ketoni predstavljaju produkte u razgradnji masnih kiselina. Neugodan užegao okus i miris posljedica je prisutnosti aldehid i ketona, zbog oksidacije masti i ulja, te samim time ukazuje na smanjenje kvalitete ulja (Čorbo, 2013).

U sirovom ulju mogu biti prisutni tragovi metala ako ih biljka apsorbira tijekom rasta, ali također se mogu pronaći i u rafiniranom ulju gdje dospijevaju tijekom proizvodnog procesa. Najštetniji metali su: željezo, nikal, bakar i mangan. Oni dovode do ubrzanja procesa oksidacije. Uklanjaju se dekoloracijom primjenom aktivne zemlje, a moguće ih je ukloniti i primjenom kelatnih spojeva, poput fosforne i limunske kiseline (O'Brien, 2004).

2.2. JESTIVA BILJNA ULJA

Prema *Pravilniku o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19) jestiva biljna ulja definiraju se kao proizvodi koji se dobivaju od sjemenki ili plodova biljaka, a sastoje se od triglicerida masnih

kiselina, neznatnih količina ostalih lipida poput voskova, fosfolipida, neosapunjivih tvari, slobodnih masnih kiselina te mono- i digliceride (negliceridni sastojci).

Ovisno o tehnološkom postupku proizvodnje, dijele se u sljedeće kategorije:

1) rafinirana ulja,
2) djevičanska ulja i
3) hladno prešana ulja.

Postupkom rafinacije jedne ili više vrsta sirovih ulja nastaje rafinirano ulje, a na tržište se stavlja pod nazivom:

- „ulje“ nadopunjeno nazivom biljne vrste za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne vrste sirovog ulja biljnog podrijetla ili
- „biljno ulje“ za ulje dobiveno postupkom miješanja i rafinacije jedne vrste sirovog ulja biljnog podrijetla uz navođenje popisa sastojaka (NN 11/19).

Rafinirana ulja moraju zadovoljiti nekoliko fizikalno - kemijskih svojstava, a ta svojstva uključuju da je ulje: pri 20 °C tekuće, bistro i karakteristične boje; neutralnog do karakterističnog mirisa i okusa, bez stranog ili užeglog mirisa; ne smiju sadržavati više od 0,3 % slobodnih masnih kiselina; peroksidni broj im ne smije biti veći od 5 mmol O_2/kg ulja; ne smiju sadržavati više od 0,2 % vode i hlapljivih tvari na temperaturi od 105 °C te ne smiju sadržavati više od 0,05 % netopljivih nečistoća.

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

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz sirovina mehaničkim postupcima, poput prešanja, ali za razliku od djevičanskog ulja kod hladno prešanog ulja ne primjenjuje se toplina. Postupci čišćenja podrazumijevaju prethodno navedeno kod djevičanskog ulja (NN 11/19).

Djevičansko i hladno prešano ulje na tržište se plasira pod nazivom: „ulje“ nadopunjeno nazivom biljne vrste, a uz naziv ulja obavezno je navođenje „djevičansko“, odnosno „hladno prešano“. Djevičansko i hladno prešano ulje moraju zadovoljiti nekoliko fizikalno – kemijskih svojstava, a ta svojstva su da ulje: mora imati karakterističnu boju, miris i okus karakterističan za vrstu sjemena ili plodova, bez stranog ili užeglog mirisa i okusa; ne smiju sadržavati više od 2 % slobodnih masnih kiselina; peroksidni broj im ne smije biti veći od 7mmol O_2/kg; ne smiju sadržavati više od 0,4 % vode i hlapljivih tvari na temperaturi od 105 °C; ne smiju sadržavati više od 0,05 % netopljivih nečistoća te hladno prešano ulje ne smije sadržavati više od 0,15 mg/kg stigmastadiena (NN 11/19).

Ulje se dobiva preradom uljarica. Uljarice su biljke koje se uzgajaju isključivo radi proizvodnje ulja, a većina ih ulje sadrži u plodu ili sjemenki. Danas je poznato oko stotinjak uljarica. Od toga za proizvodnju ulja i masti upotrebljava se tek mali broj uljarica koje sadrže od 15 do 70 % ulja, a ostale imaju ulje u manjoj količini. Sirovina za proizvodnju ulja mora zadovoljiti nekoliko kriterija, a to su da: biljka mora biti pogoda za masovnu proizvodnju te moraju imati minimalan sadržaj ulja koji će omogućiti njihovo ekonomsko i racionalno izdvajanje (Dimić, 2005).

Za proizvodnju ulja upotrebljavaju se različiti dijelovi biljke:

- plod (maslina, palma),
- dijelovi ploda (kopra),
- sjemenke sa ljuskom ploda (mahuna soje, kikirikija i dr.),
- sjeme na samoj jezgri (suncokret, sjeme bundeve) i
- klice (kukuruzna, pšenična i dr.) (Rac, 1964; Sadadinović, 2008).

Ulja se dijele prema dijelu biljke koji se upotrebljava za dobivanje ulja, podrijetlu same biljke te prema udjelu prevladavajuće masne kiseline.

1) Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda:
    a) ulje avokada,
    b) maslinovo ulje i
    c) palmino ulje.
2) Ulja i masti iz sjemena ploda prema prevladavajućim masnim kiselinama:
    a) ulja oleinske i linolne kiseline (ulje kukuruzne klice, suncokretovo ulje, sezamovo ulje i dr.),
    b) ulja linolenske kiseline (sojino ulje, laneno ulje, konopljino ulje i dr.),
    c) ulja palmitinske kiseline (pamukovo ulje, palmino ulje i dr.),
    d) laurinske masti i ulja (uljana palma, kokosov orah i dr.) i
    e) masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao maslac, shea maslac i dr.).
3) Ulja prema podrijetlu biljke:
    a) ulja iz leguminoza (ulje kikirikija, sojino ulje i dr.) i
    b) ulja krstašica (ulje repice i dr.) (Čorbo, 2008).

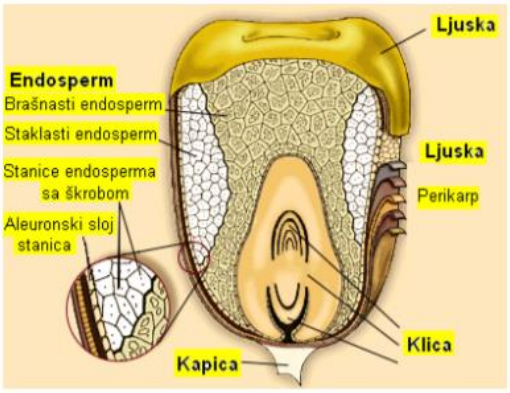
2.2.1. Kukuruz kao sirovina

Kukuruz, *Zea mays* L., predstavlja vodeću poljoprivrednu kulturu prema uzgoju u svijetu. Potječe iz centralnog dijela Meksika, a nakon otkrića američkog kontinenta prenesen je u Europu te na ostale kontinente svijeta gdje dolazi do širenja uzgoja u cijelom svijetu. Njegov

uzgoj diljem svijeta omogućuje mu njegova različita duljina vegetacije, raznolika mogućnost primjene i prilagodbe u lošijim klimatskim uvjetima te uzgoj na lošijim tlima (Gagro, 1997).

Kukuruz predstavlja najkrupniju žitaricu koja ima specifičnu morfološku građu (Zovkić, 1981). Sastoji se od korijena, stabljike, lista, cvijeta (cvata) i ploda (zrna).

Plod kukuruza, prikazan na **Slici 8,** je zrno koje se sastoji od omotača, sjemene ljuske, endosperma i klice. Unutrašnjost zrna štiti omotač ploda u kojem je smješten i pigment. Između sjemene ljuske i ploda nalazi se tanki aleuronski sloj koji sadrži bjelančevine, vitamine i ulja. Najveći dio zrna obuhvaća endosperm koji se nalazi ispod perikarpa i sjemenog omotača. Endosperm čini 80 % zrna, dok 7 % zauzima ljuska te oko 7 do 10 % klica (Gagro, 1997). Endosperm je sastavljen najvećim dijelom od škroba, a na donjoj strani zrna nalazi se klica.



Slika 8 Dijelovi zrna kukuruza (Babić, 2017)

Klica se sastoji od primarnog korijena i primarne stabljike. Primarna stabiljika je građena od pet do šest kratkih internodija, a na svakom nodiju nalazi se po jedan list. Prvi list se nalazi između klice i endoserma te mu je zadaća propuštanje hrane prema klici koja se djelovanjem enzima razgrađuje. Drugi list služi kao omotač primarne stabljike koji tijekom nicanja koloptila pukne te prvi listić izbija van (Pospišil, 2010).

Kukuruz se ponajprije upotrebljava kao stočna hrana ili služi za proizvodnju mnogobrojnih prehrambenih proizvoda. On ne predstavlja tipičnu uljaricu, ali svjetska proizvodnja ulja kukuruzne klice doseže 1,5 miliona tona na godinu. Zrno kukuruza u odnosu na ostale žitarice ima veće količina ulja, a u odnosu na uljarice ima malu količinu ulja, točnije taj udio se kreće od 3,5 do 7 %. Raznim selekcijama nastaju modificirani visokouljni hibridi koji imaju veći udio i bolju kvalitetu ulja (Moslavac, 2015).

Američke sorte porastom udjela klice u zrnu kukuruza imaju i do 20 % ulja, dok naše sorte visokouljnih hibrida imaju preko 12 % ulja u zrnu kukuruza. U **Tablici 4** prikazan je raspored ulja u kukuruznom zrnu.

Tablica 4 Raspored ulja u kukuruznom zrnu (Moslavac, 2015)

Morfološki dio Maseni udio (%)		Sadržaj ulja (%)		
		U morfološkom dijelu zrna	U cijelom zrnu	Na ukupni sadržaj
Klica	10 – 12	30 – 35	3,6	75,0
Endosperm	75 – 81	1	0,8	16,7
Sjemenka	5 – 7	5 – 6	0,4	8,3
Ukupno	100	–	4,8	100,0

2.2.2. Sastav kukuruzne klice i svojstva ulja kukuruzne klice

Kukuruzna klica izdvojena iz zrna kukuruza služi za dobivanje ulja. Sastav klice ovisi o postupku izdvajanja.

Dva osnovna postupka za izdvajanje klica iz zrna su:

1) vlažni – mokri postupak (škrobarski postupak) i
2) suhi postupak (mlinarski postupak).

Ovisno o načinu izdvajanja i kemijskom sastavu kukuruzne klice, prikazanom u **Tablici 5,** ovi postupci se znatno razlikuju.

Tablica 5 Kemijski sastav kukuruzne klice (Moslavac, 2015)

Pokazatelj	Postupak izdvajanja klice	
	Suhi	Vlažni
Vlaga (%)	8 – 13	1 – 7
Ulje (%)	13 – 24	40 – 60
Proteini (%)	–	13 – 15
Ekstrakcijske tvari (%)	–	–
Sirova vlakna (%)	–	–
Pepeo (%)	–	–

Pri mokrom postupku, odnosno škrobarskom postupku u vodi, topljiva komponenta tijekom močenja zrna kukuruza, izdvaja se iz klice s vodom za močenje te je to razlog zašto ovako dobivena klica ima čak od 2 do 3 puta veću količinu ulja u odnosu na klicu koja se izdvaja suhim postupkom. Klica koja se izdvaja mokrim postupkom nakon izdvajanja se suši ispod 4 % vlage. Preradom klice izdvojene mokrim postupkom dobiva se od 22 do 29 kg ulja po toni kukuruza te je takva klica vrlo osjetljiva, a kvaliteta ulja ovisi o njenoj kvaliteti izdvajanja, sušenja i skladištenja. Prinos klice kod mokrog postupka izdvajanja je od 6 do 8 %. Pri suhom postupku izdvajanja, klica ima veći udio vlage, od 8 do 13 %. Zbog toga se lako kvari i važno ju je stabilizirati (Moslavac, 2015).

Ulje kukuruznih klica zbog dobre održivosti, odnosno oksidacijske stabilnosti, visokog udjela esencijalnih masnih kiselina i tokoferola, dobrih senzorskih svojstava te malih varijacija u sastavu masnih kiselina, spada u grupu visokovrijednih nutritivnih ulja. Najvažnija odlika kvalitetnog ulja kukuruznih klica je dobra oksidacijska stabilnost u odnosu na druga jestiva ulja. Sirovo ulje kukuruzne klice žute je boje (Gunstone, 2002). U **Tablici 6** prikazana su fizikalno – kemijska svojstva ulja kukuruznih klica.

Tablica 6 Fizikalno - kemijska svojstva ulja kukuruznih klica

Pokazatelj	Karleskind, 1996.	Bockisch, 1998.	Wiley, 1996.*	Službeni list SRJ, 1999.
Relativna zapreminska masa				
(20° / voda 20 °C)	0,197 – 0,925	0,910 – 0,925	–	0,917 – 0,925
(25° / voda 25 °C)	–	–	0,9187	–
Indeks refrakcije				
(n^{20}_D)	1,474 – 1,477	–	1,4753	–
(n^{40}_D)	–	1,465 – 1,468	–	1,465 – 1,468
Viskozitet (cP)				
pri 20 °C	55 – 66	–	–	–
pri 40 °C	–	–	30,80	–
pri 60 °C	–	–	18,15	–
Jodni broj (I_2g/100g)	103 – 128	103 – 128**	127 – 133	107 – 135**
Saponifikacijski broj (mgKOH/g)	187 – 195	187 – 195	187 – 193	187 – 195

* tipične vrijednosti za ulje kukuruzne klice podrijetlom iz SAD-a

** jodni broj po Wijsu

Od ukupnih masnih kiselina pet masnih kiselina čine 99,4 % udjela. To su: linolna, oleinska, palmitinska, stearinska i linolenska. Ulje kukuruznih klica koje je proizvedeno u drugim zemljama sadrži manje linolne, a više oleinske kiseline, a sadržaj linolenske je približno jednak. U **Tablici 7** prikazan je sastav masnih kiselina ulja kukuruznih klica.

Tablica 7 Sastav masnih kiselina ulja kukuruznih klica

Masna kiselina	Karleskind, 1996.	Wiley, 1996.	Službeni list SRJ 1999.
Miristinska (C 14:0)	–	< 0,1	ND* - 0,3
Palmitinska (C 16:0)	11,0	8 – 13	8,6 – 16,5
Stearinska (C 18:0)	1,7	1 – 4	ND – 3,3
Oleinska (C 18:1)	25,8	24 – 32	20,0 – 42,2
Linolna (C 18:2)	59,8	55 – 62	39,4 – 65,5
Linolenska (C 18:3)	1,1	< 2	0,5 – 1,5
Arahinska (C 20:0)	–	< 1	0,3 – 0,7
Paulinska (C 20:1)	–	< 0,5	0,2 – 0,4

* nije definirano

Ulje kukuruznih klica sadrži i negliceridne sastojake u količini od 1,3 do 2,3 % te im je količina veća u odnosu na ostala jestiva ulja. Od toga 60 % čine steroli. Sirovo ulje kukuruznih klica ima i velike količine fosfolipida te sadrži i voskove u malim količinama koji su uzrok zamućenja ulja pri nižim temperaturama. U **Tablici 8** prikazan je sastav negliceridnih spojeva u ulju kukuruznih klica.

Tablica 8 Sastav negliceridnih sastojaka u ulju kukuruznih klica

Negliceridni sastojci	Karleskind, 1996.	Službeni list, 1999.
Sadržaj negliceridnih sastojaka (g/kg)	8 – 20	≤ 28
Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg)	8300 – 25500	7950 – 22150
Sastav sterola (% od ukupnih sterola):		
Kolesterol	< 1	0,2 – 0,6
Campesterol	16 – 21	18,6 – 24,1
Stigmasterol	4 – 10	4,3 – 7,7
β-sitosterol	63 – 70	54,8 – 66,6
Δ-5-avenasterol	1 – 9	4,2 – 8,2
Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg)	1130 – 1830	331 – 3716
Sastav tokoferola:	**(%)**	**(mg/kg)**
α-tokoferol	8 – 22	23 – 573
β-tokoferol	< 3	ND – 356
γ-tokoferol	68 – 89	268 – 2468
δ-tokoferol	2 – 7	23 – 75
α-tokotrienol	–	ND – 239
γ-tokotrienol	–	ND – 450
δ-tokotrienol	–	ND – 20
Ugljikovodici (mg/100g)	40	–
Skvalen (mg/100 g)	13 – 24	–

2.3. VRSTE KVARENJA JESTIVIH BILJNIH ULJA

Jestiva biljna ulja sadrže tvari koje inhibiraju oksidacijske promjene i otporna su kraće ili duže vrijeme na proces autooksidacije, ali pod određenim uvjetima javljaju se nepoželjne promjene čime je ograničeno njihovo vrijeme trajnosti te nakon nekog vremena dolazi do njihovog kvarenja. Kada će ono nastupiti ovisi o vrsti sirovine, kemijskom sastavu, uvjetima prerade i skladištenju, neovisno o kojoj vrsti kvarenja je riječ. U konačnici dolazi do promjena organoleptičkih svojstava i nutritivne vrijednosti, uslijed promjene ili gubitka dijela biološki aktivnih tvari, poput esencijalnih masnih kiselina, provitamina, vitamina i drugih tvari u njihovom sastavu, čiji produkti razgradnje uzrokuju neugodan miris i okus ulja. Ulje promijenjene kakvoće ne upotrebljava se u prehrani jer može biti štetno za zdravlje, već se može upotrebljavati u tehničke svrhe. Vrlo bitno je spriječiti kvarenje ulja od samog trenutka ubiranja i skladištenja sjemena sve do proizvodnje i upotrebe ulja praćenjem raznih

parametara. Kvarenje masti je vrlo važno te ono je područje proučavanja i danas (Čorbo, 2008).

Dva osnovna tipa kvarenja biljnih ulja, odnosno negativne promjene ulja, izazvana su kemijskim procesima, kao što su: autooksidacija, termooksidacijske promjene te reverzija; enzimskim i mikrobiološkim procesima koji uključuju hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju (Cvejanov, 1997).

2.3.1. Kemijski procesi kvarenja

Kemijski procesi kvarenja jestivih biljnih ulja uključuju:

- autooksidaciju,
- termookidacijske promjene i
- reverziju.

Autooksidacija

Autooksidacija predstavlja vrstu kvarenja biljnih ulja kod kojih se kisik veže na nezasićene dvostruke veze masnih kiselina. Predstavlja najčešću vrstu kvarenja masti, odnosno ulja. Autooksidacija, ponajprije polinezasićenih masnih kiselina, odvija se zbog izlaganja svjetlu, kisiku i ionima metala. Isto tako, oksidaciju mogu katalizirati enzimi poput lipoksigenaze.

Tri glavne faze lipidne oksidacije su:

1) Inicijacija

Kisik iz zraka djeluje na nezasićene masne kiseline, na metilnim skupinama dolazi do homolitičkog cijenjanja i izdvaja se vodik te nastaje alkil radikal masne kiseline. Nastanak nestabilnog slobodnog radikala masne kiseline uz energiju elektromagnetskog zračenja ili katalizatore primjerice ioni metala.

$$RH \rightarrow R\bullet$$

2) Propagacija

Slobodni radikal masne kiseline reagira s molekularnim kisikom i nastaje peroksilni radikal masne kiseline koji drugoj molekuli masne kiseline „otima“ atom vodika te time započinje lančana reakcija. Nastali hidroperoksidi se mogu fragmentirati u slobodne radikale, primjerice uz prisutnost iona metala.

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

$$ROO\bullet + R_1H \rightarrow ROOH + R_1\bullet$$

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

$$ROOH + Fe^{2+} \rightarrow RO\bullet + OH^- + Fe^{3+}$$

$$ROOH + Fe^{3+} \rightarrow ROO\bullet + H^+ + Fe^{2+}$$

3) Terminacija

Nastaju neradikalni produkti poput alkohola, aldehida, ketona, ugljikovodika, polimera i sl.; međusobnom reakcijom slobodnih radikala ili djelovanjem antioksidansa (Klapec, 2020).

$$R\bullet + R\bullet \rightarrow RR$$

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

$$RO\bullet + R\bullet \rightarrow ROR$$

$$RO\bullet + H\bullet \rightarrow ROH$$

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

$$RO\bullet + A + H^+ \rightarrow ROH + A\bullet$$

Primarni produkti autooksidacije su hidroperoksidi, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom hidroperoksida. To su aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i sl. (Odak, 2013). Neugodan užegao okus i miris uljima daju razgradni produkti čime umanjuju kakvoću ulja. Lančano se nastavlja reakcija oksidacije dok slobodni radikalni ne reagiraju međusobno, stvarajući tako neaktivne te stabilne polimere (Ročak, 2005).

Autooksidacija ovisi o sastavu masti, uvjetima čuvanja te prisutnim sastojcima koji ju mogu ubrzati ili usporiti. Ubrzavaju je prooksidansi, temperatura, svjetlost i tragovi metala (Cu, Fe, Ni).

Porastom temperature dolazi do ubrzanja autooksidacije, a sniženjem temperature do smanjenja, usprkos tome ne može se u potpunosti spriječiti. Zbog toga primjerice masno tkivo užegne nakon određenog vremena, bez obzira što se čuvalo na niskim temperaturama. Pri povišenim temperaturama od 100 ºC dolazi do naglog ubrzanja autooksidacije za 300 puta, ovisno o količini prisutnog kisika. Kod biljnih ulja s visokim sadržajem polinezasićenih kiselina temperatura je od velike važnosti zbog toga što ubrzava djelovanje kisika na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida. Proces se može usporiti čuvanjem na temperaturi od 0 do 4 ºC, u tamnim i hladnim prostorima.

Svjetlost ubrzava reakciju autooksidacije i razgradnju hidroperoksida posebice ona kraće valne duljine < 380 nm te je važno ulja čuvati u tamnim ambalažama i prostorima bez prisutnosti

dnevnog svjetla. Vidljivi dio spektra od velikog je utjecaja na održivost masti i ulja, ali u manjoj mjeri u usporedbi s nižim valnim duljinama.

Ioni metala poput Cu, Fe i Ni su prisutni u malim količinama i imaju prooksidativno djelovanje, što se može spriječiti dodavanjem sinergista primjerice limunske kiseline, lecitina i sl.. Prilikom djelovanja iona metala na hidroperokside dolazi do oksidacije iona metala te stvaranja hidroksil iona i slobodnih radikala. Prooksidativno djelovanje nije jednako kod raznih iona metala, a intenzitet katalitičkog djelovanja metala je: Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al. Negativan utjecaj se sprječava dodavanjem kemijskih spojeva, odnosno inaktivatora metala, koji se vežu na tragove metala stvarajući tako komplekse, koji se nazivaju kelati. Nastaje prstenasta struktura, gdje je metal vezan između dva atoma jedne molekule i tako više ne djeluje katalitički na razgradnju hidroperoksida (Oštrić– Matijašević i Turkulov, 1980).

Termooksidacijske promjene

Pri zagrijavanju masti i ulja na višim temperaturama, odnosno na temperaturama iznad 150 °C uz prisutnost zraka dolazi do termooksidacijskih promjena. Stupanj termooksidacijskih promjena ovisi o vrsti masti ili ulja, temperaturi i dužini zagrijavanja. Pri višim temperaturama osim produkta oksidacije dolazi i do nastanka produkata termooksidacije primjerice nastanak cikličkih masnih kiselina, dimera i polimera masnih kiselina i triglicerida, oksipolimera te ostalih hlapljivih i nehlapljivih spojeva. Do danas je identificirano preko 400 različitih spojeva (Odak, 2013). Do nastanka veće količine produkata termooksidacije dolazi kod većeg stupnja nezasićenosti, pa tako kod ulja s većim sadržajem linolne kiseline stvaranje spojeva nastupa vrlo brzo, već nakon 10 do 20 sati zagrijavanja pri 170 do 180 °C ono više nije upotrebljivo. Zagrijavanjem ulja dolazi do porasta viskoznosti, indeksa refrakcije i specifične težine, porasta udjela slobodnih masnih kiselina, broja osapunjenja, porasta peroksidnog broja i smanjenja jodnog broja. Za utvrđivanje kvalitete ulja tijekom prženja, preporuča se određivanje jodnog broja. Sniženjem jodnog broja (za 5 %) je znak da se takvo biljno ulje ne može koristiti prilikom prženja hrane (Odak, 2013). Kako bi stupanj termooksidativnih promjena ostao što niži, trebaju se koristiti masti bilo biljnog ili animalnog podrijetla ili ulja koja imaju niži sadržaj linolne kiseline primjerice ulje kikirikija. Produkti termooksidacije izrazito su štetni za ljudski organizam te je važno pratiti stupanj ovih promjena i na vrijeme zamijeniti ulje novim, svježim uljem jer namirnice tijekom prženja apsorbiraju od 25 do 40 % masnoće. U nekim zemljama se dodaju aditivi koji značajno usporavaju termooksidativne promjene, a najčešće se koriste silikoni u koncentraciji od 2 ppm. Upotreba aditiva je predmet rasprava, zbog negativnog utjecaja na ljudsko zdravlje Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980).

Reverzija

Reverzija je karakteristično kvarenje za neke vrste biljnih ulja, kod kojih se tijekom kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan okus i miris na sirovu ribu ili travu te on postaje jako izražen kada se ulje zagrijava (Rac, 1964). Tijekom autooksidacije ulja koja sadrže više linolenske kiseline dolazi do reverzije mirisa i okusa. Reverziju je moguće usporiti primjenom djelomične hidrogencije ulja, kako bi se uklonila linolenska kiselina ili dodatkom aditiva koji povećavaju održivost ulja. Također, svjetlost značajno ubrzava oksidacijsko kvarenje ulja, odnosno ubrzava pojavu reverzije pa se preporuča pakiranje u ambalažu koja štiti ulje od utjecaja svjetlosti. Neka istraživanja, poput primjene fluorescentnog testa pokazala su da ulje soje nakon 20 sati ima naglašenu reverziju, dok su organoleptičke promjene kod ulja suncokreta i kukuruzne klice nastupile nakon 100 do 120 sati čuvanja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

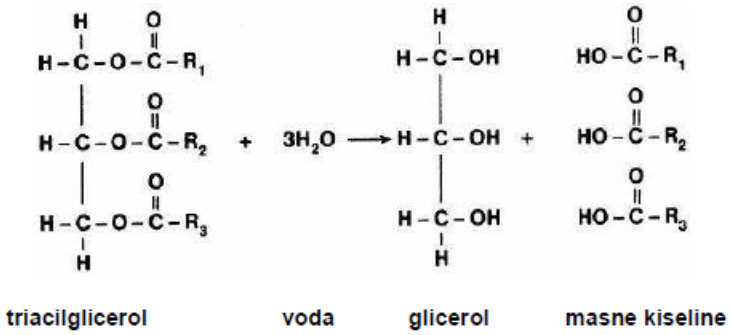
2.3.2. Mikrobiološki i enzimski procesi kvarenja

Za mikrobiološke i enzimske procese kvarenja ulja od velike važnosti je prisutnost enzima ili mikroorganizama te odgovarajući uvjeti kao što su količina vode, pH, optimalna temperatura; sredina za njihov razvoj. Enzimski procesi su karakterističniji za sirovine. Sjeme diše i oslobađa toplinu koja utječe na povišenje temperature koja dalje povećava aktivnost autohtonih enzima. Pravilno skladištenje sjemena i plodava uljarica pri odgovarajućim uvjetima od velike je važnosti kako ne bi došlo do kvarenja.

Procesi koje uzrokuju mikroorganizmi razlikuju se od procesa koji nastaju prilikom djelovanja enzima. Zbog toga što se mikrobiološki procesi odnose na ulja, masti i proizvode koji ih sadrže u nešto većoj količini. Ovi procesi dijele se na hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja ulja prikazana na **Slici 9**, to je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida uz prisutnost vode i enzima lipaze. Ubrzava se uz povišenje temperature. Tijekom hidrolize dolazi do cijepanja esterske veze masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triglicerida što uzrokuje nastajanje slobodnih masnih kiselina.



Slika 9 Hidroliza triglicerida (Čorbo, 2008)

Posljedica je povećanje kiselosti ulja te nastajanje diglicerida, monoglicerida i glicerola.

Optimalna temperature za aktivnost lipaze iznosi 45 °C, a do ubrzanja procesa dolazi pri temperaturama višima od 55 °C, a pri temperaturama višim od 80 °C te nižima od –20 °C dolazi do inaktivacije enzima te se hidrolitička razgradnja zaustavlja (Rade i sur., 2001). Enzimsko kvarenje tipično je za ulja i masti u sirovini, maslacu, margarinu, životinjskom masnom tkivu te u mesnim i mliječnim proizvodima s većim udjelom vode. Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem SMK tj. sadržaja slobodnih masnih kiselina.

β – oksidacija

Ova vrsta kvarenja spada u mikrobiološke procese kvarenja masti i ulja djelovanjem plijesni iz rodova *Aspergillus i Penicillium*, te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtillis.*

β – oksidacija se događa kod ulja ili masti koje u svom sastavu sadrže kiseline dugog ili srednjeg lanca, pri čemu dolazi do pojave užeglog okusa i mirisa, dok neki mikroorganizmi stvaraju i žute, crvene ili plavozelene pigmente te uzrokuju obojenje masti. Uz prisutnost kisika iz zraka, mikroorganizmi „napadaju“ zasićene masne kiseline i to metilensku skupinu u β – položaju prema karboksilnoj skupini, odakle potječe i naziv same reakcije.

Postoje dva produkta β – oksidacije:

- primarni – β – keto kiseline i
- sekundarni – metil ketoni (Rade i sur., 2001).

Iz β – keto kiseline uz prisutnost vode mogu nastati i dvije masne kiseline umjesto metil ketona primjerice maslačna i octena kiselina iz kaprinske kiseline. Posljedice ovog kvarenja su vrlo užegao neugodan miris i okus, a postupcima sprječavanja rasta i razvoja mikroorganizama, odnosno postupkom pasterizacije ili sterilizacije, promjenom pH sredine (≤ 5), dodatkom antioksidansa i konzervansa dolazi do njihovog sprječavanja (Čorbo, 2008).

2.4. STABILIZACIJA JESTIVIH BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost jestivih biljnih ulja ovisi o nizu čimbenika: sastavu masnih kiselina, raspodjeli masnih kiselina u molekuli triglicerida te o prisutnosti različitih komponenti u uljima koji utječu na stabilnost ulja (Shahidi, 2005). Za stabilizaciju masti i ulja koriste se antioksidansi koji mogu biti prirodni i sintetski spojevi te sinergisti kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali produljuju djelovanje antioksidansa do tri puta.

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje u malim koncentracijama, značajno odgađaju ili inhibiraju oksidaciju supstrata (Antolovich i sur., 2001). Primjena antioksidansa potječe od 2. svjetskog rata, kada su se čuvale u rezervi veće količine masti i ulja te je već tada bilo važno povećati održivost odnosno stabilnost. Danas imamo veći broj antioksidanasa koji se koriste u inhibiciji oksidacije, nije bilo lako pronaći spojeve koji zadovoljavaju sve uvjete, kako bi se mogli koristiti u prehrambenim proizvodima. U nekim zemljama je dozvoljena primjena većeg broja antioksidansa, dok neke dozvoljavaju samo primjenu prirodnih antioksidanasa. Da bi se održivost povećala od 3 do 6 puta, dozvoljeno je dodavati sintetske antioksidanse u koncentraciji od 0,005 do 0,02 %.

U manjim količinama antioksidansi se dodaju biljnim uljima, jer biljna ulja sadrže dovoljno prirodno prisutnih antioksidanasa, odnosno sadrže tokoferole i razne fenolne antioksidanse. U velikim količinama antioksidansi mogu izazvati kontraefekt te mogu djelovati prooksidativno. Za razliku od životinjskih masti kojima se dodaju veće količine antioksidanasa, zbog toga što ih ne posjeduju.

Antioksidansi ne mogu regenerirati već oksidiranu mast, nego se dodaju u svježu mast s niskim peroksidnim brojem (< 1 mmol O_2/kg masti), a proces usporavanja autooksidacije traje sve dok se dodani antioksidansi potpuno ne utroše (Sadadinović i sur., 2005).

Antioksidansi sprječavaju inicijaciju autooksidacije, propagaciju autooksidacije, stvaranje singlet kisika, razaranje hidroperoksida na kratkolančane spojeve, stadij u kojem se radikali peroksida i hidroperoksida pregrađuju i daju izomerne spojeve koji ujedno utječu na okus.

Dijelimo ih na osnovu kemijske građe i mehanizmu antioksidacijskog djelovanja. Antioksidansi mogu biti primarni i sekundarni, ovisno o tome na koju fazu procesa oksidacija djeluju. Djelovanje ovisi o vrsti ulja, zbog toga što različita ulja imaju različit sastav masnih kiselina kao i različit udio antioksidanasa koji su prirodno prisutni u samom ulju. Učinak djelotvornosti ovisi i o temperaturi (mehanizam nastajanja i razgradnje hidroperoksida) te o primijenjenoj metodi

jer jedna metoda određuje primarne, dok druga metoda određuje sekundarne produkte oksidacije (Gunstone, 2004). U primarne antioksidanse se ubrajaju: fenoli, galati, hidrokvinoni, BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), tokoferoli, flavonoidi, askorbati, ekstrakti biljaka i začina, oni antioksidansi koji su nastali procesiranjem. U sekundarne antioksidanse se ubrajaju limunska kiselina, etilendiamin tetra-octena kiselina (EDTA), fosforna kiselina i određene amino kiseline.

Da bi se antioksidansi koristili u ljudskoj prehrani moraju se dobro otapati u mastima i uljima, ne smiju uzrokovati strani okus i miris niti nakon skladištenja, moraju aktivno djelovati u vrlo malim koncentracijama (0,001 do 0,02 %), moraju djelovati na proizvod u kojem se mast nalazi, a ne samo na mast, identificiranje i određivanje antioksidansa mora biti jednostavno i moraju biti ekonomski isplativi (Čorbo, 2008). Antioksidansi se dodaju u hranu kao aditivi i dodjeljuju im se E brojevi od 300 do 340 te je zakonskim propisima određena količina koja se smije dodavati u prehrambene proizvode.

Mehanizam djelovanja antioksidansa

Oštrić – Matijašević i Turkulov (1980) navode u istraživanju da antioksidans sprječava oksidaciju preko dvije reakcije:

1) Antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili slobodni radikal masne kiseline (R•)

   AH + ROO• → A• + ROOH

   AH + R• → RH + A•

2) Slobodni radikal antioksidansa (A•) veže se na slobodni radikal (R•) i (ROO•)

   A• + ROO• → ROOA

   A• + R• → RA

Kod obje reakcije prekida se lančana reakcija oksidacije i na taj način antioksidans produžuje održivost masti. Kod antioksidansa važno je lako otpuštanje vodika i zbog toga je većina antioksidansa fenolnog tipa jer imaju aktivni vodikov atom. Antioksidansi ne vežu kisik, već slobodne radikale, čime sprječavaju autuooksidaciju. Djelovanje antioksidansa izražava se antioksidativnim indeksom (AI) koji pokazuje koliko je puta povećana održivost neke masti njegovom primjenom:

$$(\mathrm{AI}) = \frac{s_2\ (\text{održivost masti s dodanim antioksidansima})}{s_1\ (\text{održivost masti bez dodanog antioksidansa})}$$

Vrste antioksidansa

Za oksidacijsku stabilnost primjenjuju se antioksidansi koji prema podrijetlu mogu biti sintetski i prirodni. Sintetski antioksidansi su znatno jeftiniji od prirodnih. Prirodni antioksidansi imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje u odnosu na sintetske (Bera i sur., 2006). Imaju veću topljivost u uljima i vodi čime je olakšana njihova primjena u prehrambenim proizvodima (Mandić, 2007). Antioksidacijska aktivnost antioksidanasa ovisi o strukturnim svojstvima antioksidansa, temperaturi, svjetlosti, tipu supstrata, fizikalnom stanju sustava te mnogim mikrokomponentama koji djeluju kao prooksidansi ili sinergisti (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001).

U prirodne antioksidanse ubrajamo karotenoide, likopene i lutein, flavonoide i izoflavone, tokole (tokoferole i tokotrienole), askorbinsku kiselinu, minerale selena i cink te ekstrakte začinskog bilja koja sadrže spojeve koji djeluju kao antioksidansi (Odak, 2013). Najznačajniji prirodni antioksidansi su tokoferoli. Kao antioksidansi koriste se i karotenoidi, askorbinska kiselina i u novije vrijeme ekstrakti iz biljnog materijala (voća, povrća, začinskih biljaka poput ružmarina, žalfije/kadulje, zelenog čaja i drugih) koji su bogati izvor polifenola, vitamina C, karotenoida i flavonoida čime povećavaju održivost ulja. Začini kao što su ružmarin imaju dobra antioksidacijska svojstva zbog prisutnih fenolnih spojeva, a takva svojstva zadržavaju i pri visokim temperaturama od 98 do 194 °C. Ružmarin se najviše primjenjuje od prirodnih antioksidansa, jer listići ružmarina sadrže 0,5 – 3 % eteričnog ulja. Antioksidansi ekstrakta ružmarina su diterpenoidi, a najznačajniji su karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina.

Sintetski antioksidansi pripadaju skupini prehrambenih aditiva. Nisu prirodan sastojak hrane već se dobivaju kemijskim putem. U hrvatskoj je upotreba aditiva, antioksidanasa regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima (NN 62/10). U proizvodnji i preradi ulja primjenjuju se butilhidroksianisol (BHA – E320), butilhidroksitoluen (BHT – E321), grupa alkil estera galne kiseline (propil galat – PG – E310, oktil galat – OG – E311, dodecil galat – E312), tercijarni butilhidrokinon (TBHQ – E319) oni predstavljaju sintetske antioksidanse koji se koriste za stabilizaciju sirovih i rafiniranih biljnih ulja (NN 62/10).

Povećanje učinkovitije održivosti biljnih ulja postiže se dodavanjem mješavine antioksidanasa nego samo jedne vrste zbog sinergističkog djelovanja.

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi, koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali produljuju djelovanje antioksidanasa do tri puta. Najviše se koriste u kombinaciji s antioksidansima limunska,

askorbinska, vinska i octena kiselina te lecitin. Čorbo (2008) navodi zakonski reguliranu količinu sinergista koja se dodaje, a iznosi 0,005 do 0,02 %. Nije u potpunosti Razriješeno na koji način sinergisti produžuju djelovanje antioksidanasa, no do sada su utvrđena tri mehanizma djelovanja:

- sprječavaju utjecaj antioksidanasa na razgradnju peroksida, tj. vežu se radikalom antioksidansa i tako onemogućuju njegov utjecaj na razgradnju peroksida,
- predaju atom vodika antioksidansu i time ga regeneriraju te produžuju vrijeme njegova djelovanja i
- vežu tragove metala (Cu, Fe), inaktiviraju ih i time povećavaju njegovo prooksidativno djelovanje.

Sinergisti obuhvaćaju sulfite, askorbinsku kiselinu, eritorbinsku kislinu, polifosfate, vinsku kiselinu, limunsku kiselinu, lecitin, nitrate, aminokiseline, cink, selen, flavonoide, te karotenoide. Nisu svi sinergisti kompatibilni sa svim antioksidansima, važno je to uzeti u obzir prilikom njihove primjene i dodatno ispitati međudjelovanje. Primjerice, za tokoferole dobri sinergisti su askorbinska kiselina, askorbil palmitat i limunska kiselina, koji se uljima dodaju pri završetku procesa dezodorizacije.

2.5. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA

Oksidacijska stabilnost, odnosno održivost biljnih ulja predstavlja vremenski period kroz koji se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Održivost ovisi o vrsti ulja, odnosno o sastavu masnih kiselina jer se polinezasićene masne kiseline oksidiraju brže nego mononezasićene i zasićene masne kiseline. Poznavanje održivosti od velike je važnosti zbog određivanja uvjeta i načina skladištenja te utvrđivanja roka trajanja ulja prilikom čega neće doći do značajne promjene kvalitete. Određivanje održivosti mora se provesti oprezno jer u uljima mogu biti prisutne komponente koje smanjuju održivost (slobodne masne kiseline, ioni metala i sl.) i komponente koje produžavaju održivost (tokoferoli, karotenoidi, fenolne skupine i sl.) ulja. Razlikujemo više metoda koje se primjenjuju za određivanje održivosti, a zasnivaju se na ubrzanoj oksidaciji ulja ili masti pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces kvarenja. U praksi najviše primjenjivane su one metode kod kojih se proces oksidacije ubrzava djelovanjem topline. Provodi se tako da se uzorak u termostatu neko vrijeme izlaže određenoj temperaturi i prati se porast peroksidnog broja ili senzorska svojstva ulja. Niti jedna metoda nije jedinstvena za dobivanje podataka o oksidacijskim promjenama ulja. Zbog toga se koristi

nekoliko metoda koje daju ukupne podatke, odnosno sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Benčić i sur., 2009).

Za određivanje održivosti ulja najviše se primjenjuju sljedeće metode: Schaal-Ovan test/Oven test, Swift test/AOM test (Active Oxygen Method) i Rancimat test. Također, postoji još i test na bazi fluorescentnog svjetla koji određuje perokside i senzorske promjene te metoda apsorpcije kisika kojom se određuje apsorbirani kisik (Dimić i Turkulov, 2000).

2.5.1. Schaal Oven test ili Oven test

Oven test ili Schaal Oven test je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda određivanja oksidacijske stabilnosti ulja ili masti. U sušioniku ili termostatu pri temperaturi od 60 °C do 63 °C uzorci ulja se zagrijavaju te se prati porast peroksidnog broja uzoraka i senzorske promjene koje se događaju u uzorcima.

Rezultat dobiven ovom metodom, može se izraziti na tri načina kao:

- vrijednost peroksidnog broja (Pbr) nakon određenog vremena trajanja testa, primjerice četiri dana,
- broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja (Pbr) i
- vrijeme u danima za koje se organoleptičkim ispitivanjima utvrdi pojava užeglosti (Dimić i Turkulov, 2000).

2.5.2. Rancimat test

Rancimat test se bazira na ubrzanom kvarenju ulja povišenjem temperature i propuhivanjem zraka kroz uzorak. Oksidacijska stabilnost se određuje primjenom Rancimat uređaja, kod novijih uređaja opseg temperature iznosi od 100 ºC do 200 ºC. Mjeri se indukcijski period (IP) na osnovi izdvojenih hlapljivih kiselina koje nastaju prilikom autooksidacije, a u najvećoj količini je prisutna mravlja kiselina. U znatno manjim količinama nastaju octena, propionska, maslačna te kapronska kiselina. Kada se kiseline iz reakcijske posude uvedu u destiliranu vodu dolazi do porasta provodljivosti, koju uređaj automatski registrira u funkciji vremena pa se tako na indirektan način prati tijek oksidacije ulja. IP u satima ukazuje na oksidacijsku otpornost ulja te što je on duži, ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost (Dimić i Turkulov, 2000).

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

Kod primjene Swift ili AOM metode uzorci ulja se zagrijavaju na temperaturu od 97,8 °C te kroz njih prolazi struja zraka u Swift uređaju. Uzorci se uzimaju u određenim vremenskim intervalima i određuje im se peroksidni broj sve dok ne postigne unaprijed određenu vrijednost koja najčešće iznosi 5 mmol O_2/kg. Vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O_2/kg je granica pri kojoj je ulje još uvijek zadovoljavajuće kvalitete. Kvalitetna biljna ulja dobre održivosti nakon 8 sati Swift testa moraju imati vrijednost peroksidnog broja manju od 5 mmol O_2/kg. Metoda je standardizirana i daje ponovljive rezultate, a jedan sat Swift test odgovara približno 20 dana čuvanja ulja na sobnoj temperaturi. U nedostatku Swift aparature primjenjuje se Test održivosti pri 98 °C koji pokazuje dobru korelaciju sa Swift testom (Rade i sur., 2001).

2.5.4. Test održivosti na 98 °C

Kod ove metode uzorci se drže u sušioniku na temperaturi od 98 °C te se svakih sat vremena vade kako bi im se odredila unaprijed određena i utvrđena vrijednost peroksidnog broja (Pbr). Jedan sat provedbe testa održivosti na 98 ˚C odgovara od 10 do 15 dana čuvanja ulja na sobnoj temperaturi. Neodgovarajući uvjeti procesa autooksidacije su nedostatak ovog testa jer pri višim temperaturama proces oksidacije ulja nije isti kao pri sobnoj temperaturi. Rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti ulja primjenom testa održivosti na 98 °C daju mogućnost korištenja za barem približno procijenjenu održivost ulja pri sobnoj temperaturi (Moslavac, 2015).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja kukuruznih klica primjenom Oven testa pri konstantnoj temperaturi od 63 °C tijekom 4 dana provođenja testa. Korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi, odnosno ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt koštica grožđa sorte Frankovka, kofeinska kiselina, ružmarinska kiselina, mješavina tokoferola, α-tokoferol, tercijarni butilhidrokinon i ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance. Primjenom standardnih metoda, određeni su i parametri kvalitete ulja: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, netopljive nečistoće, vlaga te karakteristike za identifikaciju ulja: jodni i saponifikacijski broj.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

Hladno prešano ulje kukuruznih klica

Za ovo istraživanje korišteno je hladno prešano jestivo biljno ulje od kukuruznih klica prikazano na **Slici 10**, pakirano je u plastičnu ambalažu zapremine od 0,5 litara, proizvedeno u Srbiji; proizvođač Uvita d.o.o..



Slika 10 Hladno prešano ulje kukuruznih klica (Autor)

Antioksidansi

Za ispitivanje utjecaja dodanih antioksidanasa na produženje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja kukuruznih klica Oven Testom pri 63 °C pripremljeno je 12 uzoraka. Ispitivan je uzorak bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak), a u ostalih 11 dodano je 9 antioksidanasa pojedinačno ili u kombinaciji, (**Slika 11**).

Ekstrakt zelenog čaja

Proizvodi se iz lišća biljke *Camellia sinesis L.* U čaju se nalaze polifenoli, katehini koji djeluju kao antioksidansi pa zaustavljaju peroksidno djelovanje slobodnih radikala. U ispitivanju ekstrakt zelenog čaja upotrjebljen je u udjelu od 0,25 % pojedinačno i u kombinaciji s kofeinskom kiselinom na masu ulja.

Ekstrakt rtanjskog čaja

Rtanjski čaj (*Satureja Montana* L.) ili primorski vrijesak ubraja se u aromatične ljekovite biljke. Ima antioksidacijsko djelovanje zbog prisustva karvakrola, cimola, fenola i dr. Sadrži eterično ulje (do 2 %), tanine (do 7 %), te se upotrebljava u vidu čaja i praha. U ispitivanju ekstrakt rtanjskog čaja korišten je u udjelu od 0,25 % na masu ulja.

Ekstrakt koštica grožđa Frankovka

U sjemenkama se nalaze visoke koncentracije vitamina E, flavonoida, linolenske kiseline i jak antioksidans resveratrol. U ispitivanju ekstrakt koštica grožđa Frankovke korišten je u udjelu od 0,25 % na masu ulja.

Kofeinska kiselina (Sigma)

Kofeinska kiselina ima dobra antioksidacijska svojstva. U ispitivanju kofeinska kiselina korištena je u udjelu od 0,1 % na masu ulja zajedno s ekstraktom zelenog čaja te zajedno s ekstraktom ružmarina.

Ružmarinska kiselina (Alfa Aesar)

Ružmarinska kiselina ima dobre antioksidacijske, antimutagene, antimikrobne i antiviralne osobine. U ispitivanju ružmarinska kiselina korištena je u udjelu od 0,1 % na masu ulja.

Terc-butilhidrokinon (TBHQ)

TBHQ je učinkovit antioksidans za biljna ulja kao i za proizvode na bazi ulja i masti. Posjeduje dobru topljivost i stabilan je prilikom primjene na visokim temperaturama što ga čini vrlo poželjnim u odnosu na druge antioksidanse. U ispitivanju TBHQ korišten je u udjelu od 0,01 % na masu ulja.

α-tokoferol (KEMIG d.o.o.)

α-tokoferol ili prirodni vitamin E proizveden je u Hrvatskoj. U ispitivanju α-tokoferol je upotrijebljen u udjelu 0,1 % na masu ulja.

Mješavina tokoferola

Mješavina tokoferola je žute do smeđe-crvene boje, bistro, viskozno ulje bez karakterističnog mirisa. Minimalni udio tokoferola je 95 %. Sadrži 0 – 15 % α-tokoferola, manje od 5 % β-tokoferola, 55 – 75 % γ-tokoferola i 20 – 30 % δ-tokoferola. Netopljiv je u vodi, ali je dobro topljiv u lipofilnim otapalima kao što je ulje. U ispitivanju mješavina tokoferola korištena je u udjelu od 0,1 % na masu ulja.

Ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance^{R}OSR (Naturex)

Predstavlja ekstrakt ružmarina u tekućoj formulaciji, dobiven iz *Rosmarinus officinalis* L., udio karnosolne kiseline minimalno 5 %. U ispitivanju je ekstrakt ružmarina korišten u udjelu od 0,25 % na masu ulja u kombinaciji s kofeinskom kiselinom (Benčić i sur., 2009).



Slika 11 Pripremljeni uzorci i korišteni antioksidansi za provođenje Oven testa (Autor)

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Kiselost biljnih ulja nastaje kao posljedica hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima. Kiselost ulja ovisi o upotrjebljenoj sirovini, načinu dobivanja i skladištenja ulja, a izražava se kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj i
- % SMK izražen kao oleinska kiselina.

Udio nastalih slobodnih masnih kiselina u biljnim uljima (**Slika 12**) određen je primjenom standardne metode (ISO 660:1996) koja se temelji na titraciji ulja otopinom natrij-hidroksida. Izvagani uzorak se prelije s neutralnom smjesom etera i etanola te promućka. Zatim se doda nekoliko kapi fenolftaleina koji služi kao indikator i titrira se s 0,1 M otopinom NaOH do promjene boje. Udio SMK se izračunava kao % oleinske kiseline prema jednadžbi:

$$\mathrm{SMK}\ [\ \%\ \text{oleinske kiseline}] = \frac{\mathrm{V} \times \mathrm{c} \times \mathrm{M}}{10 \times \mathrm{m}}$$

gdje je:

V – volumen utrošene otopine NaOH za titraciju uzorka [mL];

c – koncentracija otopine NaOH utrošenog za titraciju [0,1 mol/L];

M – molekularna masa oleinske kiseline [282 g/L];

m – masa uzorka ulja [g].

Određivanje vrijednosti peroksidnog broja (Pbr)

Primarni produkti oksidacije ulja određuju se peroksidnim brojem (**Slika 12**) te predstavlja indikator oksidacijskog kvarenja. U ovom ispitivanju peroksidni broj određen je standardnom jodometrijskom metodom (ISO 3960:2007), a rezultati su izraženi kao mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O_2/kg).

U smjesi ledene octene kiseline i kloroforma uzorak ulja se otopi, promiješa se te mu se doda otopina kalij jodida (KI). Uzorak se jednu minutu miješa rukom nakon čega se razrijedi

prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom. Tako pripremljenom uzorku doda se nekoliko kapi škroba koji predstavlja indikator. Iz otopine kalij jodida oslobađa se jod djelovanjem peroksida, a tako nastali jod se zatim određuje titracijom s natrij-tiosulfatom ($Na_2S_2O_3$). Slijepa proba se provodi na isti način, ali bez ulja. Peroksidni broj predstavlja mL 0,1 M otopine $Na_2S_2O_3$ koji je potreban za redukciju one količine joda koja se oslobodi 1g ulja iz KI.

Peroksidni broj se izračunava:

$$\text{Pbr}\ [\text{mmol}\ O_2/\text{kg}] = \frac{(V_1 - V_0) \times 5}{m}$$

gdje je:

V_1 – volumen otopine $Na_2S_2O_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka [mL];

V_0 – volumen otopine $Na_2S_2O_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepe probe [mL];

m – masa uzorka ulja [g].



Slika 12 Pripremljeni uzorci ulja kukuruznih klica za određivanje Pbr i SMK (Autor)

Određivanje netopljivih nečistoća

Netopljive nečistoće su uglavnom mehaničke nečistoće u ulju, mogu biti mineralne tvari ili organski spojevi koji se ne otapaju u organskim otapalima kao što se otapaju trigliceridi ulja i masti. Najčešće se nalaze u sirovim biljnim uljima, a njihova količina, kao uvjet kvalitete ulja određena je *Pravilnikom o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19). Prema navedenom Pravilniku, maksimalna vrijednost za hladno prešano, rafinirano i djevičansko ulje iznosi 0,05 %, no u ulju dobre kvalitete često je niža od 0,03 %. Udio netopljivih čestica u uzorcima određen je primjenom standardne metode (ISO 663:1992) koja se bazira na tretiranju uzorka određenim organskim otapalom, kao što je n-heksan ili petrol-eter. Dobivena otopina filtrira se kroz stakleni lijevak (**Slika 13**) sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom**.** Netopljivi talog koji zaostaje na filtru suši se do konstantne mase i važe. Udio netopljivih nečistoća u ulju računa se prema jednadžbi:

$$\%\ \text{netopljive nečistoće} = \frac{m_2 - m_1}{m_0 \times 100}$$

gdje je:

m_0 – masa uzorka [g];

m_1 – masa osušenog filter - lijevka [g];

m_2 – masa filter - lijevka s nečistoćama nakon sušenja [g].



Slika 13 Određivanje udjela netopljivih nečistoća u ulju kukuruznih klica (Autor)

Određivanje vlage u ulju

Prisutnost vlage u određenim uvjetima može uzrokovati hidrolitičke promjene, odnosno povećanje udjela SMK, ali i promjene senzorskih karakteristika ulja kao i smanjenje kvalitete ulja uslijed zamućenja. Zbog toga se količina vlage smatra jednim od pokazatelja kvalitete biljnih ulja zajedno s hlapljivim tvarima.

Princip određivanja vlage u ulju temelji se na isparavanju udjela vode i hlapljivih tvari zagrijavanjem u sušioniku pri točno određenoj temperaturi. U prethodno osušenu i izvaganu posudicu izvaže se uzorak, nakon čega se staklena posudica s podignutim poklopcem i uzorkom stavi u sušionik na 103 °C. Nakon 2 sata sušenja posudica se zatvori s poklopcem i stavi se u eksikator na hlađenje do sobne temperature. Nakon hlađenja uzorak se izvaže i ponovno se s podignutim poklopcem stavlja u sušionik 1 sat, hladi i važe. Pri zagrijavanju na 103±2 °C dolazi do gubitka mase (izražen u %), a postupak sušenja se provodi do konstantne mase. Udio vlage u ulju se izračunava prema jednadžbi:

$$\%\ \text{vlage i isparljivih nečistoća} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

gdje je:

m_0 – masa prazne posudice [g];

m_1 – masa posudice s uzorkom prije sušenja [g];

m_2 – masa posudice s uzorkom nakon sušenja [g].

3.2.2.2. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja

Određivanje jodnog broja

Jodni broj ukazuje na nezasićenost masti ili ulja, odnosno na prisutnost nezasićenih veza masnih kiselina u molekuli triglicerida. Jodni broj je količina joda u gramima koja se veže na 100 g ulja ili masti [g/100g].

Metoda određivanja jodnog broja (**Slika 14**) zasniva se na vezanju joda na dvostruke veze masne kiseline te se dobiva uvid u stupanj nezasićenosti ulja ili masti. Veća vrijednost jodnog broja predstavlja prisutnost više nezasićenih masnih kiselina. Na ulje se djeluje smjesom halogena, a nakon adicije se višak halogena određuje titracijom sa natrij tiosulfatom. Uzorak se otopi u kloroformu te se otopini doda otopina jodnog monobromida, promućka, začepi i

ostavi u tamnom prostoru pola sata. Zatim se otopini doda KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda i vrši se titracija s otopinom natrij tiosulfata do pojave žute boje, nakon čega se uzorku dodaje otopina škroba i titrira do nastanka plave boje. Slijepa proba radi se na isti način, ali bez ulja. Jodni broj se izračunava prema formuli:

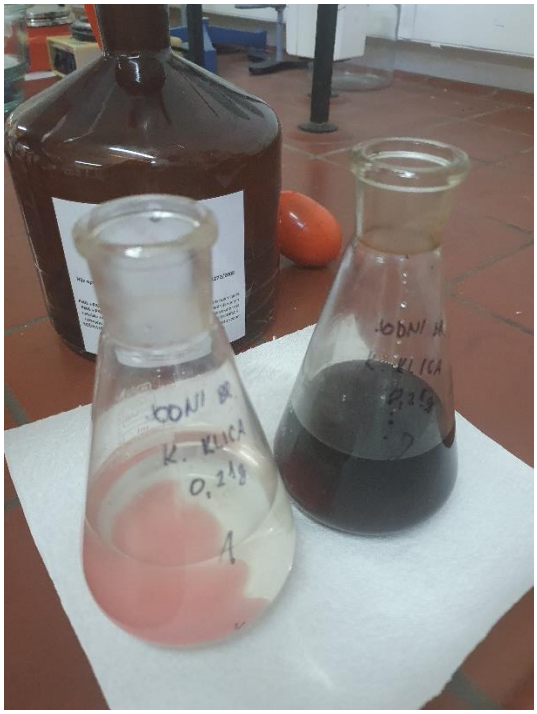
$$\text{Jodni broj } [\text{I}_2\text{g}/100\text{g}] = \frac{(\text{V}_0 - \text{V}_1) \times 0{,}01269}{\text{c}} \times 100$$

gdje je:

V_0 - volumen utrošene 0,1 M otopine natrij-tiosulfata za titraciju slijepe probe [mL];

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

c – masa ispitivanog uzorka [g].



Slika 14 Određivanje jodnog broja ulja kukuruznih klica (Autor)

Određivanje saponifikacijskog broja

Saponifikacijski broj predstavlja broj mg KOH koji je potreban za potpunu saponifikaciju slobodnih i esterski vezanih masnih kiselina u 1 g masti. Vrijednost saponifikacijskog broja je konstanta karakteristična za pojedina ulja ili masti, a ovisi i o molekulskim masama masnih

kiselina koje ulaze u sastav masti. Vrijednost saponifikacijskog broja je veća ukoliko je molekulska masa manja i obrnuto. Na sadržaj saponifikacijskog broja utječu i neosapunjive tvari, odnosno dodane strane primjese. Saponifikacija ulja ili masti (**Slika 15**) provodi se pomoću alkoholne otopine KOH, poznatog molariteta, a višak nevezanih hidroksida se tretira otopinom klorovodične kiseline poznatog molariteta.

Saponifikacijski broj se izražava prema jednadžbi:

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

gdje je:

V_0 – volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za titraciju slijepe probe [mL];

V_1 - volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za titraciju uzorka [mL];

m – masa uzorka [g].

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



Slika 15 Uzorci ulja kukuruznih klica za određivanje saponifikacijskog broja (Autor)

3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Priprema uzorka hladno prešanog ulja kukuruznih klica

Prije početka ispitivanja oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja kukuruznih klica odrede se osnovni parametri kvalitete kao što je udio slobodnih masnih kiselina i vrijednost peroksidnog broja. U čašice izvagati određene količine antioksidanasa, dodati 50 g ulja i promiješati ih staklenim štapićem. Nakon toga uzorke zagrijati na temperaturu od 70 °C uz stalno miješanje te održavanje stalne temperature tijekom 30 minuta. Važno je da temperatura zagrijavanja ne prijeđe 80 °C (**Slika 16)**. Uzorci sadrže sljedeće antioksidanse: ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, ekstrakt zelenog čaja + *kofeinska kiselina*, ekstrakt ružmarina tip *StabilEnhance^{R}OSR, ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance^{R}OSR + kofeinska kiselina, ružmarinska kiselina, kofeinska kiselina, TBHQ,* α-tokoferol, *mješavina tokoferola* i ekstrakt koštice grožđa Frankovka. Tako pripremljeni uzorci (**Slika 17**) pokriju se satnim stakalcem i stavljaju se u sušionik (AL-01-04) na konstantnu temperaturu od 63 °C čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja kukuruznih klica sa i bez dodatka antioksidanasa.



Slika 16 Zagrijavanje uzoraka ulja kukuruznih klica i antioksidansa pri temperaturi od 70 °C (Autor)

Uzorci:

1) hladno prešano ulje kukuruznih klica (kontrolni uzorak)
2) ulje + 0,25 % ekstrakt zelenog čaja
3) ulje + 0,25 % ekstrakt rtanjskog čaja
4) ulje + 0,25 % ekstrakt zelenog čaja + 0,01 % kofeinska kiselina
5) ulje + 0,25 % ekstrakt ružmarina tip *StabilEnhance^{R}OSR*
6) ulje + 0,25 % ekstrakt ružmarina *StabilEnhance^{R}OSR* + 0,01 % kofeinska kiselina

7) ulje + 0,1 % ružmarinska kiselina
8) ulje + 0,1 % kofeinska kiselina
9) ulje + 0,01 % TBHQ
10) ulje + 0,1 % α-tokoferol
11) ulje + 0,1 % mješavina tokoferola
12) ulje + 0,25 % ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka



Slika 17 Pripremljeni uzorci ulja kukuruznih klica za određivanje oksidacijske stabilnosti (Autor)

Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja – Oven test na 63 °C

Najstarija metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja kukuruznih klica određena je pomoću Oven testa na konstantnoj temperaturi od 63 °C. Test se provodio tijekom 4 dana uvijek u isto vrijeme, odnosno svaka 24 sata, kod uzoraka se određivala promjena vrijednosti peroksidnog broja. Ukupno 4 dana, odnosno 96 sati uzorci su bili u sušioniku. Rezultati Oven testa na 63 °C prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja izraženi u mmol O_2/kg tijekom četiri dana, odnosno 96 sati.

4. REZULTATI

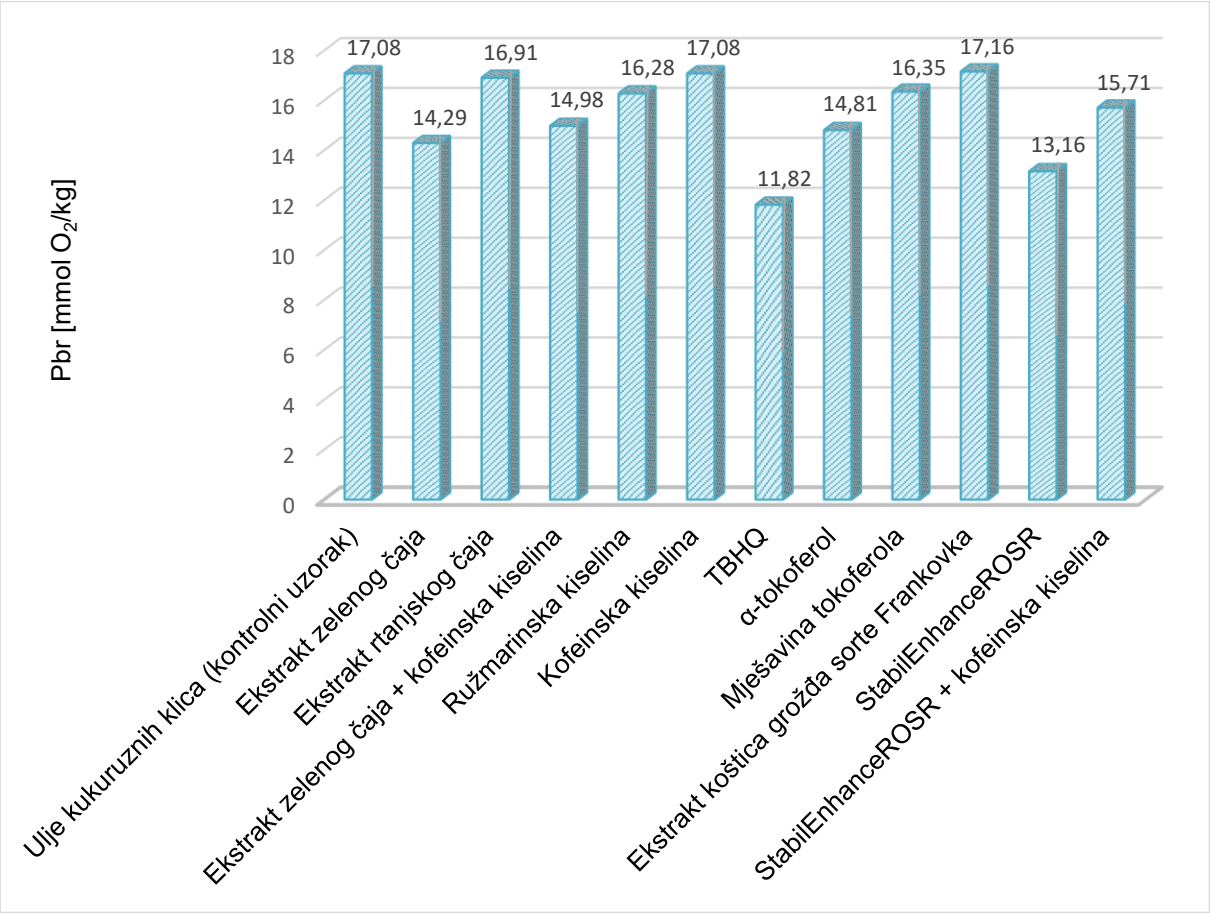
Tablica 9 Osnovni parametri kvalitete i identifikacije hladno prešanog ulja kukuruznih klica u usporedbi s maksimalnim dopuštenim vrijednostima prema *Pravilniku o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19)

Parametar kvalitete	Rezultat	Pravilnik o jestivim uljima i mastima (maksimalne vrijednosti)
Jodni broj [gI_2/100g]	121,46	103 – 135
Saponifikacijski broj [mg KOH/g ulja]	198,04	187 – 195
Peroksidni broj Pbr [mmol O_2/kg]	1,87	7
Slobodne masne kiseline (izraženih kao oleinska) [%]	1,96	2
Udio vlage [%]	0,062	0,4
Udio netopljivih nečistoća [%]	0,59	0,05

Tablica 10 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja kukuruznih klica, bez dodatka antioksidansa i s dodanim antioksidansima, određena Oven testom na 63 °C tijekom 4 dana

UZORCI	KONCENTRACIJA ANTIOKSIDANSA [%]	PEROKSIDNI BROJ Pbr [mmol O_2/kg]				
		0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Ulje kukuruznih klica (kontrolni uzorak)	-	1,87	5,07	8,46	13,42	17,08
Ekstrakt zelenog čaja	0,25 %		4,77	7,25	10,05	14,29
Ekstrakt rtanjskog čaja	0,25 %		4,76	7,48	11,69	16,91
Ekstrakt zelenog čaja + kofeinska kiselina	0,25 % + 0,01 %		5,07	8,18	10,26	14,98
Ružmarinska kiselina	0,1 %		6,34	8,46	12,68	16,28
Kofeinska kiselina	0,1 %		5,96	8,61	12,80	17,08
TBHQ*	0,01 %		3,43	4,88	7,49	11,82
α-tokoferol	0,1 %		5,88	8,50	11,90	14,81
Mješavina tokoferola	0,1 %		5,89	8,93	12,32	16,35
Ekstrakt koštica grožđa sorte Frankovka	0,25 %		6,52	8,29	12,74	17,16
*StabilEnhance^{R}OSR***	0,25 %		3,76	5,40	9,62	13,16
*StabilEnhance^{R}OSR*** + kofeinska kiselina	0,25 % + 0,01 %		4,48	7,13	10,21	15,71

*TBHQ – tercijarni butilhidrokinon; ***StabilEnhance^{R}OSR* – ekstrakt ružmarina



Slika 18 Grafički prikaz utjecaja različitih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja kukuruznih klica nakon 4 dana provođenja Oven testa pri temperaturi od 63 °C

5. RASPRAVA

Tablica 9 prikazuje osnovne parametre kvalitete i identifikacije hladno prešanog ulja kukuruznih klica: jodni broj, saponifikacijski broj, peroksidni broj (Pbr), slobodne masne kiseline (SMK), udio vlage i udio netopljivih nečistoća. Također, u tablici su prikazane i maksimalne dopuštene vrijednosti navedenih parametara prema *Pravilniku o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19). Osim saponifikacijskog broja i udjela netopljivih nečistoća, dobivene vrijednosti, odnosno rezultati ispitivanja su u skladu s Pravilnikom. Udio netopljivih nečistoća iznosio je 0,59 %, a maksimalna dopuštena vrijednost prema Pravilniku je 0,05 %. Udio krutih čestica odnosno netopljivih nečistoća može se smanjiti filtracijom, centrifugiranjem i produženim taloženjem te stoga možemo smatrati da je ulje dobre kvalitete. Saponifikacijski broj je iznosio 198,04 mg KOH/g ulja, što znači da je veći od maksimalne dopuštene vrijednosti prema Pravilniku koja se kreće u rasponu od 187 do 195 mg KOH/g ulja. Vrijednost saponifikacijskog broja je konstantna vrijednost za pojedina ulja.

Moslavac i sur. (2010) u provedenom istraživanju oksidacijske stabilnosti na različitim vrstama ulja (suncokretovo ulje, ulje kukuruzne klice, sojino ulje, repičino ulje i ulje koštica grožđa) ispitivali su i početne parametre kvalitete ulja: peroksidni broj i udio slobodnih masnih kiselina. Na osnovu istraživanja utvrdili su da odabrana ulja imaju dobru kvalitetu jer su dobivene vrijednosti manje od maksimalno dopuštenih prema *Pravilniku o jestivim uljima i mastima* (NN 11/19). Vrijednost SMK za ulje kukuruzne klice iznosi 0,13 % oleinske kiseline, dok je vrijednost Pbr 0,71 mmol O_2/kg (Moslavac i sur. 2010).

Tablici 10 prikazuje oksidacijsku stabilnost, odnosno održivost hladno prešanog ulja kukuruznih klica, bez dodanog antioksidansa i s dodanim antioksidansima. Oksidacijska stabilnost je određena Oven testom pri 63°C tijekom 96 sati, odnosno 4 dana. Vrijednost peroksidnog broja (Pbr) mjerena je svaka 24 sata. U **Tablici 10** vidljivo je da se tijekom 4 dana, odnosno 96 sati provođenja Oven testa pri 63 °C povećala vrijednost peroksidnog broja (Pbr) kod svih ispitivanih uzoraka. Nakon 96 sati kontrolni uzorak odnosno ulje kukuruznih klica bez dodanog antioksidansa pokazuje vrijednost 17,08 mmol O_2/kg ulja, što predstavlja znatno veću vrijednost od dozvoljene i propisane Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) koja iznosi maksimalno 7 mmol O_2/kg ulja. Ulje kukuruzne klice prema ovim vrijednostima pokazuje dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Dodatkom pojedinih antioksidansa možemo zaključiti da je peroksidni broj (Pbr) u većini slučajeva niži u odnosnu na kontrolni uzorak što ukazuje da dodani antioksidansi imaju određenu zaštitnu ulogu te usporavaju oksidacijsko kvarenje, odnosno povećavaju oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja kukuruznih klica.

Dodatkom pojedinačnog antioksidansa, najbolja oksidacijska stabilnost ulja kukuruznih klica postignuta je uz dodatak TBHQ sintetskog antioksidansa s obzirom da taj uzorak ima najnižu vrijednost peroksidnog broja (Pbr) u odnosu na ostale ispitivane uzorake nakon 96 sati provođenja Oven testa. TBHQ dodan je ulju kukuruznih klica u udjelu od 0,01 %, a peroksidni

broj (Pbr) nakon 96 sati provedbe testa iznosio je 11,82 mmol O_2/kg što je u odnosu na kontrolni uzorak bez dodatka antioksidansa koji je iznosio 17,08 mmol O_2/kg znatno manji. Također, od prirodnih antioksidanasa najbolji se pokazao ekstrakt ružmarina tip StabilEnhace^{R}OSR, dodan u udjelu od 0,25 %, čiji je peroksidni broj (Pbr) bio 13,16 mmol O_2/kg što je znatno niže u odnosu na kontrolni uzorak.

Moslavac i sur. (2010) navode da ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance^{R}OSR (0,1 %) učinkovitije štiti od oksidacijskog kvarenja smjesu sojinog i suncokretovog ulja u odnosu na zaštitu smjese ulja kukuruznih klica i suncokretovog ulja. Također, navode da propil galat (0,01 %) najviše povećava oksidacijsku stabilnost smjese ulja kukuruznih klica i suncokretovog ulja i to za 1,503 puta u odnosu na održivost smjesa drugih biljnih ulja.

Nikakvu efikasnost u sprječavanju oksidacijskog kvarenja nije imao ekstrakt koštice grožđa sorte Frankovka, to je prirodni antioksidans. Dodan je u udjelu od 0,25 %, a peroksidni broj (Pbr) nakon 96 sati provedbe testa iznosio je 17,16 mmol O_2/kg, što predstavlja veću vrijednost od kontrolnog ulja kukuruznih klica bez dodatka antioksidansa koja iznosi 17,08 mmol O_2/kg.

Dodatak kofeinske kiseline pokazao je gotovo identičnu vrijednost peroksidnog broja (Pbr), a nakon 96 sati peroksidni broj je imao istu vrijednost tj. oksidacijsku stabilnost kao i kontrolni uzorak bez dodatka antioksidansa, odnosno 17,08 mmol O_2/kg. Vrijednosti preoksidnog broja (Pbr) slične kontrolnom uzorku dobivene su dodatkom: ekstrakta rtanjskog čaja u udjelu od 0,25 % kod kojeg je Pbr iznosio 16,91 mmol O_2/kg; mješavine tokoferola u udjelu od 0,1 % kod koje je Pbr iznosio 16,35 mmol O_2/kg te ružmarinske kiseline u udjelu od 0,1 % kod koje je Pbr iznosio 16,28 %. S obzirom da su dobivene vrijednosti nešto ispod vrijednosti Pbr kontrolnog uzorka može se smatrati da nisu značajno pridonijele oksidacijskoj stabilnosti ulja kukuruznih klica.

α-tokoferol dodan ulju kukuruznih klica u udjelu od 0,1 % nakon 96 sati imao je Pbr 14,81 mmol O_2/kg te je znatno manji od mješavine tokoferola koja je dodana u istom udjelu čiji je peroksidni broj iznosio 16,35 mmol O_2/kg. Može se zaključiti da dodatak α-tokoferol u ulje kukuruznih klica ima veći utjecaj na oksidacijsku stabilnost zbog svojih antioksidacijskih svojstava u sprječavanju oksidacijskog kvarenja u odnosu na mješavinu tokoferola.

Ekstrakt zelenog čaja u udjelu od 0,25 % pokazuje sličnu oksidacijsku stabilnost kao α-tokoferol, Pbr mu iznosi 14,29 mmol O_2/kg.

Kombinacije antioksidanasa pokazale su se srednje učinkovitima, odnosno kombinacija ekstrakta zelenog čaja i kofeinske kiseline (udjela 0,25 % i 0,01 %) ima bolju oksidacijsku stabilnost nakon 96 sati provedbe testa jer Pbr iznosi 14,98 mmol O_2/kg, u odnosu na kombinaciju StabilEnhance^{R}OSR ekstrakta ružmarina i kofeinske kiseline (udjela 0,25 % i 0,01 %) čiji Pbr iznosi 15,71 mmol O_2/kg. Zaključuje se da pojedinačni antioksidansi

StabilEnhance^{R}OSR i ekstrakt zelenog čaja imaju manji Pbr, odnosno ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost, u odnosu na kombinaciju s dodatkom kofeinske kiseline gdje dolazi do povećanja Pbr odnosno ulje je manje stabilno na oksidacijske promjene.

Frankel i sur. (1996) utvrdili su da dodatak ekstrakta ružmarina, karnosolne i ružmarinske kiseline bolje štiti ulje kukuruzne klice od oksidacijskog kvarenja u odnosu na primjenu karnosola.

Grafički prikaz na **Slici 18** jasno prikazuje utjecaj dodataka različitih prirodnih i sintetskih antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja kukuruznih klica nakon 96 sati provedbe Oven testa pri 63 °C. Vidljivo je koji antioksidans značajno poboljšava oksidacijsku stabilnost, odnosno koji je najefikasniji, koji nije efikasan i koji ima najmanju efikasnost u usporedbi s kontrolnim uzorkom ulja kukuruznih klica bez dodanih antioksidansa. Ulje kukuruznih klica zbog dobre održivosti odnosno oksidacijske stabilnosti, visokog udjela esencijalnih masnih kiselina i tokoferola, dobrih senzorskih svojstava te malih varijacija u sastavu masnih kiselina spada u grupu visokovrijednih nutritivnih ulja. Najvažnija odlika kvalitetnog ulja kukuruzne klice je dobra prirodna oksidacijska stabilnost u odnosu na druga jestiva ulja.

Dodatak antioksidansa ne smije utjecati na senzorske karakteristike samog ulja, primjerice na boju, okus i miris. S obzirom na žutu boju ulja kukuruznih klica, promjena boje je uočena kod uzorka s dodatkom ekstrakta koštica grožđa Frankovka gdje je došlo do pojave blago crvenkasto smeđe boje, dok je dodatkom ružmarinske kiseline došlo do blagog zamućenja ulja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih određivanjem osnovnih parametara kvalitete i ispitivanjem utjecaja dodataka pojedinih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja kukuruznih klica u ovom diplomskom radu zaključujemo sljedeće:

1) Prema rezultatima osnovnih parametara kvalitete ulja u usporedbi s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) utvrđeno je da je hladno prešano ulje kukuruznih klica dobre kvalitete.
2) Nakon provođenja Oven testa pri 63 °C u vremenskom razdoblju od 4 dana (96 sati), utvrđeno je da hladno prešano ulje kukuruznih klica ima dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju.
3) Ispitivani uzorak s dodatkom sintetskog antioksidansa pokazao je bolju učinkovitost u sprječavanju oksidacijskog kvarenja ulja kukuruznih klica u odnosu na prirodne antioksidanse.
4) Najbolja zaštita od oksidacijskog kvarenja ulja kukuruznih klica postignuta je dodatkom TBHQ (udio 0,01 %) sintetskog antioksidansa, a od prirodnih antioksidansa dodatkom ekstrakta ružmarina tip StabilEnhance^{R}OSR (udio 0,25 %).
5) Ekstrakt koštica grožđa sorte Frankovka (udio 0,25 %), kao prirodni antioksidans nije se pokazao efikasan u zaštiti od oksidacijskog kvarenja ulja kukuruzne klice, također je utjecao i na promjenu boje ulja.
6) Kofeinska kiselina (udio 0,1 %) postigla je istu vrijednost Pbr, odnosno istu oksidacijsku stabilnost kao kontrolni uzorak nakon 96 sati.
7) Oksidacijsku stabilnost sličnu kontrolnom uzorku bez dodanog antioksidansa pokazali su uzorci s dodatkom: ekstrakta rtanjskog čaja (udio 0,25 %), mješavina tokoferola (udio 0,1 %) te ružmarinska kiselina (udio 0,1 %), što znači da nisu značajno pridonijeli zaštiti od oksidacijskog kvarenja ulja kukuruznih klica nakon 96 sati.
8) Dodatak α-tokoferola (udio 0,1 %) u ulje kukuruznih klica pokazao je bolju oksidacijsku stabilnost u odnosu na mješavinu tokoferola (udio 0,1 %).
9) Ekstrakt zelenog čaja pokazuje sličnu oksidacijsku stabilnost kao i α-tokoferol kod ulja kukuruznih klica.
10) Kombinacije antioksidanasa pokazale su se srednje učinkovitima, odnosno kombinacija ekstrakta zelenog čaja i kofeinske kiseline pokazuje bolju zaštitu od oksidacijskog kvarenja ulja kukuruznih klica u odnosu na kombinaciju StabilEnhance^{R}OSR ekstrakta ružmarina i kofeinske kiseline.
11) Pojedinačno antioksidansi, ekstrakt ružmarina tip StabilEnhance^{R}OSR te ekstrakt zelenog čaja pokazuju bolju oksidacijsku stabilnost ovog ulja u odnosu na njihove kombinacije s kofeinskom kiselinom.

7. LITERATURA

Alqarni, A: *Beta-sitosterol/polyethylene glycol complexes as drug delivery vehicles.* Semantic Scholar, 2015. https://www.semanticscholar.org/paper/Beta-sitosterol%2Fpolyethylene-glycol-complexes-as-Alqarni/7529e5cae390a993693e4a2a9f33655728ac68b0#references [23.8.2020].

Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, McDonald S, Robards K: *Methods for testing antioxidant activity*. School of Science and Technology, Charles Sturt University, Wagga, 2001.

Babić J: *Sirovine biljnog podrijetla,* nastavni materijali. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, 2017.

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

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

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

Bukan, G: *Zašto je kemija postala sinonim za loše?.* Školski portal, 2016. https://www.skolskiportal.hr/sadrzaj/iz-skolskog-svijeta/zasto-je-kemija-postala-sinonim-za-lose/ [22.8.2020].

Cvejanov S: *Prehrambena tehnologija*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 1997.

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

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

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

Frankel, EN, Huang SW, Aeschbach R, Prior E: *Antioxidant activity of rosemary extract and its constituents carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid in bulk oil and oil-in-water emulsion*, Journal of Agriculture Food Chemistry 44:131-135, 1996.

Gagro M: *Ratarstvo obiteljskoga gospodarstva, Žitarice i zrnate mahunarke*, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb, 1997.

Generalić, E: *Omega-3 masne kiseline*. Kemijski rječnik, 2020. https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega-3+masne+kiseline [20.8.2020].

Grün I: Fats: *Edible Fat and Oil Processing. U Food Processing: Principles and Applications*, 353-360. Blackwell Publishing, 2004.

Gunstone FD: *Composition and properties of edible oils, second edition*. Wiley-Blackwell, Chennai, 2013.

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

Gunstone, FD: *Vegetable Oils in food technology: Composition, properties and uses*, *second edition* Wiley-Blackwell, Chennai, 2002.

Hoffmann G: *The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their High Fat Products*. Academic Press, London, 1989.

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

Klapec T, Marček T, Šarkanj B: *Opasnosti vezane uz hranu, nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.

Ljubisavljević M: *Prehrambeni proizvodi i pića*. Privredni pregled, Beograd, 1987.

Mandić ML: Znanost o prehrani. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2007.

Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Narodne novine 11/19, 2019.

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

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

Moslavac T: *Tehnologija ulja i masti, nastavni materijali*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, 2015.

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.

Pine SH: *Organska kemija*, Školska knjiga, Zrinski d.d., Zagreb, 1994.

Pospišil A: *Ratarstvo 1. dio*, Zagreb, 2010.

Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za jestivo biljno ulje i masti, margarin i druge masne namaze, majonez i srodne proizvode, 'Službeni list SRJ', br. 54/1999.

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

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

Ročak T: *Osnovne kemijske analize kakvoće istarskih maslinovih ulja*, diplomski rad. Agronomski fakultet, Zagreb, 2005.

Rupčić D: *Razbijamo mitove: Jesu li zasićene masti naš neprijatelj?.* Fitness.com.hr, 2018. https://www.fitness.com.hr/prehrana/nutricionizam/Razbijamo-mitove-zasicene-masti.aspx [21.8.2020]

Sadadinović J, Mičević S, Đonlagić N, Topčagić R, Berbić Z: *Praćenje oksidacione stabilnosti masti maslaca i kravljeg masla diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC), Mljekarstvo* 55:235 – 243, 2005.

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

Shahidi F: *Quality Assurance Of Fats and Oils*. *Bailey´s Industrial Oil and Fats Products,* Newfoundland, Canada, 2005.

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

Wiley J & Sons: *Bailey's industrial oil & fat products* Volume 2, Edible oils and fat products: Oils and oil seeds, Fifth Edition, New York, 1996.

Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: *Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas*. Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.

Zovkić I: *Proizvodnja kukuruza*, Niro-Zadrugar, Sarajevo, 1981.