

Stabilizacija pileće masti sa antioksidansima

Mutić, Jelena

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:200683>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Jelena Mutić

STABILIZACIJA PILEĆE MASTI SA ANTIOKSIDANSIMA

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

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 PILEĆE MASTI SA ANTIOKSIDANSIMA

Jelena Mutić, 0113138231

Sažetak:

U sastavu većine namirnica koje se svakodnevno konzumiraju nalaze se masti. Oksidacija lipida predstavlja glavni problem u animalnim mastima. Oksidacija lipida prouzrokuje važnu promjenu kemijskih, nutritivnih i senzorskih svojstava. Mast podliježe oksidaciji tijekom proizvodnje, skladištenja i toplinske obrade. Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, kofeinska kiselina, ružmarinska kiselina, alfa tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt kadulje, ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS) i sintetskog antioksidansa (TBHQ) na promjenu oksidacijske stabilnosti svježih pileće masti. Oksidacijska stabilnost, sa i bez dodanog antioksidansa, ispitivana je primjenom testa ubrzane oksidacije ulja Schaal Oven testom na 63 °C. Rezultati ispitivanja pokazuju da se primjenom sintetskog antioksidansa TBHQ i ekstrakta ružmarina postigla najbolja zaštita pileće masti od oksidacijskog kvarenja.

Ključne riječi: pileća mast, oksidacijska stabilnost, antioksidansi, Schaal Oven test

Rad sadrži: 48 stranica
13 slika
4 tablica
0 priloga
30 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

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

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

Datum obrane: 20. 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 Technology
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X in academic year 2019/2020 held on 21 September 2020.
Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, full prof.
Co-mentor: *Ante Lončarić*, PhD, assistant prof.
Technical assistance: *Daniela Paulik*, technical associate

STABILIZATION OF CHICKEN FAT WITH ANTIOXIDANTS

Jelena Mutić, 0113138231

Summary:

The majority of food that is consumed daily contains fats. Lipid oxidation is a major problem in animal fats. Lipid oxidation it is the cause of important deteriorative changes in their chemical, nutritional and sensory properties. Fat is a subject of oxidation during the production, storage and heat treatment. The aim of this master thesis is to researched the effect of natural antioxidants (green tea extract, rtanj tea extract, caffeic acid, rosemaric acid, alpha tocopherol, mixture tocopherol, sage extract, rosemary extract type Oxy'Less® CS) and synthetic antioxidants (TBHQ) on the oxidative stability of fresh chicken fats. The oxidative stability, with or without added antioxidant, was evaluated using the Schaal Oven test, which is an accelerated oxidation of oil at 63 °C. The results showed that applied synthetic antioxidant TBHQ and rosemary extract type Oxy'Less® CS achieved the best protection of chicken fat from oxidative spoilage.

Key words: chicken fat, oxidative stability, antioxidants, Schaal Oven test

Thesis contains: 48 pages
13 figures
4 tables
0 supplements
30 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: October 20, 2020

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

Sadržaj

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	3
2.1.	MASTI I ULJA.....	4
2.1.1.	Glicerol	6
2.1.2.	Masne kiseline.....	6
2.1.3.	Negliceridni sastojci.....	10
2.2.	TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE ANIMALNIH MASTI	11
2.3.	PRINCIP PRERADE MASNOG TKIVA I PROIZVODNJA SVJEŽE PILEĆE MASTI	13
2.3.1.	Priprema svježe pileće masti.....	13
2.3.2.	Dobivanje svježe pileće masti	14
2.4.	KVARENJE MASTI.....	14
2.5.	STABILIZACIJA ULJA I MASTI	16
2.5.1.	Antioksidansi	16
2.5.2.	Sinergisti	17
2.6.	METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA I MASTI	18
2.7.	OKSIDACIJSKA STABILNOST	20
2.7.1.	Schaal Oven test	20
2.7.2.	Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)	21
2.7.3.	Test održivosti na 98 °C	21
2.7.4.	Rancimat test	21
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	23
3.1.	ZADATAK	24
3.2.	MATERIJAL I METODE.....	24
3.2.1.	Materijali	24
3.2.2.	Metode rada.....	27
3.2.2.1.	Određivanje osnovnih parametara kvalitete pileće masti	27
3.2.2.2.	Određivanje oksidacijske stabilnosti pileće masti.....	32
4.	REZULTATI	35
5.	RASPRAVA	39
6.	ZAKLJUČCI.....	43
7.	LITERATURA.....	45

Popis oznaka, kratica i simbola

O ₂	molekula kisika
-OH	hidroksilna skupina
Abr	anisidinski broj
Pbr	peroksidni broj
BHA	butilhidroksianisol
BHT	butilhidroksitoluen
IP	indukcijski period
TBHQ	tercijarni butilhidrokinon
SMK	slobodne masne kiseline
ZMK	zasićene masne kiseline
NN	netopljive nečistoće
KI	kalijev jodid
NMK	nezasićene masne kiseline

1. UVOD

Masti, zajedno s uljima, pripadaju skupini u vodi netopljivih tvari koje mogu biti animalnog i biljnog podrijetla. To su trigliceridi, a sastoje se od trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina. Ulja i masti u svom sastavu sadrže i male količine negliceridnih sastojaka (1-2 %) (Moslavac, 2015.).

Tehnologija proizvodnje animalne masti podrazumjeva termičku obradu masnog tkiva, najčešće suhim i mokrim postupkom topljenja (Čorbo, 2008.). Masti koje su u tekućem stanju na temperaturi od 20 °C nazivaju se ulja, dok one koje su pri istoj temperaturi u čvrstom stanju, nazivaju se masti. Masti animalnog podrijetla su uglavnom u čvrstom stanju, a biljna ulja su u tekućem stanju.

Oksidacijska stabilnost predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu čuvati od procesa autooksidacije i narušavanja njegove kvalitete i senzorskih svojstava. Održivost ulja i masti se određuje metodama koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja i mast, djelovanjem jednog ili više faktora koji ubrzavaju proces. Najčešće metode koje se koriste su Rancimat test, AOM test i Schaal Oven test.

Tvari, koje prisutne u malim koncentracijama, sprječavaju odnosno usporavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžavaju održivost ulja i masti, a mogu biti prirodne i sintetske, nazivaju se antioksidansi.

Zadatak ovog diplomskog rada bio je istražiti utjecaj dodataka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnost pileće masti.

U ovom istraživanju korišteni su prirodni i sintetski antioksidansi: ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt rtanjskog čaja, kofeinska kiselina, ružmarinska kiselina, TBHQ, alfa tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt kadulje i ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS. Oksidacijska stabilnost pileće masti ispitana je primjenom Schaal Oven testa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASTI I ULJA

Masti i ulja su tvari koje se iz tkiva i stanica mogu ekstrahirati pomoću nepolarnih otapala (Pine, 1994.). Odnosno, u vodi netopljive tvari animalnog i biljnog podrijetla, a pripadaju skupini spojeva koje nazivamo lipidi. Lipidi predstavljaju glavna skladišta energije jer nastaju od suviška ugljikohidrata u živim organizmima. Masti od ulja razlikujemo prema agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi, što je ujedno povezano i sa udjelom zasićenih, odnosno nezasićenih masnih kiselina. Ulja se pri sobnoj temperaturi nalaze u tekućem agregatnom stanju jer u svom sastavu imaju veći udio nezasićenih masnih kiselina. Dok, s druge strane imamo masti koje se pri sobnoj temperaturi nalaze u čvrstom agregatnom stanju jer su bogatije zasićenim masnim kiselinama. Unatoč navedenom, treba istaći da i masti u svom sastavu imaju nezasićene masne kiseline, odnosno i da ulja u svom sastavu imaju zasićene masne kiseline (Mandić, 2007.).

Masti i ulja su građeni od trovalentnog alkohola glicerola, masnih kiselina i negliceridnih sastojaka (Moslavac, 2015.). Osim podjele temeljene na razlici u agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi, lipidi se mogu podijeliti u još nekoliko skupina.

Lipidi se s obzirom na strukturu i sastav dijele na:

- jednostavne lipide: masti i voskovi,
- složene lipide: fosfolipidi, glikolipidi, sulfolipidi, aminolipidi,
- derivate lipida: masne kiseline, aldehidi, steroli i dr.

Podjela lipida prema porijeklu:

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

Masti su proizvodi dobiveni odgovarajućim tehnološkim postupcima od ulja i masti biljnog podrijetla ili ulja i masti životinjskog podrijetla (NN 11/19). U sastavu masti se nalaze masne kiseline, ali i određene količine drugih sastojaka kao što su fosfolipidi, voskovi, neosapunjive tvari, monogliceridi, digliceridi te slobodne masne kiseline.

Neosapunjive tvari

Neosapunjive tvari su svi sastojci ulja i masti koji nisu trigliceridi masnih kiselina. Neki od spojeva, pripadnici ove skupine su fosfatidi, lipoproteini, steroli, ugljikovodici, vitamini A, D, E i K (Rac, 1964.).

Fosfolipidi

Mješovite estere glicerola u čijem sastavu je jedna hidroksilna skupina glicerola esterificirana s fosfornom kiselinom nazivamo fosfolipidima (Pine, 1994.). Fosfolipidi su površinske aktivne tvari koje služe kao dobri emulgatori u prehrambenoj industriji, zbog posjedovanja hidrofilne i hidrofobne skupine (Sadadinović, 2008.).

Voskovi

Voskovi su negliceridni sastojak nekih biljnih ulja (suncokreta, kukuruznih klica, mekinja riže). Vrlo male količine dovode do zamućenja biljnih ulja, pa su ovi negliceridni sastojci izrazito nepoželjni u ulju. Postupak izdvajanja voskova iz biljnih ulja se naziva vinterizacija. Provede se kristalizacija sirovog ulja hlađenjem pri nižim temperaturama, dolazi do kristalizacije voskova te njihovo uklanjanje u obliku taloga naknadnom filtracijom. Postupak je dugotrajan i nije uvijek uspješan (Moslavac, 2015.).

Monogliceridi i digliceridi

Monogliceridi i digliceridi sadrže samo jednu ili dvije masne kiseline koje su vezane na molekulu glicerola, pri čemu ostaju slobodne dvije ili jedna hidroksilna skupina (-OH). (Moslavac, 2015.). U prirodi se pojavljuju u malim količinama uz trigliceride (Rac, 1964.).

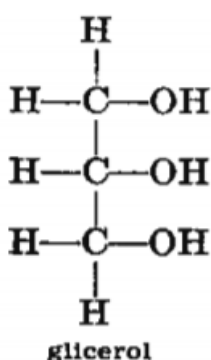
Slobodne masne kiseline (SMK)

Masne kiseline koje nastaju razgradnjom molekule triglicerida nazivamo slobodne masne kiseline. One nisu vezane niti za jednu od molekula (glikolipidi, fosfolipidi i dr.). Povećavaju kiselost u biljnim uljima i animalnim mastima (Štefančić, 2018.).

2.1.1. Glicerol

Glicerol je široko rasprostranjen šećerni alkohol, bezbojne kristalno bistre viskozne tekućine. Zauzima 4-16 % mase u sastavu neutralnih lipida. Topljiv je u vodi i alkoholu, za razliku od masnih kiselina. Zbog hidrofilnosti glicerola i lipofilnosti masnih kiselina, monogliceridi i digliceridi posjeduju emulgatorska svojstva (Wang i sur., 2001.; Kirk i Othmer, 1967.; Rac, 1964.).

Slika 1 prikazuje strukturnu formulu glicerola, koji u sastavu ima tri hidroksilne (-OH) skupine. U mastima i uljima na glicerol mogu biti vezane tri iste masne kiseline pri čemu nastaju jednostavni trigliceridi. Mješovite trigliceride predstavljaju na glicerol vezane tri različite masne kiseline. Nalazi se u sastavu monoglicerida i diglicerida gdje su na glicerol vezane jedna ili dvije masne kiseline dok su jedna ili dvije hidroksilne skupine slobodne. Glicerol se danas primjenjuje na više područja. Neke od uporabe glicerola današnjice su proizvodnja plastičnih masa, nitroglicerina, emulgatora, kao sredstva za smrzavanje u vodenim otopinama (Rac, 1964.).



Slika 1 Strukturna formula glicerola (Moslavac, 2015.)

2.1.2. Masne kiseline

Nerazgranate molekule koje mogu sadržavati 14-22 ugljikova atoma se nazivaju masne kiseline (Pine, 1994.). Reaktivni dio molekule čine u molekuli triglicerida. Poznavanjem kemijskih i fizikalnih svojstava masnih kiselina poznaje se i svojstvo triglicerida.

Opća formula masnih kiselina je R-COOH pri čemu je R ugljikovodikov lanac, a COOH karboksilna skupina. Ovisno o broju ugljikovih atoma u molekuli, zasićenosti ili nezasićenosti

ugljkovog atoma te položaju i broju dvostrukih veza, masne kiseline se mogu podijeliti u nekoliko skupina (Sadadinović, 2008.).

Prema broju ugljikovih atoma masne kiseline dijelimo na: kiseline kratkog lanca (do 8 ugljikovih atoma), kiseline srednjeg lanca (od 8 do 12 ugljikovih atoma), kiseline dugog lanca (preko 12 ugljikovih atoma) (Swern, 1972.). Prema stupnju nezasićenosti masne kiseline se dijele na: zasićene masne kiseline i nezasićene masne kiseline.

Zasićene masne kiseline (ZMK)

Zasićene masne kiseline su kiseline koje u svom sastavu ne sadrže dvostruke veze, nego su ugljikovi atomi u masnim kiselinama povezani jednostrukim vezama (C-C). Zasićenim masnim kiselinama vodikovi atomi potpuno ispunjavaju sva slobodna mjesta na ugljikovim atomima i najvažnije svojstvo je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu. Mogu se gusto slagati jer imaju oblik ravnog štapića. Dominiraju u mastima koje su na sobnoj temperaturi u čvrstom stanju (masti animalnog podrijetla) što je rezultat gustog slaganja.

Zasićene masne kiseline sa 4-22 ugljikova atoma u svom sastavu su najčešće zastupljene u prirodnim uljima i mastima, dok su one s većim brojem ugljikovih atoma (24-26) prisutne u voskovima.

U **Tablici 1** navedene su važnije zasićene masne kiseline. Najzastupljenije zasićene masne kiseline među uljima i mastima su laurinska, stearinska, palmitinska i miristinska. One s neparnim brojem ugljikovih atoma su prisutne u tragovima (Sadadinović, 2008.).

Opća formula zasićenih masnih kiselina: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$

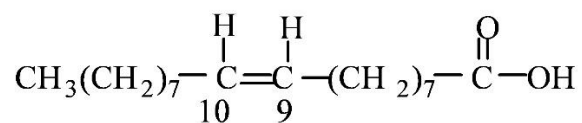
Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv masne kiseline	Formula
4	Maslačna kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
6	Kaprinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
8	Kaprilna kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
10	Kaprinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
12	Laurinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
14	Miristinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
16	Palmitinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
18	Stearinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
20	Arahidonska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
22	Behenijska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
24	Lignocerinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$

Nezasićene masne kiseline (NMK)

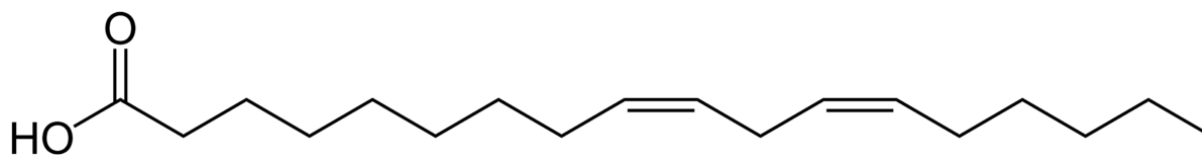
Masne kiseline koje u svom sastavu posjeduju jednu ili više dvostrukih veza ($\text{C}=\text{C}$) se nazivaju nezasićene masne kiseline (NMK). Zastupljenije su u uljima nego u mastima, pri čemu su one sa osamnaest ugljikovih atoma i jednom, dvije ili tri dvostruke veze najzastupljenije u prirodnim uljima i mastima. Nezasićene masne kiseline dijelimo u dvije skupine, ovisno o broju dvostrukih veza. Mononezasićene masne kiseline su one koje u svom sastavu imaju jednu dvostruku vezu. Takve masne kiseline su manje reaktivne u odnosu na polinezasićene masne kiseline koje sadrže veći broj dvostrukih veza (Rac, 1964.; Rade i Škevin, 2014.).

U odnosu na zasićene masne kiseline, mononezasićene masne kiseline sa jednakim brojem ugljikovih atoma u lancu imaju niže talište, zbog prisustva dvostruke veze. Zbog toga su gliceridi mononezasićenih masnih kiselina u tekućem agregatnom stanju (Rac, 1964.). Na **Slici 2** je prikazana najpoznatija mononezasićena masna kiselina (oleinska).

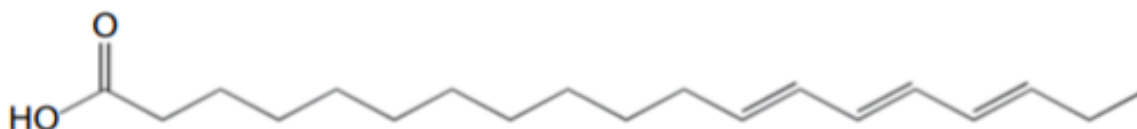


Slika 2 Oleinska, mononezasićena masna kiselina (Jašić, 2009.)

Porastom dvostrukih veza dolazi do povećanja reaktivnosti nezasićenih masnih kiselina. Polinezasićene masne kiseline su one koje imaju veći značaj u ishrani stoke i ljudskoj prehrani. **Slika 3** prikazuje linolnu, a **Slika 4** prikazuje linolensku polinezasićenu masnu kiselinu (Rac, 1964., Sadadinović, 2008.).



Slika 3 Strukturna formula linolne masne kiseline (web 1)



Slika 4 Strukturna formula linolenske masne kiseline (Baishya i sur., 2017.)

Nezasićene masne kiseline se mogu pojaviti u dva geomertijski izomerna oblika. Kod *cis* geometrijskog izomernog oblika atomi vodika se nalaze na istoj strani dvostruke veze. *Trans* oblik predstavlja onaj oblik gdje su atomi vodika smješteni na suprotnim stranama dvostruke veze. Kako bi se pravilno provodio postupak hidrogenacije i da bi imali uvid u kvalitetu masti,

važno je odrediti udio *trans* masnih kiselina (Sadadinović, 2008.). *Cis* i *trans* oblik imaju isti kemijski sastav, ali različita fizikalna svojstva. *Trans* izomerni oblik masne kiseline ima manju reaktivnost od *cis* izomera.

Nezasićene masne kiseline mogu sadržavati izolirane ili konjugirane dvostruke veze. Kod konjugirane, dvostruke veze nalaze se u susjednom položaju i to su veze koje nastaju tijekom procesa hidrogenacije, rafinacije ili zagrijavanja ulja.

2.1.3. Negliceridni sastojci

Negliceridnim sastojcima nazivamo spojeve koji se pojavljuju u uljima i mastima u malim koncentracijama svega oko 1-2 %. Ovoj skupini spojeva pripadaju:

- karoteni,
- liposolubilni vitamini (A, D, E, K),
- steroli,
- fosfatidi,
- pigmenti,
- voskovi,
- ugljikovodici,
- masni alkoholi,
- aldehidi i ketoni,
- tragovi metala i dr.

Steroli, tokoferoli te fosfolipidi su sastojci koji su prisutni u svim uljima i mastima. Ostali sastojci mogu biti poželjni u sastavu kao što su to karoteni i liposolubini vitamini. Voskovi i tragovi metala su izrazito nepoželjni sastojci u ulju (Čorbo, 2008.).

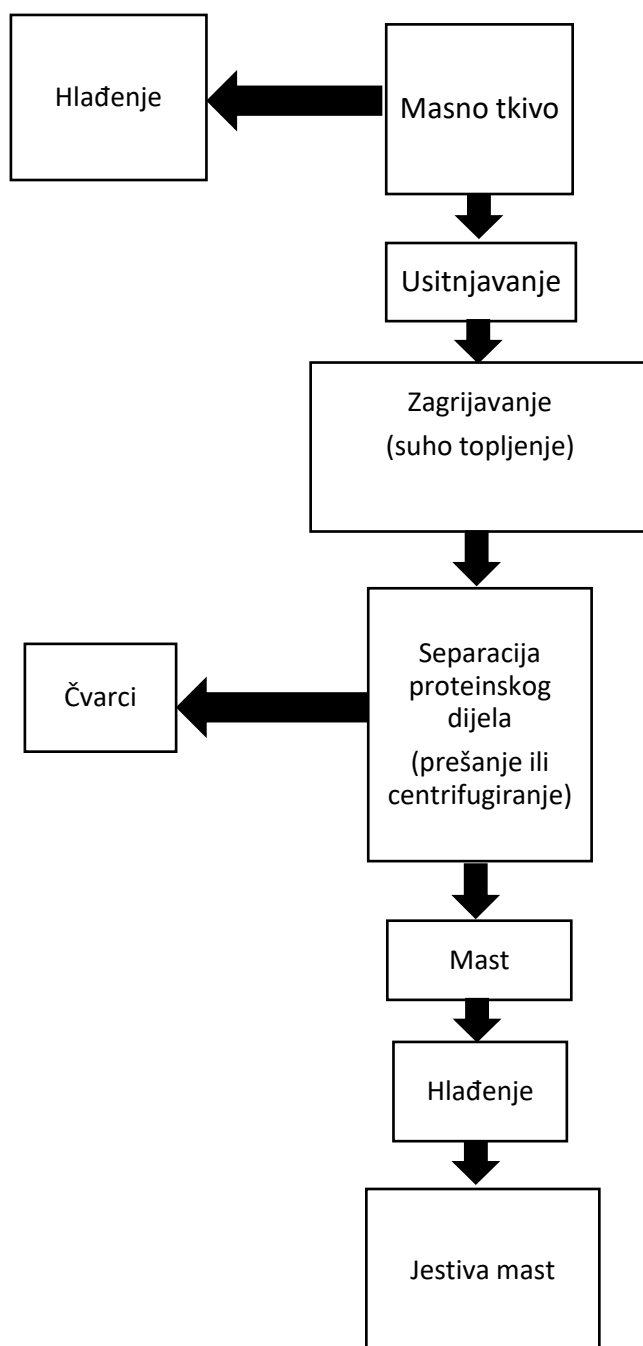
2.2. TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE ANIMALNIH MASTI

Sirovine animalnog podrijetla koje se koriste u proizvodnji masnoća su: svinjska mast, loj goveda, ovaca, koza, pilića (Čorbo, 2008.). Masna tkiva domaćih životinja nakupljaju se u životinjskim organizmima zajedno sa formiranjem vezivnog i mišićnog tkiva. U životinjskim organizmima ono služi kao biološka rezerva, osim toga služi i za zaštitu pojedinih organa u organizmu. Animalne masti se dobivaju iz masnog tkiva toplokrvnih životinja. Takve masti imaju visok sadržaj zasićenih masnih kiselina, kao što su palmitinska ($C_{16:0}$), stearinska ($C_{18:0}$) i nizak sadržaj nezasićenih masnih kiselina (Čorbo, 2008.).

Prema sadržaju, masti imaju različitu kemijsku strukturu. Masti spadaju u grupu prirodnih kemijskih spojeva koji se nazivaju lipidi. U prirodi se javljaju u smjesi s ostalim spojevima iz navedene skupine. Masti se dijele na jednostavne, složene i izvedene. Jednostavne masti čine esteri glicerola i masnih kiselina-triacilglicerola. Triacilglicerol kao alkoholna komponenta može stvarati monoestre, diestre i triestre, koji se prema broju vezanih masnih kiselina na molekulu glicerola nazivaju monoacilgliceroli, diacilgliceroli i triacilgliceroli. Složene masti čine fosfolipidi i lipoproteini, a izvedene steroli (kolesterol, steroidni hormoni) i vitamini (A, D, E, K) topljivi u mastima. Animalne masti bogate su vitaminima A i D.

Masti se u prehrani ne mogu potpuno zamijeniti ni s jednim drugim proizvodom. Zajedno sa bjelančevinama i ugljikohidratima spadaju u makronutrijente. Masti predstavljaju značajnu komponentu koja ima najveću energetska vrijednost. Jedan gram masti daje 37, 62 kJ odnosno 9 kcal (Čorbo, 2008.).

Na **Slici 5** prikazan je suhi postupak topljenja masnog tkiva.



Slika 5 Suhi postupak topljenja masnog tkiva

2.3. PRINCIP PRERADE MASNOG TKIVA I PROIZVODNJA SVJEŽE PILEĆE MASTI

Animalne jestive i nejestive masti sastoje se od masti, vode i bezmasne suhe tvari (ugljikohidrati, proteini, minerali). Masno tkivo sadrži enzim lipazu. Lipaza cijepa trigliceride na masne kiseline i glicerol. Djelovanje lipaze se javlja pri temperaturama od 40-60 °C, ona se inaktivira na umjereno povišenoj temperaturi na kojoj se mast topi. Na kvalitetu i stabilnost utječe vrijeme skladištenja prije procesa topljenja. Proces dobivanja, odnosno prerade sastoji se od dvije faze: priprema sirovine i dobivanje masti (Čorbo, 2008.).

2.3.1. Priprema svježe pileće masti

Sakupljanje pilećeg masnog tkiva treba vršiti odmah, ili nekoliko sati poslije klanja. Sakupljanje i priprema sirovine za topljenje zahtijeva jednostavniji postupak u odnosu na pripremu zrna uljarica.

Nakon klanja pilića, vađenja unutrašnjih organa i pranja trupova, odvaja se i sakuplja masno tkivo. Nakon toga se transportira do mjesta gdje se vrši njegova prerada i hlađenje.

Skladištenje i hlađenje se obavlja u hladnjačama na temperaturi od +1 do +3 °C. Cijeli proces hlađenja može trajati od 24 do 36 sati.

Prije početka topljenja treba izvršiti pripreme u koje spadaju:

- hlađenje,
- sortiranje,
- ispiranje i
- usitnjavanje (Čorbo, 2008.).

2.3.2. Dobivanje svježe pileće masti

Prisustvo masti u sirovini zavisi od vrste životinje, uhranjenosti, starosti, spola, dijela tijela s kojeg je uzeto masno tkivo i dr. Sirovina koja se koristi za proizvodnju jestive masti treba dati sadržaj masti od 65 do 95 %. Kod većeg dijela sirovina to nije slučaj, većinom je udio masti od 75 do 85 %. Ostatak čini voda, oko 6 do 25 %.

Cilj tehnoloških postupaka prerade je dobiti mast iz masnog tkiva sa niskim sadržajem slobodnih masnih kiselina, dobre održivosti i dobrih organoleptičkih svojstava. Da bi se dobila mast dobre kvalitete, potrebno je zadovoljiti sljedeće uvjete:

- sirovina koja se prerađuje treba biti svjež, tj. transportirana na mjesto prerade odmah nakon klanja životinja ili iz hladnjače,
- za vrijeme tehnološkog procesa prerade temperatura topljenja mora biti što niža te topljenje mora završiti u što kraćem vremenskom periodu, a zatim se mora brzo ohladiti. Zagrijavanje i hlađenje se treba provesti bez kontakta s atmosferskim zrakom.

Za dobivanje jestivih masti koristi se postupak suhog i mokrog topljenja (Čorbo, 2008.).

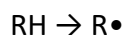
2.4. KVARENJE MASTI

Za vrijeme skladištenja masnog tkiva i masti odvijaju se odgovarajući autolitički procesi, što utječe na smanjenje njihovih kvalitetnih karakteristika. Navedeni procesi mogu teći u pravcu oksidacije i hidrolize. Oba procesa mogu djelovati istovremeno. Oksidacijske promjene javljaju se bez obzira u kojem se obliku nalazi masno tkivo i proizvedena mast (Čorbo, 2008.).

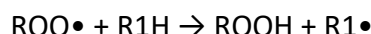
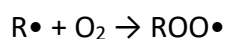
Autooksidacija

Oksidacija masti je razgradnja masnog tkiva, što dovodi do smanjenja organoleptičkih svojstava i hranjive vrijednosti. Autooksidacija masti je oksidacijsko kvarenje nezasićenih masnih kiselina autokatalitičkim procesom koji se zasniva na mehanizmu djelovanja radikala u lančanoj reakciji. Faze procesa autooksidacije ulja i masti su:

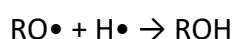
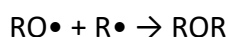
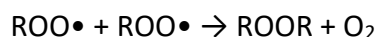
1. **Inicijacija** je nastanak nestabilnog slobodnog radikala masne kiseline uz energiju elektromagnetskog zračenja ili katalizatore poput iona metala,



- 2. Propagacija** je kada masnokiselinski radikal reagira s molekularnim kisikom i nastaje peroksidni radikal masne kiseline koji drugoj molekuli masne kiseline „otima“ atom vodika – time započinje lančana reakcija. Također, nastali hidroperoksidi se mogu fragmentirati u slobodne radikale, npr. u prisustvu iona metala,



- 3. Terminacija** je nastanak neradikalnih produkata (alkohola, aldehida, ketona, ugljikovodika, polimera, itd.) međusobnom reakcijom slobodnih radikala ili djelovanjem antioksidanasa.



Hidroliza masti

Hidroliza masti je razgradnja triglicerida na glicerol i masne kiseline. Tada dolazi do nakupljanja slobodnih masnih kiselina. Razgradnju uzrokuje lipaza, voda, toplina i mikroorganizmi.

Pokazatelj hidrolitičkog kvarenja je količina nastalih slobodnih masnih kiselina koje nastaju uslijed cijepanja esterske veze alkohola glicerola i masne kiseline. Slobodne masne kiseline nemaju okusa ni mirisa, same po sebi nisu štetne za ljude, ali štetno djeluju na ulje zato što:

- smanjuju oksidacijsku stabilnost ulja,

- imaju prooksidacijsko djelovanje, svojom karboksilnom skupinom ubrzavaju razgradnju hidroperoksida i stvaranje sekundarnih produkata oksidacije ulja,
- potiču prelazak iona metala s metalnih dijelova opreme i tankova u ulje.

2.5. STABILIZACIJA ULJA I MASTI

Stabilizacija ulja i masti prema oksidacijskom kvarenju može se poboljšati dodavanjem antioksidanasa (prirodni i sintetski) te dodatkom sinergista uz antioksidanse. Stabilizacija se provodi kako bi se produžilo vrijeme trajnosti i čuvanja ulja i masti, zatim kako bi se usporilo ili spriječilo kvarenje ulja ili masti. Ukoliko bi došlo do kvarenja, kao posljedica bi bila pojava neugodnog mirisa, okusa te narušavanja senzorskih svojstava ulja.

2.5.1. Antioksidansi

Antioksidansi se koriste za stabilizaciju ulja i masti. U malim koncentracijama, u manjoj ili većoj mjeri usporavaju proces autooksidacije. U današnje vrijeme je poznat veći broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste kao inhibitori oksidacije. Antioksidansi sprječavaju proces oksidacije masti sve dok traje njihovo djelovanje, koje može biti jače ili slabije, a sve ovisno o vrsti antioksidanasa, koncentraciji u kojoj je dodan, vrsti masti i uvjetima čuvanja. U uljima i mastima, da bi se održivost povećala za 3 do 6 puta dozvoljeno ih je dodavati u koncentraciji od 0,005 do 0,02 %. Biljna ulja sadrže dovoljno prirodnih antioksidanasa (npr. tokoferoli), pa ih nije potrebno dodavati, da ne bi djelovali prooksidativno.

Animalne masti ne sadrže prirodne antioksidanse, te im se oni moraju dodavati (Čorbo, 2008.).

Antioksidansi koji se koriste u prehrani moraju zadovoljiti neke određene uvjete:

- moraju biti topljivi u uljima i mastima,
- moraju imati aktivno djelovanje prilikom dodavanja u vrlo malim koncentracijama (0,001 do 0,02 %),
- ne smiju uzrokovati strani miris, okus i boju ulja i masti, ni nakon dužeg skladištenja ili zagrijavanja,

- antioksidacijsko djelovanje u ulju mora biti preneseno i na proizvod koji sadrži to ulje ili mast,
- ne smiju biti preskupi i
- mora se moći jednostavno identificirati i odrediti u proizvodima (Čorbo, 2008.).

Ulja i masti koja sadrže prirodne antioksidanse mogu se čuvati od šest mjeseci do godinu dana, a da u tom periodu ne dođe do kvarenja.

Prirodni antioksidansi

Istraživanja provedena na temu antioksidacijskog djelovanja nekih vrsta biljaka i njihovih derivata poput esencijalnih ulja ili ekstrakta, pokazala su da prirodni antioksidansi, uz pravilnu primjenu doprinose zdravlju organizma.

Neki od izvora prirodnih antioksidanasa su ekstrakt ružmarina, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt kadulje i dr. Zahvaljujući aktivnim komponentama kao što su karnosol, rozamol, karnosolna te ursolična kiselina, ružmarin ima antioksidacijsko djelovanje (Özcan i Arslan, 2011.). Svoja antioksidacijska svojstva, ekstrakt zelenog čaja duguje prisustvu katehina (Madhavi, 1996.). Dobar izvor terpena i polifenola ima kadulja. Polifenoli su ti koji imaju antioksidacijsko djelovanje te su iz tog razloga našli upotrebu u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Glavna antioksidacijska svojstva kadulje se pripisuju prisustvu derivata kafeinske kiseline te flavona. Osim antioksidacijskog djelovanja, kadulja ima antialergijska, antitumorna, antimikrobna, antibiotska te hipoglikemijska svojstva (Dent i sur., 2017.).

Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi koji se ističu su butilhidroksianisol (BHA) i butilhidroksitoluen (BHT). Ustanovljeno je, na temelju niza istraživanja da ovi antioksidansi mogu biti povezani sa toksičnošću i štetnim djelovanjem na organizam. Iz tog razloga predlaže se korištenje jestivih biljaka kao izvor sigurnih i prirodnih antioksidanasa (Inatani i sur., 2014.; Özcan i Arslan, 2011.).

2.5.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz antioksidanse produžuju njihovo djelovanje do tri puta.

Sinergisti koji se najviše koriste u kombinaciji sa antioksidansima su:

- kiseline (askorbinska, limunska, vinska, octena i dr.) i
- lecitin (Čorbo, 2008.).

Mehanizmi djelovanja sinergista su sljedeći:

- inaktiviraju ione metala vezanjem na njih i samim tim sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
- daju svoj vodikov atom antioksidansu, reduciraju ga i regeneriraju i produžuju mu vrijeme djelovanja i
- vežu se sa slobodnim radikalom antioksidansa i time sprječavaju njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Zakonskim propisima regulirana je količina sinergista koja se dodaje. Uz antioksidanse dodaju se od 0,005 do 0,02 % (Čorbo, 2008.).

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA I MASTI

Za određivanje užeglosti ulja i masti ili oksidacijskog kvarenja koristi se više metoda. Stupnjem oksidacije utvrđuje se kvaliteta, njihova upotrebljivost u prehrani i vremenski period skladištenja.

Postoji niz metoda za praćenje oksidacijskih promjena ulja i masti, ali niti jedna od njih nije dovoljno precizna da bi se mogla koristiti samostalno. Iz tog razloga se za određivanje koristi više metoda kako bi se odredili primarni i sekundarni produkti oksidacije.

Najčešće korištene metode su:

- senzorska analiza,
- peroksidni broj,
- anisidinski broj i
- specifične apsorbancije (R-vrijednosti) (Čorbo, 2008.).

Senzorska analiza

Senzorska analiza temelji se na određivanju nepoželjnog, užeglog mirisa i okusa nastalog uslijed prisustva razgradnih, sekundarnih produkata oksidacije. Bez obzira što su te analize subjektivne i nedovoljne za donošenje konačne ocjene nekog proizvoda, vrlo su važna pri ispitivanju kvalitete ulja (Čorbo, 2008.).

Peroksidni broj (Pbr)

Jedna od najstarijih i najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije masti je metoda određivanja peroksidnog broja (Čorbo, 2008.). Temelji se na određivanju peroksida kao primarnih produkata oksidacije. Peroksidi su izrazito nestabilni te se mogu razgraditi tako da nastanu slobodni (hlapljivi) i vezani (nehlapljivi) aldehidi (Dimić, 2005.).

Peroksidni broj se izražava u milimolovima aktivnog kisika po kilogramu masti ($\text{mmol O}_2/\text{kg}$) (Dimić, 2005.).

Anisidinski broj (Abr)

Pomoću anisidinskog broja određuje se udio sekundarnih produkata oksidacije (Dimić, 2005.). Iz vrijednosti za anisidinski broj može se procijeniti i održivost jestivog ulja. Što je viša vrijednost ovog broja to je slabija održivost ulja (Čorbo, 2008.).

Specifične apsorbancije

Metoda se temelji na određivanju apsorbancijskih maksimuma na valnim duljinama koje iznose 232 nm i 270 nm. Hidroperoksidi, konjugirani dieni, kao primarni produkti oksidacije, pokazuju maksimum apsorpcije na 232 nm. S druge strane, na 270 nm dobije se uvid u sadržaj konjugiranih triena, sekundarnih produkata oksidacije nastalih iz hidroperoksida (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

Što su vrijednosti apsorbancije pri 232 i 270 nm veće (posebno pri 270 nm), ulja su više oksidirana (Čorbo, 2008.).

Što je R-vrijedost niža, ulje je lošije kvalitete (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.). Prema **Formuli 1** R-vrijednost predstavlja odnos ovih specifičnih apsorbancija:

$$R - \text{vrijednost} = \frac{A_{232\text{nm}}}{A_{270\text{nm}}} \quad (1)$$

gdje je: R-vrijednost – predstavlja odnos specifičnih apsorbancija,

$A_{232\text{nm}}$ – apsorbancija pri 232 nm,

$A_{270\text{nm}}$ – apsorbancija pri 270 nm.

2.7. OKSIDACIJSKA STABILNOST

U periodu skladištenja masnog tkiva i masti, događaju se odgovarajući autolitički procesi, što utječe na smanjenje njihovih kvalitetnih karakteristika. Navedeni procesi mogu dovesti do oksidacije i hidrolize. Oksidacijske promjene se javljaju bez obzira u kojem se obliku nalazi masno tkivo i proizvedena mast.

Masti i ulja su proizvodi koji su podložni kvarenju do kojeg dolazi uslijed kemijskih, mikrobioloških te enzimskih reakcija. Rezultat navedenih procesa dovodi do nastanka razgradnih produkata koji narušavaju okus, boju i miris ulja, a mogu biti i štetni za zdravlje ljudi (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.). Oksidacijsko kvarenje ulja i hidrolitička razgradnja su najčešći načini kvarenja. Rezultat hidrolitičke razgradnje je povećana kiselost ulja, nastanak monoglicerida te diglicerida i glicerola dok se oksidacijsko kvarenje odvija uz prisustvo kisika. Krajnji produkt oksidacijskog kvarenja su slobodni radikali.

Potrebno je odrediti oksidacijsku stabilnost kako bi se odredio period tijekom kojeg se ulje može čuvati bez znatnijih promjena na kvaliteti. Oksidacijska stabilnost uvelike ovisi o vrsti te uvjetima čuvanja ulja. Testovi koji se primjenjuju temelje se na ubrzanoj oksidaciji ulja pomoću nekog čimbenika koji uzrokuje kvarenje (Dimić, 2005.). Neki od testova su: Schaal Oven test, AOM test, test održivosti na 98 °C te Rancimat test.

2.7.1. Schaal Oven test

Jedan od najjednostavnijih i najstarijih testova za određivanje oksidacijske održivosti ulja i masti. Primjenom Schaal Oven testa uzorci ulja se postavljaju u sušionik na temperaturu 60 °C ili 63 °C. Tijekom provedbe testa prati se porast peroksidnog broja (Pbr) te promjene senzorskih svojstava uzorka u određenom vremenskom periodu. Za održivost ulja i masti uzima se vrijeme u danima, koje je potrebno da peroksidni broj ulja dosegne određenu vrijednost ili se senzorskim ispitivanjem utvrdi pojava užeglosti ulja ili masti. Treba naglasiti da

jedan dan Schaal Oven testa odgovara održivosti ulja 6-12 dana pri sobnoj temperaturi (Dimić i Turkulov, 2000.).

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

Swift test se odvija u Swift uređaju gdje se uzorci ulja kroz koje prolazi struja zraka zagrijevaju na 97,8 °C. U određenim vremenskim intervalima se uzimaju uzorci ulja i određuje se vrijednost peroksidnog broja (Pbr) koji u početku neznatno raste, nakon čega započinje intenzivan rast u svim uzorcima (Patterson, 1983.). Iz održivosti ulja određene AOM testom može se izračunati približna održivost ulja pri sobnoj temperaturi, zbog rezultata ispitivanja koji su pokazali da 1h AOM testa odgovara približno 20 dana čuvanja ulja pri sobnoj temperaturi. Ulja i masti dobre kvalitete i održivosti poslije 8h AOM testa moraju imati peroksidni broj (Pbr) manji od 5 mmol O₂/kg ulja (Karimović, 2015.).

2.7.3. Test održivosti na 98 °C

Temelji se na određivanju peroksidnog broja (Pbr) uzoraka ulja i masti koji su postavljeni u sušionik na temperaturu 98 °C. Primjenom ovog postupka uzorci masti se zagrijevaju u termostatu pri temperaturi 98 °C. Nakon zagrijavanja se prati promjena vrijednosti peroksidnog broja ili senzorske promjene masti uzrokovane oksidacijskim kvarenjem u određenim vremenskim razmacima; satima, danima (Moslavac i sur. 2018.).

2.7.4. Rancimat test

Rancimat test se temelji na ubrzanom kvarenju ulja i masti pri točno definiranim uvjetima. Test se provodi na Rancimat uređaju primjenom povišenih temperatura (100 °C, 110 °C, 120 °C) i propuhivanjem zraka kroz uzorak dolazi do oksidacije ulja. Rezultat oksidacije je stvaranje niskomolekularnih hlapljivih kiselina, a među najzastupljenijima je mravlja kiselina. Osim mravlje kiseline, nastaju octena, buterna, propionska i kapronska (Čorbo, 2008.). Vrijeme indukcijskog perioda (IP) označava se kao indeks održivosti ulja i masti, pri određenoj temperaturi. Indukcijski period (IP) ukazuje na otpornost ulja i masti prema oksidaciji. Što je indukcijski period (IP) duži, bolja je oksidacijska stabilnost, odnosno održivost. U Rancimat uređaju se može istovremeno ispitati više različitih uzoraka ulja i masti u temperaturnom opsegu od 40 °C do 200 °C (Čorbo, 2008.).

Tablica 2 Indukcijski period (IP) u satima različitih vrsta ulja pri određenim temperaturama

VRSTA ULJA	TEMPERATURA ISPITIVANJA (°C)	INDUKCIJSKI PERIOD-IP (h)
Suncokretovo ulje	100	7,1-12,2
Suncokretovo ulje	120	3,5-6,3
Ulje kukuruznih klica	100	18,9
Arašidovo (kikiriki) ulje	100	13,2-29,2
Maslinovo ulje	100	19,6-29,4
Palminovo ulje	100	42,5
Repičino ulje	100	14,0
Sojino ulje	100	10,5

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada je bio ispitati oksidacijsku stabilnost svježe proizvedene pileće masti, sa i bez dodanog antioksidansa. Kako bi došli do rezultata bilo je potrebno ispitati utjecaj dodatka pojedinog antioksidansa na održivost proizvedene svježe pileće masti primjenom Schaal Oven testa (63 °C) i praćenje promjene vrijednosti peroksidnog broja uzorka pileće masti (kontrolni uzorak) i uzoraka s dodanim prirodnim i sintetskim antioksidansima tijekom šest dana trajanja testa.

Prije određivanja oksidacijske stabilnosti određeni su osnovni parametri kvalitete proizvedene svježe pileće masti primjenom standardnih metoda, određeni su: peroksidni broj, udio slobodnih masnih kiselina, udio netopljivih nečistoća, udio vlage u masti, jodni i saponifikacijski broj.

3.2. MATERIJAL I METODE

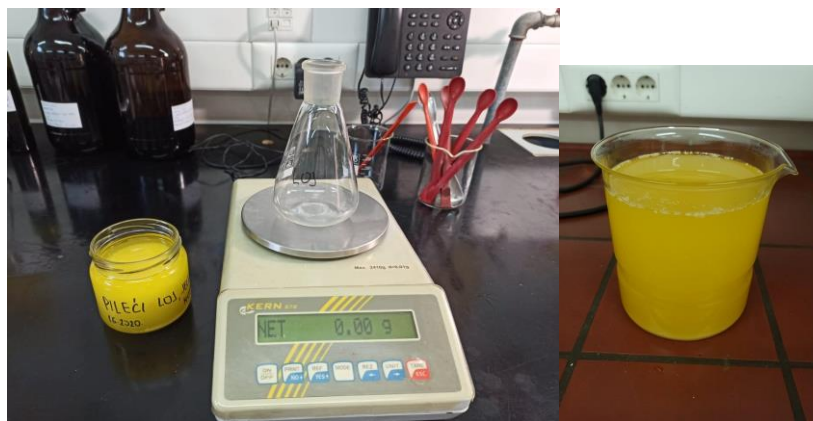
3.2.1. Materijali

Pileća mast

Pileća mast koja se koristila u ovom diplomskom radu je domaće proizvodnje uzgoja pilića.



Slika 6 Ispitivani uzorak pileće masti i zagrijavanje



Slika 7 Ispitivani uzorci pileće masti

Antioksidansi

Za ispitivanje utjecaja dodanih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnost svježe pileće masti Schaal Oven testom pri 63 °C pripremljeno je 12 uzoraka. Ispitivan je jedan uzorak bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak), a u ostalih 11 dodano je 9 antioksidanasa pojedinačno ili u kombinaciji.

Kod ispitivanja korišteni su sljedeći antioksidansi:

- ekstrakt zelenog čaja,
- ekstrakt rtanjskog čaja,
- kofeinska kiselina (HPLC) (Sigma),
- ružmarinska kiselina (Alfa Aesar),
- terc butihidrokinon (TBHQ) (Acros Organics),
- α -tokoferol (KEMIG d.o.o.),
- mješavina tokoferola (DSM U.S.A),
- ekstrakt kadulje (Naturex, Francuska) i
- ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS (Naturex, Francuska).

Ekstrakt zelenog čaja

Proizvodi se iz lišća biljke *Camellia sinensis* L. Ekstrakt zelenog čaja je bogat polifenolima i katehinima. Oba djeluju kao antioksidansi pa zaustavljaju peroksidno djelovanje slobodnih radikala. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelu od 0,2 % pojedinačno te u udjelu od 0,2 % uz 0,01 % kofeinske kiseline računato na masu ulja.

Ekstrakt rtanjskog čaja

Rtanjski čaj (*Satureja montana* L.) ubraja se u aromatične ljekovite biljke. Upotrebljava se u vidu čaja i praha. Ima antioksidacijsko djelovanje zbog prisustva karvakrola, fenola, cimola i dr. U ispitivanju ekstrakt rtanjskog čaja korišten je u udjelu od 0,2 % računato na masu ulja.

Kofeinska kiselina (HPLC) (Sigma)

Kofeinska kiselina se smatra prevladavajućim polifenolom. Ima jako dobro antioksidacijsko djelovanje. Ona je prirodni prehrambeni fenolni spoj koji se nalazi u biljkama i koji je antioksidans. U ispitivanju kofeinska kiselina korištena je u udjelu od 0,2 % samostalno te u udjelu od 0,01 % uz 0,2 % ekstrakta zelenog čaja zatim u udjelu od 0,01 % uz 0,2 % ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS računato na masu ulja.

Ružmarinska kiselina (Alfa Aesar)

Ružmarinska kiselina ima antimutagena, antimikrobna, antiviralna i antioksidacijska svojstva. U ispitivanju ružmarinska kiselina korištena je u udjelu od 0,2 % računato na masu ulja.

(TBHQ) terc butilhidrokinon (Acros Organics)

Terc-butilhidrokinon (TBHQ) fenolni je antioksidans. Pri višim temperaturama pokazuje citotoksično ponašanje, a pri niskim koncentracijama pokazuje citoprotektivne osobine. Često se koristi kao konzervans. U ispitivanju tert-butilhidrokonona (TBHQ) korišten je u udjelu od 0,01 % računato na masu ulja (Web 3).

 α -tokoferol (KEMIG d.o.o.)

α -tokoferol ili poznatiji kao prirodni vitamin E proizveden je u Hrvatskoj. U ispitivanju korišten je u udjelu od 0,2 % računato na masu ulja.

Mješavina tokoferola (DSM U.S.A.)

Mješavina tokoferola je žute do smeđe-crvene boje. Bistro, viskozno ulje bez karakterističnog mirisa. Sadrži 0-15 % α -tokoferola, manje od 5 % β -tokoferola, 55-75 % γ -tokoferola i 20-30 % δ -tokoferola. Dobro je topljiv u lipofilnim otapalima kao što je ulje, ali je netopljiv u vodi. U ispitivanju korišten je u udjelu od 0,2 % računato na masu ulja.

Ekstrakt kadulje (Naturex, Francuska)

Kadulja (*Salvia officinalis*) ima antibakterijsko i antifungalno djelovanje. Jako aromatični listovi se koriste kao aroma u hrani, koristi se suha ili svježa. U ispitivanju korištena je u udjelu od 0,2 % računato na masu ulja (Web 2).

Ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS (Naturex, Francuska)

U ispitivanju korišten je u udjelu od 0,2 % samostalno i 0,2 % uz 0,01 % kofeinske kiseline u kombinaciji računato na masu ulja.



Slika 8 Korišteni antioksidansi

3.2.2. Metode rada

3.2.2.1. Određivanje osnovnih parametara kvalitete pileće masti

Parametri kvalitete ulja (peroksidni broj, slobodne masne kiseline, udio netopljivih nečistoća, udio vlage, jodni broj i saponifikacijski broj) određeni su primjenom standardnih metoda.

Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj predstavlja indikator svježine, odnosno užglosti nekog ulja ili masti.

Izvagano je oko 1 g ulja te je dodano 10 mL smjese ledene octene kiseline i kloroforma. Nakon homogenizacije uzorka dodano je, prethodno izvaganog, 0,2 mL kalijevog jodida (KI). Uzorak je miješan jednu minutu. Nakon miješanja dodano je 20 mL prokuhane i ohlađene destilirane vode. 0,5 mL škroba kao indikatora dodaje se uzorku, nakon čega je odmah provedena titracija. Titracija se provodi sa 0,01M natrijevog tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Titracija je završila kada je došlo do promjene boje **Slika 9**. Prema **Formuli 2** možemo izračunati peroksidni broj.

Izračun:

$$\text{Pbr} = \frac{(a-b) \cdot 5}{c} \text{ (mmol O}_2\text{/kg)} \quad (2)$$

gdje je:

a – volumen 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utrošenog za titraciju uzorka ulja (mL),

b – volumen 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utrošenog za titraciju slijepe probe (mL),

c – masa uzorka (g).



Slika 9 Određivanje peroksidnog broja

Udio slobodnih masnih kiselina

Izvagano je 5 g uzorka ulja te je dodano 50 mL neutralne smjese etera i etanola. Nakon što se promućkalo dodano je nekoliko kapi fenolftaleina te je provedena titracija sa 0,1M NaOH. Titracija je završila kada je došlo do promjene boje. Rezultat se prikazuje u % SMK izražen kao oleinska kiselina. Iz **Formule 3** možemo izračunati udio slobodnih masnih kiselina.

Izračun:

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

gdje je:

V – volumen utrošenog 0,1 M NaOH za titraciju,

c – koncentracija utrošenog NaOH za titraciju,

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

m – masa uzorka ulja (g).



Slika 10 Određivanje slobodnih masnih kiselina

Udio netopljivih nečistoća

U Erlenmayerovu tikvicu sa brušenim grlom izvagano je 20 g uzorka. Nakon vaganja dodano je 100 mL n-heksana. Uzorak je nakon toga promiješan u začepljenoj Erlenmayerovoj tikvici te ostavljen da odstoji 30 minuta. Nakon 30 minuta uzorak je filtriran vakuum filtracijom primjenom prethodno osušenog lijevka sa sinteriranim dnom na temperaturi od 103 °C. Lijevak je poslije sušenja ohlađen u eksikatoru potom izvagan. Uzorak je filtriran na način da je ispran nekoliko puta sa otapalom do potrošnje 200 mL. Stakleni lijevak na kojem je zaostao netopljivi talog je potom osušen u sušioniku na temperaturi od 103 °C te ohlađen i izvagan. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja se ponavljao nekoliko puta do pojave konstantne mase. Iz **Formule 4** je vidljiv postupak izračunavanja udjela netopljivih nečistoća.

Izračun:

$$NN = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \cdot 100 (\%) \quad (4)$$

gdje je:

m_0 – masa uzorka (g),

m_1 – masa osušenog filter-lijevka (g),

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

Udio vlage u ulju

U prethodno osušenu, ohlađenu (u eksikatoru) te izvaganu posudicu s poklopcem izvagano je 5-10 g uzorka ulja. Uzorak je zatim stavljen u sušionik. Temperatura sušionika je 103 °C pri čemu je posudica tijekom bivanja u sušioniku bila otvorena. Nakon 2 h uzorak je u zatvorenoj posudici ohlađen u eksikatoru i izvagan. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja se ponavljao sve dok gubitak mase između dva vaganja nije bio manji od 0,002 g. Iz **Formule 5** je vidljiv postupak izračunavanja udjela vlage u ulju.

Izračun:

$$\% \text{ vlage i isparljivih tvari} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (5)$$

gdje je:

m_0 – masa staklene posudice (g),

m_1 – masa staklene posudice i uzorka prije sušenja (g),

m_2 – masa staklene posudice i uzorka nakon sušenja (g).

Određivanje jodnog broja

Uzorak ulja otopi se u kloroformu, zatim je otopini dodana otopina jodnog monobromida. Nakon dodavanja se homogenizirao, zatvorio staklenim čepom i ostavio u tamnom prostoru 30 minuta. Nakon 30 minuta otopini se dodao KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda te se vršila titracija s otopinom natrij tiosulfata. Titriralo se do pojave svijetlo žute boje, nakon čega se uzorku dodala otopina škroba i titrirala do nastanka plave boje. Prema **Formuli 6** može se odrediti jodni broj.

Izračun:

$$\text{Jodni broj} = \frac{(a-b) \cdot 1,269}{O} \quad (6)$$

gdje je:

a-utrošak 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za slijepu probu (mL),

b-utrošak 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za uzorak (mL),

O-odvaga uzorka (g).

Broj osapunjenja (saponifikacije)

U Erlenmayerovu tikvicu od 250 mL izvagano je 2 g uzorka i dodano 25 mL alkoholne otopine 0,5 M KOH. Saponifikacija se obavljala kuhanjem uz povratno hladilo oko 30 minuta. Zagrijavanje se vršilo oprezno na vodenoj kupelji uz pažljivo protresanje. Nakon završetka saponifikacije smjesa postane potpuno bistra. Tada se otopini dodalo nekoliko kapi fenolftaleina i na vruće se titrira višak lužine s 0,5 M kloridnom kiselinom do nestanka crvenog obojenja.

Izračun:

$$\text{Broj osapunjenja} = \frac{28,052 \cdot (a-b) \cdot f}{O} \text{ mgKOH/1g} \quad (7)$$

gdje je:

a-utrošak 0,5 M HCl za slijepu probu (mL),

b-utrošak 0,5 M HCl za uzorak (mL),

O-odvaga uzorka (g),

f-faktor = 0,5 M HCl,

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



Slika 11 Određivanje broja osapunjenja

3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti pileće masti

Priprema uzoraka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti pileće masti

Svježe proizvedenu pileću mast, domaćeg uzgoja pilića smo otopili na temperaturi vrelišta. Osnovni parametri kvalitete ulja određeni su prije početka ispitivanja oksidacijske stabilnosti. U staklene čašice izvaže se određena količina antioksidanasa u točno određenim koncentracijama zatim se doda 40 g ulja. Nakon dodavanja, promiješalo se staklenim štapićem. Uzorci se zagrijevaju na temperaturu 70 °C i održavaju na toj temperaturi uz stalno miješanje 30 minuta. Temperatura ne smije prijeći 80 °C. Miješanje se provodi kako bi nastala homogena smjesa s antioksidansima, zatim se uzorci hlade na sobnu temperaturu. Uzorci u čašama prekriju se satnim stakalcem i stavljaju u sušionik čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa i bez dodanih antioksidanasa. Uzorke treba uzrokovati svakih 24 h i odrediti peroksidni broj (Pbr) tijekom 6 dana.

UZORCI:

1. Pileća mast
2. Pileća mast + 0,2 % ekstrakta zelenog čaja
3. Pileća mast + 0,2 % ekstrakta rtanjskog čaja
4. Pileća mast + 0,2 % ekstrakta zelenog čaja + 0,01 % kofeinske kiseline
5. Pileća mast + 0,2 % ružmarinske kiseline
6. Pileća mast + 0,2 % kofeinske kiseline
7. Pileća mast + 0,01 % terc-butilhidrokinon (TBHQ)
8. Pileća mast + 0,2 % α -tokoferola
9. Pileća mast + 0,2 % mješavina tokoferola
10. Pileća mast + 0,2 % ekstrakt kadulje
11. Pileća mast + 0,2 % ekstrakt ružmarina (tip Oxy'Less® CS)
12. Pileća mast + 0,2 % ekstrakt ružmarina + 0,01 % kofeinske kiseline

Schaal Oven test

Prethodno pripremljeni uzorci pileće masti sa i bez dodanog antioksidansa se zagrijavaju u termostatu pri temperaturi od 63 °C uz praćenje peroksidnog broja kroz šest dana. Uzorkovanje se provodi svakih 24 h kako bi se odredio peroksidni broj. Prethodno homogenizirani uzorci se uzrokuju u pripremljene čašice s popisom uzorka i antioksidanasa, odlije se oko 1 g ulja, a uzorci s uljem se vrata u termostat. Kada se temperatura uzorkovanih ulja spusti na sobnu temperaturu, određuje se peroksidni broj.

Rezultati Schaal Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O₂/kg) nakon određenog vremena stajanja u termostatu pri temperaturi 63 °C odnosno tijekom šest dana trajanja testa.



Slika 12 Priprema uzoraka pileće masti za Schaal Oven test i sušionik za provedbu testa na 63 °C

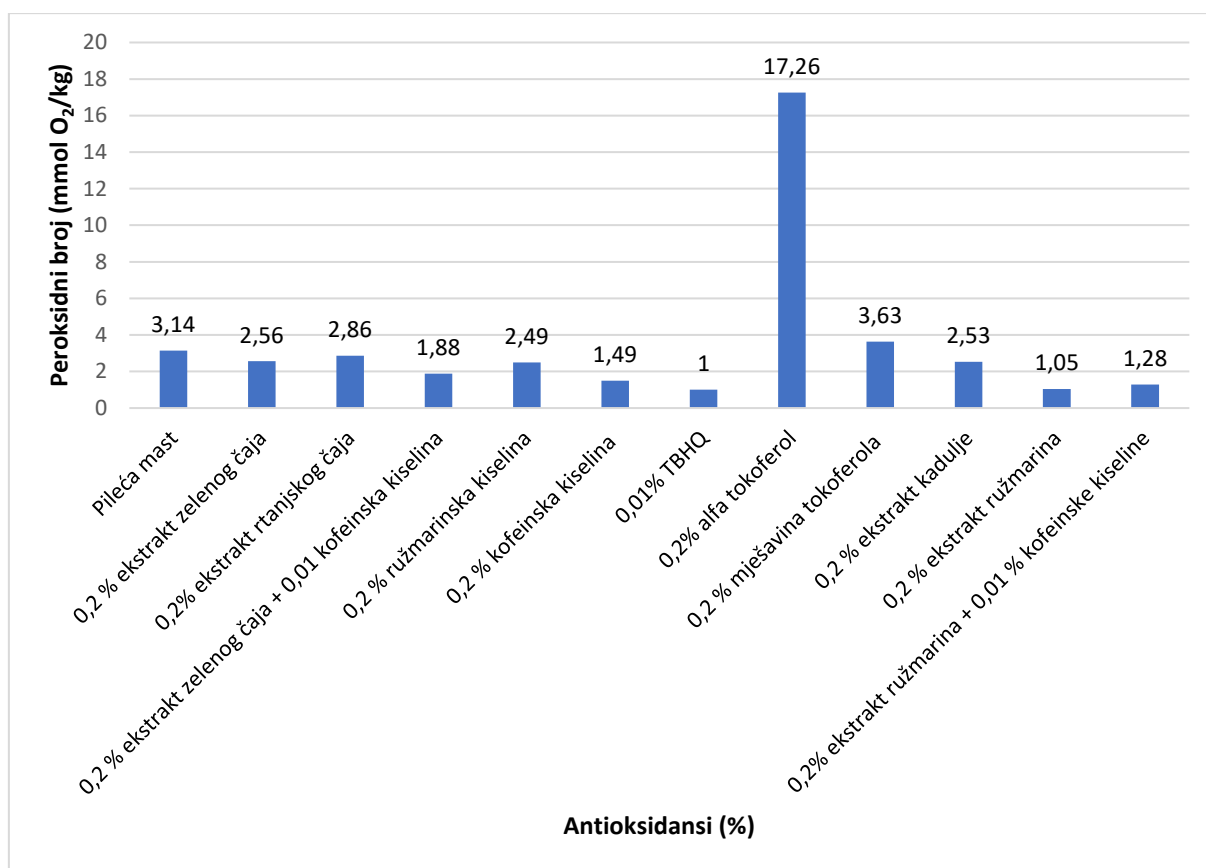
4. REZULTATI

Tablica 3 Osnovni parametri kvalitete svježe proizvedene pileće masti

Parametri kvalitete	Vrijednost	Pravilnik NN 11/2019
Peroksidni broj (Pbr); mmol O ₂ /kg	0	max. 2
Slobodne masne kiseline (SMK); %	0,34	max. 0,75
Netopljive nečistoće (NN); %	0,48	max. 0,5
Vlaga; %	0,39	max. 0,2
Jodni broj (JB); gI ₂ /100g	79,69	-
Saponifikacijski broj (SB); mgKOH/g ulja	205,98	-

Tablica 4 Oksidacijska stabilnost svježe pileće masti, sa i bez dodanog antioksidansa, određena Schaal Oven testom, tijekom 6 dana praćenja Pbr svakih 24 h

Uzorak	Peroksidni broj (Pbr) (mmol O ₂ /kg)						
	0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan
Pileća mast bez dodanog antioksidanasa (kontrolni uzorak)	0	1,03	1,02	1,76	2,75	2,66	3,14
Ekstrakt zelenog čaja (0,2 %)	0	0,50	0,50	0,98	1,00	2,03	2,56
Ekstrakt rtanjskog čaja (0,2 %)	0	0,51	0,76	1,58	2,05	2,52	2,86
Ekstrakt zelenog čaja (0,2 %)+kofeinska kiselina (0,01 %)	0	0,52	0,51	1,01	1,01	1,76	1,88
Ružmarinska kiselina (0,2 %)	0	0,77	1,00	2,05	2,31	2,58	2,49
Kofeinska kiselina (0,2 %)	0	0,49	0,52	0,75	1,00	1,30	1,49
TBHQ (0,01 %)	0	0,25	0,51	0,51	1,01	1,00	1,00
α-tokoferol (0,2 %)	0	3,03	5,70	7,91	11,45	16,26	17,26
Mješavina tokoferola (0,2 %)	0	0,99	1,55	1,93	2,41	3,11	3,63
Ekstrakt kadulje (0,2 %)	0	1,00	1,01	1,52	2,03	2,30	2,53
Ekstrakt ružmarina (0,2 %)	0	0,53	0,51	0,84	1,02	1,01	1,05
Ekstrakt ružmarina (0,2 %)+kofeinska kiselina(0,01 %)	0	0,49	0,51	0,51	1,01	1,23	1,28



Slika 13 Utjecaj dodatka antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti svježe pileće masti nakon 6 dana ubrzane oksidacije određene Schaal Oven testom

5. RASPRAVA

U **Tablici 3** prikazane su početne kemijske karakteristike (osnovni parametri) svježe pileće masti: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, udio netopljivih nečistoća, udio vode, jodni broj i saponifikacijski broj. Analitički određene i izračunate vrijednosti za osnovne parametre kvalitete svježe pileće masti su: peroksidni broj ($0 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$), slobodne masne kiseline ($0,34 \%$ oleinske), udio netopljivih nečistoća ($0,48 \%$), udio vode ($0,39 \%$), jodni broj ($79,69 \text{ gI}_2/100\text{g}$), saponifikacijski broj ($205,98 \text{ mgKOH/g}$ ulja) ukazuju na to da je ispitivana svježa pileća mast dobre kvalitete jer su vrijednosti u skladu sa Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (Narodne novine 11/19).

Moslavac i sur (2019.) su u svojim studijima utvrdili da je goveđa mast dobre kvalitete jer su vrijednosti u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (Narodne novine 41/12).

U **Tablici 4** i na **Slici 13** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti domaće pileće masti.

Dodatkom antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS ($0,2 \%$) postignuta je najveća efikasnost zaštite, veća stabilnost svježe pileće masti prema oksidacijskom kvarenju. Nakon 6 dana Schaal Oven testa, dobivena vrijednost peroksidnog broja je najniža i iznosi $1,05 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$ u odnosu na druge prirodne ispitivane antioksidanse.

Isto se dogodilo dodatkom antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS ($0,2 \%$) prilikom određivanja peroksidnog broja goveđeg loja nakon 120 sati testa održivosti. Dobivena vrijednost Pbr iznosi $1,41 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$ kako navode Moslavac i sur. (2019.). Također, Moslavac i sur. (2018.) su u svojoj studiji dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS ($0,2 \%$) postigli veću stabilnost tj. otpornost svinjske masti prema oksidacijskom kvarenju, nakon 43 sata testa vrijednost Pbr je najniža i iznosi $2,17 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$.

Isto tako u kombinaciji antioksidansa ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS ($0,2 \%$) sa kofeinskom kiselinom ($0,01 \%$) također pokazuje dobre rezultate jer peroksidni broj nakon 6 dana Schaal Oven testa iznosi $1,28 \text{ mmol O}_2/\text{kg}$, ali je ostvarena nešto lošija zaštita svježe pileće masti prema oksidacijskom kvarenju u odnosu na samo dodan ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less® CS ($0,2 \%$).

Što se tiče sintetskog antioksidansa terc-butilhidrokinon (TBHQ) udjela $0,01 \%$, pokazao se kao vrlo učinkovit u zaštiti pileće masti prema oksidacijskom kvarenju. Peroksidni broj, nakon 6

dana Schaal Oven testa je nizak i iznosi 1,00 mmol O₂/kg. Efikasnost zaštite postignuta je kao i kod primjene ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS (0,2 %).

Korištenjem ekstrakta zelenog čaja udjela 0,2 %, ostvarena je značajna zaštita svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja, na kraju testa vrijednost peroksidnog broja je bila 2,56 mmol O₂/kg. Još bolja zaštita pileće masti postignuta je kombinacijom ekstrakta zelenog čaja (0,2 %) i kofeinske kiseline (0,01 %), Pbr je niži 1,88 mmol O₂/kg.

Slične vrijednosti ima i ekstrakt rtanjskog čaja udjela 0,2 %, kojemu peroksidni broj nakon 6 dana Schaal Oven testa iznosi 2,86 mmol O₂/kg.

Antioksidans ružmarinska kiselina udjela 0,2 % pokazuje slične vrijednosti kao ekstrakt zelenog čaja (0,2 %) i ekstrakt rtanjskog čaja (0,2 %). Peroksidni broj nakon 6 dana Schaal Oven testa iznosi 2,49 mmol O₂/kg.

Kofeinska kiselina udjela 0,2 % pokazuje izvrsnu otpornost na oksidacijsko kvarenje kod pileće masti, jer je peroksidni broj vrijednosti 1,49 mmol O₂/kg, dakle efikasnija zaštita od ružmarinske kiseline.

Prirodni antioksidans ekstrakt kadulje udjela 0,2 % pokazuje dobru obranu od oksidacijskog kvarenja, jer peroksidni broj iznosi 2,53 mmol O₂/kg, dakle podjednako kao ekstrakt zelenog čaja.

Moslavac i sur. (2019.) u svojim istraživanjima utvrđuju da prirodni antioksidans ekstrakt kadulje udjela 0,2 %, manje je efikasno zaštitio goveđi loj od oksidacijskog kvarenja. Nakon 120 sati testa održivosti vrijednost Pbr je iznosila 8,14 mmol O₂/kg.

Prirodni antioksidans ekstrakt kadulje dodan u koncentraciji 0,2 % vrlo malo je zaštitio svinjsku mast od oksidacijskog kvarenja, nakon 43 sata testa vrijednosti Pbr je iznosio 10,10 mmol O₂/kg kako navode Moslavac i sur. (2018.).

Dodatkom antioksidansa α-tokoferola (0,2 %) nije postignuta zaštita svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja kao niti sa mješavinom tokoferola. Razlog tome je taj što α-tokoferol ima manje antioksidacijsko djelovanje u odnosu na druge izomerne oblike tokoferola. Nakon provedbe ispitivanja dobivena je skoro šest puta veća vrijednost peroksidnog broja (17,26 mmol O₂/kg) u odnosu na mješavinu tokoferola. Isto je dogodilo dodatkom antioksidansa α-

tokoferola (0,1 %) prilikom određivanja peroksidnog broja goveđeg loja nakon 120 sati testa održivosti kako navode Moslavac i sur. (2019.).

Korištenjem mješavine tokoferola udjela 0,2 %, nije ostvarena zaštita svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja, na kraju testa vrijednost peroksidnog broja iznosila je 3,63 mmol O₂/kg. Kod ovog prirodnog antioksidansa prevladava oblik γ -tokoferola koji ima veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α oblik i β oblik tokoferola, te je zaslužan za značajno nižu vrijednost Pbr nakon 6 dana testa u odnosu na α -tokoferol.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Ispitivana, svježe proizvedena pileća mast je dobre kvalitete, osnovni parametri kvalitete su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19).
2. Svježe proizvedena pileća mast pokazuje dobru oksidacijsku stabilnost. Nakon 6 dana provedbe Shaal Oven testa dobivena je relativno niska vrijednost peroksidnog broja 3,14 mmol O₂/kg.
3. Dodatkom ispitivanih antioksidanasa u svježu pileću mast došlo je do porasta njene stabilnosti, povećala se otpornost masti prema oksidacijskom kvarenju, osim kod primjene tokoferola.
4. Primjena terc-butilhidrokinona (TBHQ) (0,01 %) značajno je i najbolje povećala stabilnost svježe pileće masti, kao i dodatak ekstrakta ružmarina (0,2 %).
5. Primjenom antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS (0,2 %) i kombinacije antioksidansa ekstrakta ružmarina tip Oxy'Less® CS (0,2 %) sa kofeinskom kiselinom (0,01 %) došli smo do zaključka da ovi antioksidanski utječu na oksidacijsku stabilnost svježe pileće masti, ali je zapažena malo slabija efikasnost zaštite svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja u njihovoj kombinaciji.
6. Dodatak kofeinske kiseline (0,2 %) osigurava podjednak nivo zaštite pileće masti od oksidacije kao i primjena kombinacije ekstrakta zelenog čaja (0,2 %) i kofeinske kiseline (0,01 %).
7. Dodatak ekstrakta zelenog čaja (0,2 %) te ekstrakta rtanjskog čaja (0,2 %) u svježu pileću mast osigurava približnu razinu zaštite ove masti kao i primjena ružmarinske kiseline udjela 0,2 % i ekstrakta kadulje udjela 0,2 %.
8. Dodatkom antioksidansa α -tokoferola udjela 0,2 % nije postignuta zaštita svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja, kao niti dodatkom mješavine tokoferola. Nakon provedbe ispitivanja dobivena je skoro šest puta veća vrijednost peroksidnog broja u odnosu na mješavinu tokoferola.
9. Korištenjem mješavine tokoferola (0,2 %), nije ostvarena zaštita svježe pileće masti od oksidacijskog kvarenja, ali djeluje znatno bolje nego α -tokoferol.

7. LITERATURA

Baishya P, Mandal M, Gogoi P, Maji TK: Natural Polymer-Based Nanocomposites: A Greener Approach for Future. In Handbook of Composites from Renewable Materials, Scrivener Publishing LLC Vol. 7:433-460, 2017.

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

Dent M, Bursać Kovačević D, Bosiljkov T, Dragović-Uzelac V: Polyphenolic Composition of Antioxidant Capacity of Indigenous Wild Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.). *Croatica Chemica Acta* 90 (3):451-459, 2017.

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

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

Glycerol. In Encyclopedia of Chemical Technology, Vol. 10. urednici Kirk RE, Othmer DF. University of Michigan, Ann Arbor, 1967.

Inatani R, Nakatani N, Fuwa H, Antioxidative: Effect of the Constituents of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and Derivatives. *Agricultural and Biological Chemistry* 47:3, 521-528, 2014.

Jašić M: Kemija hrane - Lipidi. Tehnološki fakultet, Tuzla, 2009.

<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/lipidi>

Karimović M: Utjecaj dodataka antioksidanasa na održivost makovog ulja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.

Klapec i sur. Opasnosti vezane uz hranu, Interna skripta. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2020.

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

Mandić M: Znanost o prehrani, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

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

Moslavac T, Jokić S, Šubarić D, Babić J, Jozinović A, Grgić Š, Mrgan A: Influence of antioxidants on oxidative stability of beef tallow. *Meso* 21:52-61, 2019.

Moslavac T, Jokić S, Šubarić D, Aladić K: The influence of antioxidants on the oxidative stability of pork fat. *Meso* 20:317-324, 2018.

Moslavac T: Tehnologija ulja i masti, Interna skripta. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.

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

Özcan Musa M, Arslan D: Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food Chemistry*, 129, 171-174, 2011.

Patterson HBW: Hydrogenation of fats and oils. Science publishers LTD, RippleRoad, Barking, Essex, England, 1983.

Pine SH.: Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb, 1994.

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

Rade D, Škevin D: Maslinovo ulje i zdravlje – važnost maslinovog ulja u prehrani. Popularni stručni članci iz područja PBN-a, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2014.

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

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

Štefančić S: Utjecaj prešanja i ekstrakta kadulje, ružmarina, zelenog čaja na iskorištenje i oksidacijsku stabilnost lješnjakovog ulja. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2018.

Wang ZX, Zhuge J, Fang H, Prior BA: Glycerol production by microbial fermentation; A review, *Biotechnology Advances*, 19, 201-223, 2001.

Web 1: Wikimedia commons: Oleic acid shorthand formula, 2014.
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Oleic_acid_shorthand_formula.PNG) [14.9.2020.]

Web 2: Naturex part of Givaudan : *Salvia officinalis*, 2020.
(<https://www.naturex.com/>) [16.9.2020.]

Web 3: Sigma Aldrich: Terc-butilhidrokinon, 2014.

(<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/112941?lang=en®ion=CA>)

[16.9.2020.]