

Utjecaj uvjeta prerade koštice buče na iskorištenje i oksidacijsku stabilnost ulja

Mađarević Pavetić, Tanja

Professional thesis / Završni specijalistički

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:977023>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

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



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

Tanja Pavetić

**UTJECAJ UVJETA PRERADE KOŠTICE BUČE NA
ISKORIŠTENJE I OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA**

SPECIJALISTIČKI RAD

Osijek, 23. prosinca, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

SPECIJALISTIČKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Poslijediplomski specijalistički studij Sigurnost i kvaliteta hrane
Zavod za prehrambeno inženjerstvo
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet Dostignuća u tehnologiji namirnica biljnog porijekla s elementima HACCP-a
Tema rada: je prihvaćena na VIII. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, održanoj 26. svibnja 2015. godine
Voditelj: izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Komentor: doc. dr. sc. *Stela Jokić*

UTJECAJ UVJETA PRERADE KOŠTICE BUČE NA ISKORIŠTENJE I OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA

Tanja Pavetić, 14/S-05

Sažetak:

U ovom radu istraživao je utjecaj uvjeta prerade bučinih koštica na iskorištenje i oksidacijsku stabilnost ulja. Od procesnih parametara prešanja bučine koštice pomoću pužne preše, ispitan je utjecaj frekvencije elektromotora, veličina otvora glave preše i temperatura zagrijavanja glave preše na iskorištenje ulja. Također, primjenom suvremene metode ekstrakcije superkritičnim CO₂ potpuno je ekstrahirano zaostalo ulje iz pogače nakon procesa prešanja. Za stabilizaciju proizvedenog bučinog ulja korišteni su prirodni antioksidansi ekstrakt ružmarina i ekstrakt zelenog čaja, te sinergisti askorbinska i limunska kiselina. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog bučinog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa i sinergista, ispitivana je primjenom Schaal Oven testa. Najbolje antioksidacijsko djelovanje kod ispitivanog ulja postignuto je dodatkom mješavine prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina i ekstrakta zelenog čaja uz sinergist askorbinsku kiselinu. Veličina otvora glave preše, temperatura zagrijavanja glave preše i frekvencije elektromotora imali su značajan utjecaj na iskorištenje ulja tijekom hladnog prešanja bučine koštice. Primjenom metode ekstrakcije superkritičnim CO₂ moguće je potpuno ekstrahirati zaostalo ulje iz pogače nakon procesa prešanja što je iznimno važno u industrijskoj proizvodnji ulja, jer se time postiže gotovo potpuno iskorištenje sirovine i ostvaruju se minimalni gubici u proizvodnom procesu.

Ključne riječi: *Pužna preša, bučino ulje, oksidacijska stabilnost, ekstrakcija superkritičnim CO₂*

Rad sadrži: 82 stranice
10 slika
17 tablica
102 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	prof. dr. sc. <i>Drago Šubarić</i>	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i>	član-mentor
3.	doc. dr. sc. <i>Stela Jokić</i>	član-komentor
4.	izv. prof. dr. sc. <i>Jurislav Babić</i>	zamjena člana

Datum obrane: 23. prosinca 2015.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

POSTGRADUATE SPECIALIST THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Achievements in plant-based food technology with HACCP elements
Thesis subject: was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. VIII. held on May 26, 2015.
Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof.
Co-mentor: *Stela Jokić*, PhD, assistant prof.

THE IMPACT OF PUMPKIN SEED PROCESSING CONDITIONS ON OIL YIELD AND OXIDATION STABILITY

Tanja Pavetić, 14/S-05

Summary:

The impact of pumpkin seed processing conditions on oil yield and oxidation stability was researched in this paper. The following processing parameters of pumpkin seed pressing using a screw press on oil yield were studied for their impact: electromotor frequency, nozzle size, and press head temperature. Moreover, by implementing the recent method of supercritical CO₂ extraction all the remaining oil from the cake was extracted. The resulting pumpkin seed oil was stabilized by using natural antioxidants, rosemary extract and green tea extract, and ascorbic and citric acid synergists. The Schaal Oven test was used to test the oxidation stability of cold pressed pumpkin seed oil with and without antioxidants and synergists. The best antioxidant effects observed were achieved by adding a mixture of rosemary and green tea extracts and ascorbic acid synergist. Nozzle size, press head temperature, and electromotor frequency had a significant impact on oil yield during pumpkin seed cold pressing. Supercritical CO₂ extraction enabled a complete extraction of oil from the cake after the pressing procedure, which is extremely important in industrial oil production as it enables an almost complete raw material yield, and minimal losses in the production process.

Key words: *Screw press, pumpkin seed oil, oxidation stability, supercritical CO₂ extraction*

Thesis contains: 82 pages
10 figures
17 tables
102 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|---------------|
| 1. | <i>Drago Šubarić</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. | <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. | <i>Stela Jokić</i> , PhD, assistant prof. | co-supervisor |
| 4. | <i>Jurislav Babić</i> , PhD, associate prof. | stand-in |

Defense date: 23. 12. 2015.

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

Najiskrenije se zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na odabranoj temi, stručnim savjetima, razumijevanju i usmjeravanju pri izradi ovog specijalističkog rada.

Veliko hvala i komentorici doc. dr. sc. Steli Jokić na posvećenosti i korisnim savjetima pri pisanju ovog specijalističkog rada.

Zahvaljujem se i tehničarki gđi. Danieli Paulik na pomoći pri izvođenju eksperimentalnog dijela ovog rada.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. JESTIVA ULJA I MASTI	4
2.1.1. STRUKTURA I SASTAV ULJA	4
2.1.2. SIROVINE ZA PROIZVODNJU BILJNIH ULJA	8
2.1.2.1. UVJETI KVALITETE SIROVINE	9
2.1.2.2. KONTROLA KVALITETE SIROVINE	9
2.1.2.2.1. SENZORSKA KVALITETA SIROVINE	10
2.1.2.2.2. ZDRAVSTVENO-HIGIJENSKA KVALITETA SIROVINE	10
2.1.2.2.3. TEHNOLOŠKA KVALITETA SIROVINE	10
2.2. BUČINA KOŠTICA	12
2.2.1. UPOTREBA BUČINE KOŠTICE	13
2.2.1.1. PRIPREMA SIROVINE ZA SKLADIŠTENJE	13
2.2.2. PROCES PROIZVODNJE HLADNO PREŠANOG ULJA	16
2.2.3. BUČINO ULJE	20
2.3. VRSTE KVARENJA ULJA I MASTI	25
2.3.1. ENZIMSKI I MIKROBIOLOŠKI PROCESI	26
2.3.2. KEMIJSKI PROCESI	26
2.4. STABILIZACIJA ULJA	27
2.4.1. ANTIOKSIDANSI	28
2.4.1.1. MEHANIZAM DJELOVANJA	29
2.4.1.2. VRSTE ANTIOKSIDANASA	30
2.4.2. SINERGISTI	34
2.4.3. PROOKSIDANSI	34
2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA	35
2.5.1. SENZORSKE METODE	36
2.5.2. KEMIJSKE METODE	36
2.5.3. FIZIKALNE METODE	38
2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST ULJA	39
2.6.1. OVEN TEST	40
2.6.2. AOM TEST	40
2.6.3. RANCIMAT TEST	41
2.7. EKSTRAKCIJA SUPERKRITIČNIM FLUIDIMA	41
2.7.1. SUPERKRITIČNI CO ₂	44

3. EKSPERIMENTALNI DIO	47
3.1. ZADATAK	48
3.2. MATERIJALI I METODE	49
3.2.1. MATERIJALI	49
3.2.1.1. GOLICA	49
3.2.1.2. REAGENSI	49
3.2.1.3. UREĐAJI	49
3.2.1.4. ANTIOKSIDANSI	50
3.2.1.5. SINERGISTI	50
3.2.2. METODE	51
3.2.2.1. HLADNO PREŠANJE	51
3.2.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA ULJA U KOŠTICI I U POGAČI	51
3.2.2.3. ODREĐIVANJE PARAMETARA KVALITETE ULJA	52
3.2.2.4. ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA OVEN TESTOM	55
3.2.2.5. EKSTRAKCIJA ZAOSTALOG ULJA IZ POGAČE POMOĆU SUPERKRITIČNOG CO ₂	55
4. REZULTATI	57
5. RASPRAVA	65
5.1. UTJECAJ PROCESNIH PARAMETARA HLADNOG PREŠANJA BUČINE KOŠTICE (GOLICE) NA ISKORIŠTENJE ULJA	66
5.1.1. UTJECAJ VELIČINE OTVORA GLAVE PREŠE KOD PREŠANJA BUČINE KOŠTICE NA ISKORIŠTENJE ULJA	66
5.1.2. UTJECAJ TEMPERATURE ZAGRIJAVANJA GLAVE PREŠE KOD PREŠANJA BUČINE KOŠTICE NA ISKORIŠTENJE ULJA	67
5.1.3. UTJECAJ FREKVENCije ELEKTROMOTORA (BRZINE PUŽNICE) KOD PREŠANJA BUČINE KOŠTICE NA ISKORIŠTENJE ULJA	67
5.2. OKSIDACIJSKA STABILNOST (ODRŽIVOST) PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG BUČINOGL ULJA SA I BEZ DODANOG ANTIOKSIDANSA I SINERGISTA	68
5.3. EKSTRAKCIJA ZAOSTALOG ULJA IZ POGAČE POMOĆU SUPERKRITIČNOG CO ₂	70
6. ZAKLJUČCI	71
7. LITERATURA	74

Popis oznaka, kratica i simbola

PUFA – polinezasićene masne kiseline

SMK – slobodne masne kiseline

Pbr – peroksidni broj

PTF – Prehrambeno-tehnološki fakultet

Abr – anisidinski broj

CO₂ – ugljični dioksid

NN – Narodne Novine

NMK – nezasićene masne kiseline

NaOH – natrijev hidroksid

1.UVOD

Danas se u cijelom svijetu javlja sve veće zanimanje potrošača za ulja proizvedena samo mehaničkim postupcima, bez uporabe kemijskih sredstava bilo za ekstrakciju ili rafinaciju. Za takvu vrstu proizvoda od iznimne su važnosti kakvoća sirovine, optimalni uvjeti procesa proizvodnje, te odgovarajući uvjeti tijekom skladištenja, budući da se nepoželjni sastojci, koji bi mogli narušiti nutritivnu i senzorsku vrijednost ulja, nemaju prilike ukloniti rafinacijom. Najpoznatiji takav proizvod u cijelom svijetu je maslinovo ulje. U Republici Hrvatskoj iza maslinovog ulja, najvažnije je bučino ulje, koje se dobiva iz koštica buče.

Hladno prešanje je najstariji postupak za dobivanje ulja, a danas se samostalno šire primjenjuje samo za neke specifične uljarske sirovine (plod masline i bučina koštica). Hladno prešano ulje dobiva se postupkom bez zagrijavanja sirovine, a tako dobivena ulja mogu se pročišćavati isključivo taloženjem, filtriranjem i centrifugiranjem. Nakon provedenog postupka hladnog prešanja u pogači zaostaje vrlo velika količina ulja. Zbog toga je opravdano razmatrati postupke pomoću kojih se može ekstrahirati zaostalo ulje iz pogače. U novije vrijeme za tu svrhu koristi se ekstrakcija superkritičnim CO₂. Prednost u odnosu na tradicionalna organska otapala, od kojih su poneka toksična, upravo je netoksičnost CO₂.

Bučine koštice hvalila su još domorodačka plemena Amerike i kao dio prehrane i kao medicinski dodatak. U Južnoj Americi popularnost sjemenki može se pratiti unatrag do Azteca (1300-1500 g.). Od tamo su bundeva i bučine koštice krenule na put u Europu gdje su danas sastavni dio osobito grčke kuhinje, dok su dio kulinarske i medicinske tradicije Indije i drugih dijelova Azije.

Buča, *Curcubita pepo* L. je jednogodišnja biljka koja se uzgaja za različitu primjenu. Mesnati dio ploda koristi se u kulinarstvu ili kao stočna hrana. Koštica je namijenjena za proizvodnju ulja, ili se koristi u prehrani kao grickalica. Ovisno o strukturi i udjelu celuloze u ljusci, postoje dvije vrste koštice: koštice sa ljuskom i koštice bez ljuske (golice). Obje vrste koštice se koriste za proizvodnju ulja, ali je koštica golice pogodnija jer daje veći prinos ulja i pogaču bolje kvalitete.

Bučino ulje naročito je bogato vitaminima A, E, C i K. Također sadrži vitamine B grupe, nezasićene masne kiseline, minerale (fosfor, kalcij, magnezij, kalij), lecitin, bjelančevine, te elemente u tragovima.

Hladno prešano bučino ulje ima specifična senzorska svojstva, okus i miris na izvornu sirovinu, a sačuvani su i bitni sastojci, te se osim po izgledu, boji, mirisu i okusu razlikuje i u kemijskom sastavu, nutritivnoj vrijednosti i održivosti od rafiniranog ulja, te postiže vrlo visoku tržišnu cijenu.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA ULJA I MASTI

Ulja i masti su u vodi netopljive tvari biljnog ili životinjskog podrijetla, koje sadrže pretežno estere alkohola glicerola i masnih kiselina, tzv. triacilgliceroli (trigliceridi). Oni pripadaju grupi spojeva lipida (grčki lipos = masti).

2.1.1. Struktura i sastav ulja

S obzirom na strukturu i sastav biljnih ulja prirodni lipidi dijele se na:

1. **Jednostavni lipidi:** trigliceridi masnih kiselina i esteri viših masnih alkohola s višim masnim kiselinama (voskovi),
2. **Složeni konjugirani lipidi:** fosfolipidi, cerebrosidi, lipoproteini,
3. **Derivati lipida:** masne kiseline, alkoholi (steroli), ugljikovodici (karoteni), vitamin D, vitamin E (Rac, 1964.).

Jednostavni lipidi, kojima pripadaju ulja i masti (triacilgliceroli masnih kiselina) najčešće se javljaju u prirodi, no uvijek uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa. Jednostavni lipidi su i voskovi koji su esteri viših masnih alkohola i viših masnih kiselina.

Složeni lipidi su pratioci neutralnih lipida, a i lipidni sastojci u nekim dijelovima organizma. Negliceridne sastojke prirodnih ulja čine fosfatidi, karoteni, liposolubilni vitamini (A, D, E), tokoferoli, steroli, pigmenti (klorofil, gosipol), voskovi, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi, ketoni i tragovi metala.

U prirodnim uljima negliceridnih sastojaka ima najčešće od 1 do 2% izuzetak su sojino ulje i pamukovo ulje i do 3,5% (Oštrić-Matijašić, 1980.).

Neki negliceridni sastojci (tokoferoli, steroli, fosfatidi) dolaze u svim biljnim uljima i mastima, varira samo njihova količina, a neki su karakteristični za pojedina ulja ili masti (vitamin A i D- u ulju jetre ribe i u maslacu).

Jedan broj negliceridnih sastojaka je vrlo poželjan u uljima (liposolubilni vitamini, karoteni), neki su neutralni (steroli), a neki su vrlo nepoželjni (voskovi, tragovi metala, fosfatidi), jer smanjuju kvalitetu ulja i moraju se maksimalno ukloniti tijekom pojedinih faza rafinacije ulja.

Triacilgliceroli (trigliceridi) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina.

U molekulama triacilglicerola masne kiseline čine 94-96% ukupne mase molekule (Swern, 1972.).

Zbog svoje dominantne mase u molekulama triacilglicerola i zbog toga što predstavljaju reaktivni dio molekule, masne kiseline imaju veliki utjecaj na svojstva triacilglicerola. Kemijska i fizikalna svojstva triacilglicerola ovisit će o kemijskim i fizikalnim svojstvima masnih kiselina.

U prirodnim uljima i mastima prevladavaju masne kiseline ne razgranatog lanca, najčešće sa parnim brojem C atoma i s jednom karboksilnom skupinom.

Masne kiseline se razlikuju po:

- broju ugljikovih atoma u molekuli
- zasićenosti, odnosno nezasićenosti
- broju dvostrukih veza
- prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko nezasićene veze

S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikujemo:

- masne kiseline kratkog lanca (broj ugljikovih atoma od 4 do 8)
- masne kiseline srednjeg lanca (broj ugljikovih atoma od 8 do 12)
- masne kiseline dugačkog lanca (broj ugljikovih atoma iznad 12)

Glavna podjela masnih kiselina na osnovu stupnja nezasićenosti je na zasićene i nezasićene masne kiseline.

Zasićene masne kiseline

Opća formula: $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$

Zasićene masne kiseline karakterizira zasićenost ugljikovog lanca, svaki C atom u lancu masne kiseline je zasićen (- $\text{CH}_2 - \text{CH}_2$ -).

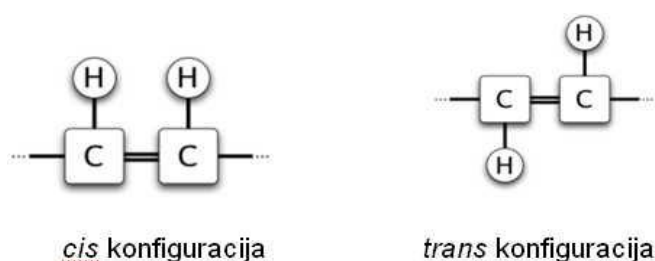
Osnovno svojstvo zasićenih masnih kiselina je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu.

Zasićene masne kiseline nalaze se u većim količinama u čvrstim mastima, što je posljedica njihovog visokog tališta. Tri najraširenije zasićene masne kiseline su laurinska, palmitinska i stearinska (Swern, 1972.).

Nezasićene masne kiseline

Masne kiseline koje imaju u molekuli jednu ili više dvostrukih veza ($-CH=CH-$) pripadaju grupi nezasićenih masnih kiselina. Ovisno o broju dvostrukih veza nezasićene masne kiseline se dijele na mononezasićene (sa jednom dvostrukom vezom) i polinezasićene masne kiseline (sa više dvostrukih veza). Dvostruke veze kod polinezasićenih masnih kiselina mogu biti razdvojene metilnom grupom ($-CH_2-$), a ako nisu razdvojene tada govorimo o konjugiranim vezama.

Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, u *cis* ili *trans* obliku. *Cis* ili *trans* oblik zavisi o prostornom rasporedu dijelova molekule sa obje strane nezasićene dvostruke veze. Na Slici 1 prikazani su *cis* i *trans* oblik nezasićene dvostruke veze.



Slika 1. *Cis* i *trans* oblik nezasićene dvostruke veze masne kiseline (web 1)

Trans oblici nezasićenih dvostrukih veza su termodinamički znatno stabilniji nego *cis*, čime se i objašnjava mogućnost stvaranja *trans* izomera tijekom termičkog tretmana ulja pri rafinaciji u fazi dezodorizacije. Kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih biljnih ulja, s obzirom na to da se ne primjenjuje proces rafinacije, niti je ulje izloženo utjecaju povišenih temperatura, *trans* izomera masnih kiselina ne bi smjelo biti ni u tragovima. Mnogobrojne eksperimentalne studije posljednjih godina su pokazale da *trans* masne kiseline značajno utječu na nivo pojedinih frakcija lipoproteina u krvi, što ima za posljedicu ubrzani razvoj arteroskleroze i koronarnih bolesti (Caggiula i Mustad, 1997.).

Najvažnija polinezasićena masna kiselina sa dvije ($=$) veze je linolna, sa tri ($=$) veze je linolenska, sa četiri ($=$) veze je arahidonska kiselina.

Najvažnija mononezasićena masna kiselina je oleinska kiselina. Ona je najviše raširena masna kiselina i dolazi u svim uljima i mastima.

Esencijalne masne kiseline

Esencijalne masne kiseline (EMK) i njihovi derivati imaju nekoliko veoma bitnih funkcija u organizmu:

- koriste se kao izvor energije
- gradivni su elementi fosfolipida, strukturnih elemenata staničnih membrane
- sastojci su lipoproteina krvne plazme
- prekursori su važnijih spojeva sa hormonalnim djelovanjem, kao što su prostaglandini, leukotrieni, tromboksani

Esencijalne masne kiseline pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina sa 18, 20 i 22 ugljikova atoma i sadrže od dvije do šest dvostrukih veza. Sve dvostruke veze u lancu masne kiseline su u cis konfiguraciji.

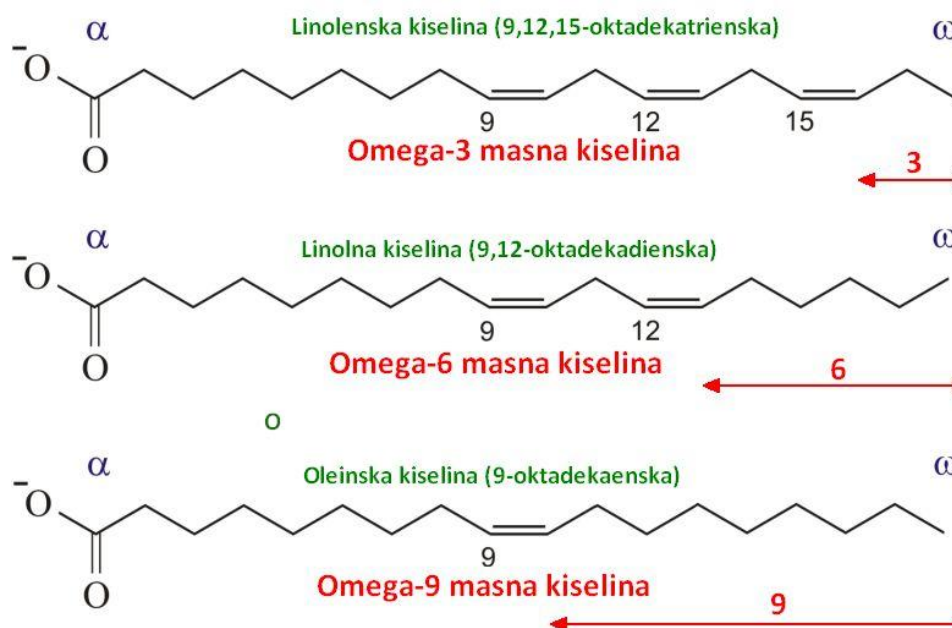
Linolna i α -linolenska masna kiselina su esencijalne jer ih organizam mora dobiti hranom, pa ih zovemo i vitaminom F (Mandić, 2005.). Te masne kiseline organizam ne može sam sintetizirati.

U ovisnosti na kojem se mjestu nalazi prva dvostruka veza formiraju se imena nezasićenih odnosno polinezasićenih kiselina, pa tako imamo $\omega 3$, $\omega 6$ i $\omega 9$ masne kiseline. Kod $\omega 3$ masne kiseline prva dvostruka veza se nalazi između trećeg i četvrtog ugljikovog atoma (n-3) od metilnog kraja ($-\text{CH}_3$) molekule (omega kraja), te kako slijedi kod $\omega 6$ masne kiseline između šestog i sedmog i kod $\omega 9$ masne kiseline između devetog i desetog ugljikovog atoma (Slika 2).

Omega-3 skupini ($\omega -3$) pripada α -linolenska kiselina i njezini derivati eikosapentaenska kiselina (EPA), dokosapentaenska kiselina (DPA) i dokosaheksaenska kiselina (DHA). Najviše ih ima u ulju riba sjevernih mora, te u pastrvama i ulju biljaka, a kod uljarica se nalaze u lanenom ulju, ulju uljane repice, ulju podlanka.

Omega-6 skupini ($\omega -6$) pripadaju linolna kiselina, α -linolenska kiselina i arahidonska kiselina koju organizam može sintetizirati iz oleinske i linolne kiseline.

Reaktivnost masnih kiselina ovisi o broju i položaju dvostrukih veza, stoga je vrlo važno poznavanje stupnja nezasićenosti i položaja dvostrukih veza masnih kiselina, kako bi se mogle procijeniti reakcije koje mogu nastati.



Slika 2. Omega masne kiseline (web 2)

2.1.2. Sirovine za proizvodnju biljnih ulja

Većina biljaka u svom sjemenu ili plodu sadrži određenu količinu ulja. Ta količina varira od samo nekoliko posto do čak 70%. Uljarice su biljke koje se uzgajaju isključivo radi proizvodnje ulja i njih je znatno manje u odnosu na uljarske sirovine. Sirovine koje se koriste za dobivanje ulja, moraju imati minimalan udio ulja koji omogućava njegovo ekonomski prihvatljivo izdvajanje i biljka mora biti pogodna za masovnu proizvodnju. Naravno, postoje i izuzetci kod sirovina čije ulje ima specifične karakteristike, pa se koriste za proizvodnju specijalnih ulja. U svijetu se za dobivanje ulja koristi više od 20 vrsta biljaka, a samo 12 uljarica ima veći ekonomski značaj (Dimić, 2005.).

Ulja se mogu podijeliti prema porijeklu sirovine (obuhvaća ulja i masti iz mesnatog dijela ploda, te ulja iz sjemena) i prema dominirajućim masnim kiselinama, odnosno prema porijeklu sjemena:

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmino ulje, avokado ulje...
2. Ulja i masti iz sjemena/ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:
 - laurinske masti i ulja (kokos, palmine koštice);
 - masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao maslac, shea maslac...);
 - ulja palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje...);
 - ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, kukuruzne klice, koštice buče, repica...);
 - ulja linolenske kiseline (lan, soja, konoplja...).

3. Ulja i masti prema porijeklu biljke:

- Ulja iz leguminoza (kikiriki, soja....);
- Ulja krstašica (repica, slačica...) (Bockisch, 1998.)

2.1.2.1. Uvjeti kvalitete sirovine

Proizvodnja hladno prešanih i nerafiniranih ulja zahtjeva stroge kriterije za kvalitetu polazne sirovine iz razloga što tijekom ove proizvodnje ne postoji faza koja bi omogućila uklanjanje nečistoća i nepoželjnih kontaminanata iz ulja (Dimić, 2005.).

Kvaliteta sirovine podrazumijeva: osiguravanje kvalitete tijekom proizvodnje same sirovine, očuvanje kvalitete prilikom skladištenja sve do prerade, očuvanje kvalitete sirovine kod pripreme za izdvajanje ulja, sprječavanje kontaminacije sirovine nepoželjnim ili toksičnim tvarima. Da bi ovi uvjeti bili ispunjeni tijekom cijelog ciklusa proizvodnje sirovine pa do završnog proizvoda, mora se voditi računa o:

- odabiru sirovine (vrsta, sorta, hibrid i sl.);
- uvjetima proizvodnje sirovine (organska proizvodnja, zaštita bilja i dr.);
- uvjetima žetve, transporta, čišćenja, sušenja i sl.;
- primjeni kontroliranih uvjeta skladištenja sirovine i
- kontroli kvalitete sirovine do i tijekom prerade (Dimić, 2005.).

2.1.2.2. Kontrola kvalitete sirovine

Prilikom prijema sirovine provodi se ispitivanje svake dopremljene količine kako bi se dobila potpuna slika o kvaliteti šarže i kako bi se vidjelo da li kvaliteta sirovine odgovara za proizvodnju hladno prešanih ulja. Isto tako, kontrola kvalitete sirovine provodi se kako bi se dokazalo da tehnološka kvaliteta sirovine odgovara uvjetima prešanja, te da bi se omogućilo stvaranje jednolične mase sirovine sastavljene od jedne ili više šarži iste ili slične kvalitete (Dimić, 2005.).

Pored osnovne sirovine za proizvodnju ulja smjesa mase sirovine sadrži različite primjese, mikroorganizme, žive insekte i dr. Takvi dodaci mogu izazvati kvarenje. Pored primjesa smjesa mase sadrži određenu količinu vlage i zraka koji utječu na biokemijske procese u sirovini. Zbog toga kontrola kvalitete sirovine obuhvaća:

- kontrolu senzorskih svojstava;
- kontrolu zdravstveno-higijenske ispravnosti;
- mikrobiološku kontrolu;
- kontrolu tehnološke kvalitete i
- kontrolu kemijske kvalitete sirovine (Dimić, 2005.).

2.1.2.2.1. Senzorska kvaliteta sirovine

Procjenom senzorske kvalitete sirovine dobiva se opći dojam o fiziološkom stanju te zdravstvenoj ispravnosti i svježini sirovine, a to je i odlučujući čimbenik kod proizvodnje hladno prešanih ulja. Ocjenjivanjem senzorske kvalitete sirovine ispituje se boja, miris, okus i izgled sirovine.

Svaka vrsta, sorta ili hibrid sirovine ima karakterističnu boju, a svako odstupanje od karakteristične boje može biti indikator promjene kvalitete. Nekarakteristična boja može biti pokazatelj nedozrele sirovine, prisustva nečistoća ili pokazatelj neadekvatnog čuvanja sirovine prilikom kojeg je došlo do samozagrijavanja. Osim toga, promjenu boje mogu uzrokovati i mikroorganizmi razvijeni na samoj površini. Određivanje boje provodi se direktnim vizualnim promatranjem, kontrolom i na presjeku sirovine.

Miris je svojstven za svaku vrstu uljarice i teško ga je definirati. Određuje se tako da se sjeme trlja među dlanovima i potom miriši. Za dobru procjenu kvalitete uljarica važno je ustanoviti odakle potječe miris. Miris može nastati zbog razvoja mikroorganizama, prisustva primjesa ili zaraženosti sirovine štetocinama. Također, miris može potjecati i iz okoline tako što sirovina poprimi miris skladišta, aromatičnih primjesa, aromatičnih biljaka, vozila itd.

Okus uljarica može biti svojstven određenoj vrsti sirovine, ili je neutralan pa ga je teško okarakterizirati. Okusi koji nisu svojstveni najčešće su rezultat raznih kvarenja. Kvarjenja mogu biti: oksidacijska, hidrolitička, enzimska, mikrobiološka, a njihov rezultat je razgradnja lipida, proteina, fosfatida i dr. komponenti. Okus se određuje žvakanjem očišćenih sjemenki (Dimić, 2005; Karlović i Andrić, 1996.).

2.1.2.2.2. Zdravstveno-higijenska ispravnost sirovine

Kod uzimanja uzoraka za utvrđivanje zdravstveno-higijenske ispravnosti uzorak može biti reprezentativan, ali to nije neophodno. Važno je da je svaki uzorak zdravstveno ispravan, zbog toga su doneseni propisi za provjeru sadržaja patogenih mikroorganizama, pesticida, metala, otrovnih supstanci i dr. u sirovinama prehrambene industrije. Provjera zdravstveno-higijenske ispravnosti sirovine za proizvodnju ulja, provodi se prema odredbama važećeg Zakona (Karlović i Andrić, 1996.).

2.1.2.2.3. Tehnološka kvaliteta sirovine

Kako bi se utvrdila tehnološka kvaliteta sirovine za proizvodnju ulja potrebno je provesti kemijske analize. Osnovni pokazatelji kvalitete sirovine su sadržaj vlage, sadržaj ulja i sadržaj nečistoća, ali može se još utvrditi i sadržaj proteina, sadržaj celuloze i sadržaj ljuske.

a) Sadržaj vlage

Sadržaj vlage izražava se u postotcima, a predstavlja količinu slobodne i vezane vode u sjemenu. Osnovni princip za pravilno skladištenje sirovine zahtijeva sniženje vode u sjemenu ispod kritične vlažnosti. Sadržaj vlage u sirovini koja je tek ubrana ovisi o stupnju zrelosti sirovine i o vremenskim uvjetima tijekom žetve. Vrijednost uljarice se smanjuje ukoliko je sadržaj vlage veći, ali je tada i manji udio suhe tvari. Visok sadržaj vlage izaziva ubrzano mikrobiološko kvarenje, ubrzane hidrolitičke procese (zbog čega se povećava kiselost ulja), pojavu neugodnog mirisa i okusa sirovine, pojačanu razgradnju organskih tvari i intenzivnih biokemijskih procesa (disanje sirovine što dovodi do samozagrijavanja mase). Što je veći sadržaj ulja u sirovini kritična vlažnost je manja (Veselinović i Turkulov, 1988.).

b) Sadržaj ulja

Jedan od najbitnijih pokazatelja kvalitete sirovine je sadržaj ulja na osnovi kojeg se izračunava materijalna i ekonomska bilanca prerade. Standardna referentna metoda se zasniva na ekstrakciji ulja organskim otapalom, nakon čega se provodi njegovo gravimetrijsko određivanje (ISO 659:2003.).

c) Sadržaj nečistoća

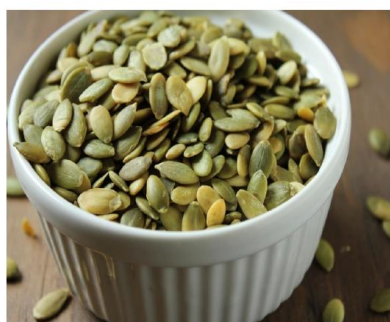
Nečistoće u sjemenju mogu biti strane i vlastite. Stranom nečistoćom smatraju se primjese koje ne potječu od same biljke, a one mogu biti anorganskog ili organskog porijekla. Anorganske nečistoće su zemlja, prašina, kamenčići, komadi metala, a organske su strano sjeme, dijelovi stranog bilja i slično (Rac, 1964.).

d) Sadržaj ljuske

Ljuska je celulozni omotač koji štiti jezgru. Količina ljuske u sirovini utječe na efikasnost prešanja, kvalitetu i senzorska svojstva ulja te na udio proteina u pogači. Svojstva ljuske (debljina, čvrstoća) kao i otpornost na pucanje su vrlo bitni parametri za ljuštenje sirovine (Dimić, 2005).

2.2. BUČINA KOŠTICA

Uljana tikva, *Curcubita pepo* L. je oblik obične bundeve koja je uzgojena za košticu bogatu uljem. Domovinom bundeve smatra se Amerika, odakle je u Europu prenesena zahvaljujući Kolumbovim putovanjima. Na naša područja buča je došla iz Male Azije preko Grčke. Uljana bundeva je jednogodišnja biljka. Stabljika joj je rebrasta, bodljikava i često prilično dugačka, razgranata, puzava do dužine od čak 12 metara. Plod je različite veličine i oblika. Može biti loptast, izdužen, jajolik, duguljast ili plosnat, a površina je glatka ili naborana. Meso ploda je žute, narančaste do bijele boje. Koštica je bjelkasta ili žuta, dugačka 7-15 mm (Karlović i Andrić, 1996.).



Slika 3. Bučina koštica (web 3)

Plosnata koštica uljane bundeve je zaštićena ljuskom. Ovisno od strukture i udjela celuloze u ljusci, postoje dvije vrste koštice: sa ljuskom i bez ljuske (golica). Kod koštice golice umjesto čvrste, bijele celulozne ljuske na jezgri prijanja tanka opna tamnozeleno boje (Slika 3). Oba tipa koštice koriste se u proizvodnji ulja, međutim, golica je pogodnija jer daje veći prinos uja i pogaču bolje kvalitete. Isto tako obje vrste imaju visok prinos svježeg ploda (50-55 t/ha) i suhog zrna (800-1000 kg/ha), a sadržaj ulja u jezgri golice se kreće od 45 do 49%. Buče su osjetljive na niske temperature i biljka strada već od slabog mraza. Za klijanje je potrebna temperatura tla od najmanje 14 °C, ali tada je klijanje vrlo sporo. Pri optimalnim temperaturama 22 – 24 °C buče niknu za 3 - 4 dana. Rast se zaustavlja pri 12 °C. U slučaju duljih ljetnih suša buče treba navodnjavati kišenjem ili kapanjem ako su uzgojene 'na foliji'. Buče vrlo dobro uspijevaju na humusnom, pješčano-ilovastom tlu, a ne uspijevaju na izrazito vlažnim tlima. Najpovoljnija reakcija tla je neutralna do malo bazična. Odlikuje se velikim zahtjevima u pogledu topline, vlage, svjetlosti i hranjivih tvari te joj za uzgoj najbolje odgovaraju ravničarski i topli krajevi i tla dobro gnojena stajnjakom. Najbolje uspijevaju na neutralnim (pH 6,5 do 7,5), bogatim i prozračnim tlima. Na težim tlima organska gnojidba može poboljšati prozračnost i propusnost tla za vodu. Razmnožava se sjemenom. Sjemenke se mogu sijati u tresetne tablete (po jedna sjemenka u tabletu) u travnju, a zatim se presađuju u dobro pripremljene kućice sredinom svibnja – kada prođe opasnost od mrazeva.

Kada se siju direktno na otvoreno (u svibnju na kontinentu, a u travnju u Primorju), tada se u kućicu stavljaju na dubinu od 3 do 5 cm 2 - 3 sjemenke, dobro zaliju i prekriju folijom ili staklom (lijehe). Kad sjeme nikne, tada se zaklon skloni i biljka se dalje normalno razvija. Na istu površinu zemlje buča ne smije doći najmanje 4 godine, a pretkultura ne smije biti nijedna tikvenjača. Dobar susjed je kukuruz šećerac, zasađen na rubu gredice. Sjetvu je nužno obaviti između 20. travnja do 10. svibnja, kada nema opasnosti od kasnih proljetnih mrazeva, beru se kada dostignu oko 2/3 svoje veličine (web 4).

2.2.1. Upotreba bučine koštice

Bundeva ima raznoliku upotrebu. Mesnati dio koristi se u kulinarstvu za pripremu slastica, u proizvodnji voćnih sokova i drugih prehrambenih proizvoda. Mesnati dio se koristi i za ishranu stoke. Bučina koštica, u ovom slučaju golica, upotrebljava se isključivo za proizvodnju ulja i sušena kao grickalica. Bučino ulje, kao salatno, omiljeno je u području Slovenije, Austrije, Njemačke, Mađarske i Hrvatske. U posljednje vrijeme sve je veća potražnja za takvim proizvodom pa može biti interesantan artikl za izvoz. Nakon procesa proizvodnje ulja tj. procesa prešanja koštice zaostaje visoko kvalitetna pogača. Najčešće se koristi kao stočna hrana, međutim određenu primjenu može naći i u prehrambenoj industriji npr. konditorska industrija, pri proizvodnji žitnih pahuljica, za bojenje tjestenine, u mliječnoj industriji za proizvodnju obojenih namaza, jogurata i sličnih proizvoda (Lederer i Molnar, 1993.).

2.2.1.1. Priprema sirovine za skladištenje

Kako bi se postiglo što kvalitetnije hladno prešano i nerafinirano jestivo ulje, potrebno je osigurati adekvatnu kvalitetu sirovine za preradu, što se postiže kvalitetno obavljenom žetvom ili skupljanjem plodova, pravilnim čišćenjem, pranjem i sušenjem, te skladištenjem sirovine u najpovoljnijim uvjetima sve do trenutka prerade. Cilj skladištenja je sačuvati ulje, proteine i nutritivno značajne komponente sirovine (Dimić, 2005.).

Žetva sirovine ili ubiranje plodova

Važno je odrediti pravilno vrijeme žetve ili ubiranje plodova i dobro provesti žetvu, jer će to osigurati povoljnu kvalitetu sirovine i neizbježne gubitke na uobičajenom nivou. Čimbenici koji utječu na kvalitetu sjemenki i visinu gubitaka kod žetve obuhvaćaju:

- period prije žetve (klimatski uvjeti, štete od insekata, korov, izlomljene i povijene biljke, biljne bolesti i dr.);
- period nakon žetve (biološki i biokemijski procesi) (Dimić, 2005.).

Prvi znak zrelosti, tj. spremnosti buče za branje, je sušenje zelenih dijelova biljke, posebice listova. Zreli plodovi dobiju karakterističnu boju, kora se teško može probosti noktom, a

plodna drška je potpuno suha. Najsigurniji način provjere zrelosti je otvaranje ploda i probno vađenje koštica. Zrela koštica je dobro natopljena, tamnozeleno boje i lako se odvaja od placente. Uobičajeno vrijeme ubiranja buče je od 15. rujna do 20. listopada.

Berba ploda može se vršiti ručno i pomoću strojeva. Ako se koštica vadi ručno, otkinuti plodovi se utovaraju i transportiraju. Ukoliko se koštica vadi pomoću uređaja otkinuti plodovi se slažu u redove duž njive.

Cilj formiranja redova je da uređaj za podizanje plodova tzv. jež kombajn, može pokupiti plodove sa zemlje i dovesti ih u radni prostor kombajna. Zbog prevelikog broja bundeva u redovima može doći do zagušenja uređaja. Plodovi bi u redovima trebali ostati 7-10 dana do vađenja koštice. To vrijeme je neophodno za dozrijevanje ploda i koštice. Tada je vađenje koštice iz dozrelih plodova lakše i potpunije (Bavec i sur., 2011.).

Transport sirovine

Transport sirovine do mjesta daljne prerade provodi se kamionima, željeznicom, ili brodovima uz uvjete da se treba osigurati zaštita od vlage, zagađenja kemikalijama ili bilo kojim drugim primjesama. Gustoća izdvojene koštice je, ovisno od količine primjesa, 800 kg/m^3 , tako da je prostor za utovar, za slučaj prinosa 1500 kg svježe koštice po hektaru, oko 2 m^3 .

Važan je i transport unutar pogona, do skladišnih prostora, do mjesta prerade itd. U svim transportnim tokovima, potrebno je oštećenje zrna svesti na minimum. U industriji ulja koriste se transporter sa beskonačnom trakom, pužni transporter, elevatori, lančasti transporter, protočne cijevi i pneumatski transport (Patterson, 1989.).

Prijem sirovine i uzimanje uzoraka

Detaljna kontrola sirovine obuhvaća provjeru zdravstvene ispravnosti, provjeru tehnološke i kemijske kvalitete. Važno je obaviti ovaj dio, jer kod proizvodnje hladno prešanih ulja direktan utjecaj na kvalitetu ulja ima kvaliteta sirovine. Cilj kontrole je provjeriti može li sirovina ići na preradu ili ne može (Dimić, 2005.). Postupak prijema sirovine započinje kontrolom zdravstvene ispravnosti, a potom se pristupa kemijsko-tehnološkoj kontroli, ukoliko je sirovina ispravna. Kako bi se ove kontrole mogle provesti, uzimaju se uzorci koji predstavljaju dio ukupne količine sirovine za preradu (Dimić, 2005.).

Pranje i sušenje

Pranje bučinih koštica provodi se u bubnjastim peračicama sa mlazom vode. Cilj pranja je uklanjanje mesnatih djelova buče i drugih primjesa, ali i ljepljive sluzi koja ometa sušenje.

Također, cilj je da se pranje obavi sa što većom efikasnošću, većim učinkom i manjom količinom vode. Nakon pranja obavlja se cjeđenje koštica. Za cjeđenje se koriste kontejneri sa perforiranim ili mrežastim dnom u kojima se koštica prevozi do sušare. Cjeđenjem se uklanja dio vlage pa se skraćuje proces sušenja. Početni sadržaj vlage bučine koštice je 35 do 45%, a nakon pranja i cjeđenja 50 do 55%. Vrijednost ravnotežnog sadržaja vlage ovisi od vrste biljnog materijala i stanja okoline, temperature i relativne vlažnosti zraka. Za uobičajene temperature skladištenja 10 - 20 °C, i relativne vlažnosti zraka 60 do 70% ravnotežni sadržaj vlage koštice buče je 7 do 8%.

Sušenje je jedna od najvažnijih tehnoloških operacija, jer se sušenjem sadržaj vlage u sjemenci ili koštici snižava do one vrijednosti koja će zaustaviti biološku i enzimsku aktivnost, ali i zbog očuvanja kvalitete sjemenke. Snižanjem vlage sprječava se razmnožavanje mikroorganizama i da ne dođe do povećanja kiselosti ulja. Utjecaj sadržaja vlage na biološku i enzimsku aktivnost sjemenki prati se jednim od osnovnih pokazatelja kvalitete, promjenom sadržaja slobodnih masnih kiselina (Dimić, 2005.).

Voda u sjemenkama uljarica se nalazi kao: slobodna voda, higroskopna voda i kristalna voda. Slobodna voda, s površine, lako se odstranjuje. Higroskopna voda se uklanja teže, njen sadržaj ovisi o relativnoj vlažnosti zraka, a odstranjivanje kristalne vode moguće je jedino povišenom temperaturom (Rac, 1964.).

Sušenje se može provoditi na više načina. Prirodnim putem, provjetravanjem, je dugotrajniji proces, ili pri povišenim temperaturama, što se odvija puno brže. Proces sušenja započinje uklanjanjem slobodne vode, nakon toga slijedi difuzno odvođenje vode prema površini sjemenke, odakle se uklanja sušenjem. Na kraju se uspostavlja ravnoteža između zraka prostora i sjemenke. Ova ravnoteža ovisi o temperaturi i relativnoj vlažnosti zraka (Dimić, 2005.).

Prema načinu dovođenja i predaje topline materijalu koji se suši moguća su tri postupka sušenja:

- sušenje kontaktom - materijal je u neposrednom dodiru s toplim površinama;
- sušenje konvekcijom - materijal se zagrijava direktno toplim zrakom ili sagorjelim plinovima (najčešći način);
- sušenje zračenjem - primjenom infracrvenih zraka (Dimić, 2005.).

Čišćenje sirovine

Čišćenje sjemenki važno je prije skladištenja i prije same prerade, kako bi se uklonile nečistoće koje mogu štetno utjecati na uskladištenu sirovinu, pogoršati kvalitetu ulja ili oštetiti uređaje pri preradi. Čišćenje sjemenki je operacija koja se zasniva na principima razdvajanja, a najčešće se obavlja:

- prosijavanjem (odvajanjem na bazi različitih dimenzija sjemenki i nečistoća);
- odvajanjem na bazi magnetizma i
- odvajanjem aspiracijom (odvajanje na bazi različitih aerodinamičnih svojstava sjemenki i nečistoća) (Dimić, 2005.).

Za svaku od tih operacija postoje odgovarajući uređaji.

Skladištenje sirovine

Skladištenje proizvoda je krajnji zahvat u cjelokupnom procesu proizvodnje pojedinog ratarskog proizvoda. Osnovni cilj skladištenja je sačuvati komercijalnu vrijednost i kvalitetu sjemenki. Vrijeme skladištenja je ograničeno, jer se i dalje odvijaju procesi koji mijenjaju kvalitetu sirovine. Prema tome razlikujemo privremena i trajna skladištenja.

Privremena skladišta mogu biti razne prostorije, nadstrešnice i sl., te su pretežno bez čistilica i sušara, a sirovina se čuva u vrećama ili u rasutom stanju. Stalna skladišta predstavljaju građevinski objekt koji ima specijalnu namjenu za čuvanje uljarica na duži vremenski period, a mogu biti podnog, čelijskog tipa, te silosi (Dimić, 2005.).

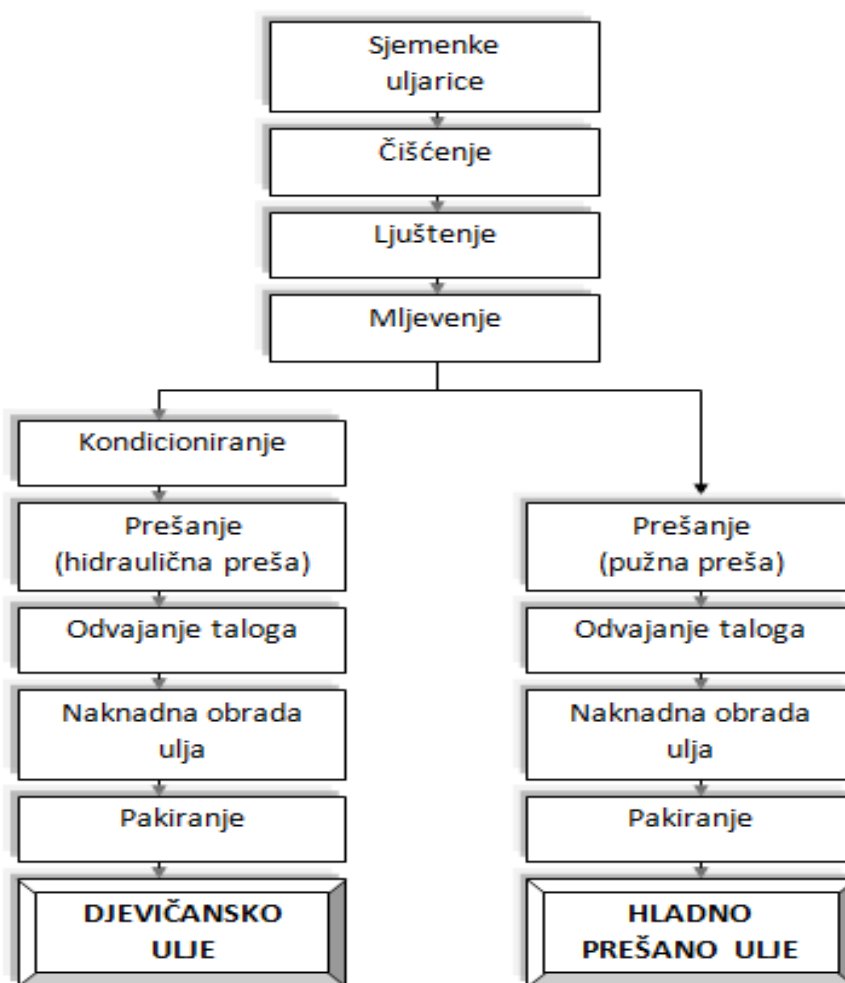
Tijekom skladištenja su neizbježni gubitci (lom zrna - mehaničko porijeklo, disanje - biološko porijeklo - gubitak količine suhe tvari), ali i kvarenja sirovine (primjer: samozagrijavanje, napad kukaca, grinja, glodavaca, ptica i mikroorganizama). Važno je pravilno skladištiti proizvod, osušiti, provjetravati, jer svi ovi gubitci i kvarenja se mogu spriječiti (Rozman, Liška; 2012.).

2.2.2. Proces proizvodnje hladno prešanog ulja

Kako bi se održala potpuna kvaliteta i nutritivna vrijednost, hladno prešana biljna ulja proizvode se postupkom prešanja bez zagrijavanja sirovine. Prije nego ode na proces prešanja, sirovina mora proći određene faze pripreme. One uključuju proces čišćenja, ljuštenja i usitnjavanja. Postupak pročišćavanja prozvedenog sirovog ulja radi dobivanja hladno prešanog biljnog ulja obavlja se isključivo vodom, taloženjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Iako je proces proizvodnje hladno prešanih ulja relativno jednostavan, postoji velik broj čimbenika koji su od presudne važnosti i mogu utjecati na kvalitetu dobivenog ulja. Tehnološki proces proizvodnje jestivih hladno prešanih i nerafiniranih ulja iz sjemenki uljarica i drugih sirovina prikazan je na Slici 4 (Dimić i sur., 2002.)

Sirovine za proizvodnju hladno prešanih ulja treba pripremiti tako da se ulje može što lakše izdvojiti i kako bi se postigla što bolja kvaliteta jer u procesu nema rafinacije. Sama priprema sirovine ne mora uvijek sadržavati postupke ljuštenja i mljevenja. Za proizvodnju hladno prešanog bučinog ulja iz golice postupak je izostavljen. Koristi se samo očišćena sirovina koja ide na proces prešanja sa ili bez postupka mljevenja.



Slika 4. Proces proizvodnje djevičanskog i hladno prešanog biljnog ulja Blok (Dimić i sur., 2002.)

Čišćenje sjemenki

Na preradu se najčešće doprema sirovina koja sadrži određenu količinu nečistoća. One mogu biti organske ili anorganske. Izdvajanje nečistoća daje bolju senzorsku i kemijsku kvalitetu ulja, a izdvajanjem metala se uklanja mogućnost oštećenja uređaja i drugih predmeta. Princip čišćenja je isti kao i prije skladištenja, jedino što ovaj put ne smije izostati nikakva nečistoća zbog direktnog utjecaja na kvalitetu ulja (Dimić, 2005.)

Prešanje

Dobivanje ulja prešanjem pripremljenog materijala je proces koji je korišten još od davnina, ali su se tijekom razvoja mijenjali uređaji na kojima se ono izvodilo. Prvo su to bile ručne preše, preše na vijak, preše na klin itd., koje su imale male radne tlakove i zbog toga nedovoljno iskorištenje sirovine. Pojavom hidrauličnih preša omogućeno je dobivanje većih radnih tlakova pomoću malih sila, a uvođenjem pužnih preša omogućen je kontinuiran proces izdvajanja sirovog ulja procesom prešanja (Dimić, 2005.).

Hidraulične preše

Hidraulične preše predstavljaju najstarije uređaje u proizvodnji ulja. Prvi takvi uređaji nastali su u 19. stoljeću. Mogu biti otvorenog ili zatvorenog tipa, ali njihova primjena je danas sve rjeđa. Danas se koriste u proizvodnji maslinovog, bučinog ulja i eventualno sezamovog ulja. Hidraulične preše se mogu upotrijebiti za predprešanje, pri čemu se iz materijala uklanja samo dio ulja, ili za završno prešanje gdje se uklanja skoro cjelokupna količina ulja i pri tome zaostaje pogača, sa oko 5% zaostalog ulja (Rac, 1964; Dimić, 2005.).

Pužne preše

To su pužni transporter s promjenjivom zapreminom za materijal, te se tako može mijenjati radni tlak duž preše i kompenzirati gubitak tlaka zbog istjecanja ulja. Preša se sastoji od pužnice, koša koji je oko pužnice, uređaja za punjenje i doziranje materijala, uređaja za regulaciju debljine izlaza pogače, zupčanog prijenosnika i kućišta. Pužnica potiskuje materijal iz većeg u manji zatvoreni prostor, pri čemu se stvara visoki radni tlak koji izaziva slabljenje materijala i dolazi do cijedenja ulja. Radni tlak u preši regulira se debljinom izlaza pogače, a to se regulira na izlazu konusa glave preše. Kao predpreše imaju stupanj djelovanja 50 – 60 % u odnosu na sadržaj ulja, a kod završnog prešanja stupanj djelovanja može doseći 80 – 90 % (Rac, 1964; Dimić i Turkulov 2000.).

Kao posljedica visokog trenja unutar materijala prilikom prešanja javlja se porast temperature. Trenje može povisiti temperaturu materijala i do 170 °C, što se nikako ne bi

smjelo dogoditi, jer kod proizvodnje hladno prešanih ulja temperatura sirovog ulja ne bi smjela biti viša od 50 °C (Pravilnik NN 41/12). Kako bi se to postiglo potrebne su pužne preše posebne konstrukcije, ili se prešanje mora provesti pri nižem tlaku. Tada je prinos ulja manji, odnosno više je zaostalog ulja u pogači (Bockisch,1998.).

Odvajanje netopljivih nečistoća

Mehaničke, tj. netopljive nečistoće u svježe prešanom sirovom ulju predstavljaju masna prašina i sitniji ili krupniji dijelovi sjemena koji zajedno sa uljem izlaze iz preše. Količina nečistoća u sirovom ulju ovisi od konstrukcije preše, finoći usitnjavanja materijala prije prešanja, tlaku u preši, vrsti sirovine itd.

Najjednostavniji način odvajanja nečistoća iz sirovog ulja je proces sedimentacije. Ona se odvija u rezervoarima u kojima sirovo ulje odležava određeno vrijeme pri sobnoj temperaturi. Rezervoari na određenoj visini imaju ventile (ispuste) pomoću kojih se ispušta bistri sloj ulja, a nečistoće se talože na dnu. Nedostaci prirodne sedimentacije su dugo vrijeme provođenja i sporo odvajanje sluznih tvari pa se dobije ulje lošije kvalitete. Iz tih razloga talog ne bi trebao biti u duljem kontaktu sa uljem.

Odvajanje mehaničkih nečistoća procesom filtriranja je mnogo efikasnije, a sastoji se u propuštanju sirovog prešanog ulja kroz filter na kojem se one zadržavaju. Kao filteri mogu se upotrebljavati filtracijske tkanine od pamuka, lana i drugih tekstilnih vlakana, filter papir, kao filtri u vidu sita izrađeni od metala. Za grubo filtriranje se upotrebljavaju vibracijska sita i filtracijske centrifuge, a za finije filter preše, kontinuirani filtri i centrifugalni separatori. Kapacitet filtriranja je proporcionalan filtracijskoj površini filtra i brzini filtriranja (Rac,1964; Dimić 2005.).

Za dobivanje finalnog ulja bez taloga, odnosno sa minimalnom količinom, pogodno je rješenje da se najprije provede sedimentacija, dekantacija, a zatim fina filtracija. Sadržaj netopljivih nečistoća, u hladno prešanim uljima, se prema zakonskim propisima dozvoljava u količini od najviše 0,1% (Curaković i sur., 1996.).

Pakiranje i skladištenje biljnih ulja

Hladno prešana i nerafinirana biljna ulja su vrlo nestabilan i osjetljiv prehrambeni proizvod. Ulje pod utjecajem svjetlosti, temperature, kisika i dr. čimbenika mijenja kvalitetu tijekom njegovog skladištenja. Zbog toga je važan ambalažni materijal u kojem se ono čuva. Ambalaža zajedno sa proizvodom čini cjelinu, te je proizvod na taj način zaštićen od utjecaja različitih čimbenika. Kvalitetna ambalaža mora:

- onemogućiti interakciju s proizvodom;

- potpuno zaštititi proizvod;
- imati poželjna barijerna svojstva na plinove, vodenu paru, svjetlost i otopine;
- imati odgovarajuću termokemijsku otpornost pri preradi i punjenju;
- imati dobra fizikalno-mehanička svojstva;
- lako se otvarati i
- biti pravilno deklarirana (Curaković i sur., 1996.).

Pakiranje je tehnološki proces koji obuhvaća punjenje proizvoda u ambalažu, operacije pripreme, odmjeravanja, podešavanja odnosa komponenata, razlijevanja, zatvaranja, obilježavanja pojedinačnih pakiranja, zbirnog pakiranja, etiketiranja i paletizacije. Kao ambalažni materijal za pakiranje ulja koristi se staklo, polimerni, kombinirani materijali i spremnici od nehrđajućeg čelika. Važno je da ambalaža osim zaštitne funkcije ima i oblik i dizajn koji su oku privlačni, pa se tako može utjecati na želje potrošača (Dimić, 2005.).

2.2.3. Bučino ulje

Djevičansko bučino ulje se stoljećima koristilo u istočnoj Europi, Indiji i Americi. Proizvodi se iz sjemenki posebne vrste uljane buče. Koštice su ekološki prihvatljive i kao takve koriste se još i u prehrani neprerađene jer su bogat izvor omega masnih kiselina, vitamina i minerala. Djevičansko bučino ulje je iznimne kvalitete i kao gotov proizvod naročito je bogato vitaminima A, E, C i K. Svježe ulje sadrži više od 60% nezasićenih masnih kiselina od čega su najzastupljenije oko 45% linolna kiselina, 25% oleinska kiselina, 30% palmitinske i stearinske kiseline, te je zbog toga bučino ulje lako probavljivo.

Iz prikaza u Tablici 1 vidljivo je da bučino ulje odgovara zahtjevima Pravilnika o jestivim uljima i mastima (NN 41/2012). Te prema vrijednostima kiselinskog broja, slobodnih masnih kiselina, saponifikacijskog broja, jodnog broja i peroksidnog broja, može se zaključiti da konzumacija bučinog ulja djeluje blagotvorno na zdravlje čovjeka.

Tablica 1. Kemijske karakteristike bučinog ulja (web 5)

Kiselinski broj	1,6 mg KOH/g ulja
Slobodne (ne-esterificirane) masne kiseline	0,8 g/100 g ulja
Saponifikacijski broj	185,3 mg KOH/g ulja
Jodni broj	86,7 g I ₂ /100 g ulja
Peroksidni broj	1,5 mmol O ₂ /kg ulja

Bučino ulje ima izrazit, bogat, specifičan i jedinstven okus. Koristi se u kulinarstvu kao preljev za salate u kombinaciji s octom, u jelima od povrća, tjestenine, mesa i kao dodatak kolačima. Bučino ulje sadrži esencijalne masne kiseline, lecitin, bjelančevine, salicilnu kiselinu koja

spriječava grušanje krvi, silicijevu kiselinu i drugo. Važnost bučinog ulja u prehrani manifestira se ublažavanjem poteškoća u upalnim procesima urinarnog trakta, a posebno prostate i otežanog mokrenja.

Sastav i fizikalno-kemijske karakteristike bučinog ulja

Koštica buče je izrazito bogata uljem što se vidi u Tablici 2 iz osnovnog kemijskog sastava koštice. Bučino ulje se odlikuje raznim pozitivno prihvaćenim svojstvima kao što su:

- karakteristična i ugodna senzorska svojstva (miris i okus)
- visoka biološko-nutritivna vrijednost
- posebna farmakološka svojstva i
- izuzeno dobra održivost (oksidacijska stabilnost)

Tablica 2. Osovni kemijski sastav bučine koštice

Komponenta	Sjeme (Karlović, 1996.)		Sjeme sorte	
	sa ljuskom	golica	Olivija (Karlović, 2001.)	Olinka (Vukša, 2003.)
Udio ljuske (%)	15 - 39	-	24	-
Sadržaj ulja u sjemenu (% na SM)	33 – 40	42 – 51	35,3	42,6
Sadržaj ulja u jezgri (% na SM)	-	-	47,7	-
Sadržaj proteina u sjemenu	26 – 30	30 – 33	37,2	46,33
Kvaliteta ulja u sjemenu				
Kiselinski broj (mg KOH/g)	-	-	-	0,72
Peroxidni broj (mmol/kg)	-	-	-	1,16

*računato na suhu tvar

Hladno prešano ulje bučine koštice je posebno karakteristične boje. Vizualni dojam boje zavisi od debljine sloja ulja pri promatranju. Crvenkastosmeđa boja bučinog ulja se detektira pri promatranju debljeg sloja dok ulje razliveno u tankom sloju ima izrazito zelenu boju. Fizikalno-kemijske karakteristike ulja prikazane su u Tablici 3.

Tablica 3. Fizikalno-kemijske karakteristike bučinog ulja

Pokazatelj	(Karleskind, 1996.)	(Dimić, 2000.)	(Vukša i sur., 2003.)
Rel.zaprem.masa (20 °C)	-	0,921	0,9251
Index refrakcije (η_D^{20})	1,472	1,4725	1,465
Viskozitet pri 37.5 (cP)	31,1	-	-
Jodni broj (g/100g)	117	122	103
Saponifikacijski broj (mgKOH/g)	187	195	184

Ulje bučine koštice pripada grupi ulja visoke biološko nutritivne vrijednosti. Najbitniji sastojci su tokoferoli, steroli, karotenoidi, fosfolipidi, fenolni spojevi i dr. prikazani u Tablici 4. Ovi sastojci imaju velik metabolički značaj u organizmu, djeluju protuupalno, diuretski, antimikrobno, blokiraju slobodne radikale i sl.

Tablica 4. Nutritivne komponente tri uzorka hladno prešanog i dva uzorka djevičanskog bučinog ulja, golica. Sorta „Olinka“ (Novaković, 2009.)

	Hladno prešano ulje			Djevičansko ulje	
	1	2	3	1	2
Neosapunjive tvari (g/kg)	6,72	6,15	5,38	7,63	7,91
Ukupni fosfolipidi (mg/kg)	45,75	34,25	44,28	2932,89	1527,1
Ukupni tokoferoli (mg/kg)	883,45	831,83	927,68	1236,27	1002,89
Ukupna fenolna jedinjenja (mg/kg)	9,45	10,64	12,24	24,22	21,83
Ukupni karotenoidi (mg/kg)	7,85	8,7	7,43	15,35	14,19

Iz prikaza u Tablici 5 vidljivo je da se bučino ulje uglavom sastoji od nezasićenih masnih kiselina.

Tablica 5. Sastav masnih kiselina bučinog ulja (% m/m)

Masna kiselina	(Karlović i sur., 2001.)	(Vukša i sur., 2003.)	(Bockisch, 1998.)	(Vujsinović i sur., 2010.)	Nederal Nakić i sur. 2006.)
C (14:0)	0,11	-	-	-	0,10
C (16:0)	11,86	12,2	16	14,15	12,01
C (18:0)	7,3	-	5	7,59	5,25
C (20:0)	0,56	-	-	-	0,32
C (22:0)	0,18	-	-	0,11	0,08
Ukupno zasićene	20,01	-	-	21,85	17,76
C (16:1)	0,11	-	-	-	0,13
C (18:1)	40,55	19,2	24	34,97	35,12
C (20:1)	0,18	-	-	-	0,09
Ukupno mononezasićene	40,84	-	-	34,97	35,34
C (18:2)	38,61	62,7	54	42,97	46,58
C (18:3)	0,18	0,7	0,5	0,1	0,25
Ukupno polinezasićene	38,79	63,4	-	43,07	46,83

Koštica kao i bučino ulje ne sadrže eruka kiselinu, a relativan udio oleinske kiseline uvijek je u negativnoj korelaciji sa udjelom linolne kiseline. Zbog toga buče koje se beru u kasnu jesen kada su temperature niže, sadrže više linolne a manje oleinske kiseline (Fruhworth i Hermetter, 2009.). Visok sadržaj linolne kiseline je važna nutritivna karakteristika ulja bučine koštice. Linolna kiselina je esencijalna masna kiselina za ljudski organizam, potrebna za formiranje staničnih membrana, vitamina D i različitih hormona (Dimić, 2005.).

U Tablici 6 prikazani su sastav i sadržaj neosapunjivih tvari u bučinom ulju. Zbog specifičnog sastava tokoferola i drugih sastojaka ulje ima dobru održivost, a posjedovanjem nutritivne kvalitete pripada skupini ekskluzivnih i skupih jestivih ulja.

Tablica 6. Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari u bučinom ulju

Neosapunjive tvari	(Karleskind, 1996.)	(Karlović, 2001.)
Sadržaj neosapunjivih tvari (g/kg)	12	-
Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg)	3600	-
Sastav sterola: (% od ukupnih sterola)		-
Spinaestrol	33,2	-
Stigmasestriene-ol	22,4	-
Stigmastadien 7-25-ol	19,5	-
Stigmastadien 7-24-ol	20,1	-
Triterpen alkoholi (mg/kg)	1660	-
Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg)	840	766
Sastav tokoferola: (% od ukupnih tokoferola)		
α -tokoferol	7,3	10,4
γ -tokoferol	89,3	88,8
δ -tokoferol	3,2	0,8

Pogača koja zaostaje nakon prešanja je bogata kvalitetnim proteinima, po sastavu slična proteinima suncokreta. Najčešće se koristi kao stočna hrana, a određenu primjenu ima i u prehrambenoj industriji (konditorska industrija, za bojanje tjestenine, mliječna industrija) (Leder i sur., 1993.).

Postupak proizvodnje bučinog ulja

Sakupljanje buče i odvajanje koštice buče od plašta i mezokarpa provodi se posebnim strojevima. Koštice buče sakupljaju se u najkraćem mogućem roku (6 h), peru se i stavljaju u režim sušenja toplim zrakom. Ljepljiva sluz i zaostale primjese otklanjaju se pranjem, primjese bi poslije otežavale i time poskupljivale proces sušenja koštica. Proces sušenja ima važnu ulogu za kakvoću koštica. Neprimjerenim procesom sušenja koštica za samo nekoliko sati može se značajno narušiti kakvoća osušenih koštica. Ne preporučuje se proces sušenja koštica golica (bez ljuske) tijekom kojeg se one zagrijevaju na više od 55 °C. Ljuska djeluje kao termoizolator pa se kod sušenja koštica s ljuskom temperatura koštica tijekom procesa sušenja može postići veće vrijednosti. Za sušenje vlažnih bučinih koštica koriste se indirektni sušare. Postupak sušenja traje sve dok se ne postigne ravnotežna vlaga u košticama koja iznosi od 6 do 8%. Zaostale dijelove osušene pulpe i drugih biljnih ostataka, ponekad i kamenčića, od koštice treba izdvojiti primjenom kombiniranih strojeva (pročistača) koji rade na načelu prosijavanja i aspiracije. Odvajanje ljuske kod običnih koštica nužno je prije usitnjavanja jer ljuska (najvećim dijelom celuloza) poslije otežava postupak prešanja ulja. Također bi i dijelovi ljuske mogli zagorjeti tijekom prženja te ulju dati loš okus. Za

odvajanje ljuske najčešće se koriste posebni uređaji-ljuštilice. Osušene i čiste koštice mogu se uspješno uskladištiti i čuvati do 12 mjeseci sve do trenutka prerade u bučino ulje. Usitnjavanje se najčešće provodi pomoću nazubljenih valjaka. Poželjno je imati dva ili više serijski spojenih parova valjaka zbog ujednačenog usitnjavanja koštice. Kako bi se izbjeglo zagrijavanje i lijepljenje usitnjene mase usitnjavanje se može provoditi i kamenim žrvnjem, ali uz manju obodnu brzinu. Usitnjavanje se ne preporučuje na mlinu čekićaru zbog velike količine ulja kod koštice golica (48 do 52%). Prešanje ili tiješnjenje koštica buče provodi se u pogonu uljare jednim postupkom na temperaturi do 130 °C i drugim postupkom, takozvanim hladnim prešanjem na temperaturi do 60 °C dovođenjem usitnjenih koštica u prešu bez kondicioniranja. Postupak dobivanja bučinog ulja u oba postupka odvija se bez dodavanja drugih ulja i bez kemikalija, a dobiveni proizvodi su nerafinirano bučino i hladno prešano bučino ulje. Bučina ulja dobivena na ovaj način su visoke kvalitete, sa visokim postotkom vitamina A, E i K, tamno zeleno-smeđe boje, sa crvenom fluorescencijom čiji su nosioci spojevi iz grupe karotenoida i klorofila. Od bučinih koštica može se dobiti i prvoklasno rafinirano ulje, ali se to u praksi ne provodi jer se gubi specifična aroma i boja, zbog kojih je ulje toliko cijenjeno (Neđeral Nakić i sur., 2006.). Bučino ulje ima izrazit, bogat, specifičan i jedinstven okus. Zbog svoje boje zanimljiv je i za kreiranje vizualnih efekata prilikom ukrašavanja jela. Konzumiranje bučinog ulja preporučuje se prvenstveno kao salatno ulje ili terapijski jedna velika žlica dnevno.

2.3. VRSTE KVARENJA ULJA I MASTI

Biljna ulja i masti vrlo brzo podliježu nepoželjnim promjenama: kemijskim reakcijama, enzimskim ili mikrobiološkim procesima, te zbog toga imaju ograničenu trajnost. Zbog svih ovih promjena dolazi do kvarenja ulja. Kvarenje ulja rezultat je složenih kemijskih i biokemijskih procesa uvjetovanih raznim čimbenicima. Posljedice se očituju u nastajanju spojeva (hlapljivi spojevi) koji daju neugodan okus i miris, te ulja postaju neupotrebljiva za prehranu. Kako će se odvijati proces kvarenja ovisi o vrsti i kvaliteti ulja, te o uvjetima čuvanja.

Kvarenjem dolazi i do promjene prehrambene vrijednosti ulja, gubi se jedan dio biološki aktivnih tvari kao što su esencijalne masne kiseline, provitamini, vitamini i dr. sastojci, a nastaju i štetne tvari peroksidi, polimeri. Veoma je važno spriječiti kvarenje ulja i masti već od trenutka ubiranja i skladištenja sjemena, proizvodnje ulja, te upotrebe. Procese kvarenja ulja i masti prema utjecaju koji uzrokuje kvarenje dijelimo na enzimске i mikrobiološke procese, te kemijske procese (Oštrić-Matijašić, 1980.).

2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Za ovu vrstu kvarenja neophodna je prisutnost enzima ili mikroorganizama, odgovarajuća sredina i uvjeti za njihov razvoj (voda, pH i dr.). Proces koji uzrokuje enzimi su karakteristični za ulja i masti u sirovinama. Disanjem sjemena oslobađa se toplina što povećava temperaturu, a time i aktivnost autohtonih enzima, pa je stoga važno voditi računa o uvjetima skladištenja sjemena i plodova uljarica (Rade i sur., 2001.). Proces koji uzrokuje mikroorganizmi su značajni za neka ulja i masti, te za proizvode koji sadrže dosta ulja i masti. Ovi procesi se dijele na: hidrolitičku razgradnju i β -ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja – djelovanjem lipolitičkih enzima (lipaza) uz prisutnost vode i temperature dolazi do reakcije hidrolize triacilglicerola (triglicerida) zbog cijepanja esterske veze što rezultira nastajanjem slobodnih masnih kiselina. Posljedica je povećanje kiselosti ulja i nastajanje di-, monoglicerida, pa i glicerola.

Pri temperaturama višim od 80 °C i nižim od -20 °C dolazi do inaktivacije enzima, pa je zaustavljen proces hidrolitičke razgradnje ulja (Rade i sur., 2001.). Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina. U jestivim uljima (rafiniranim) može biti slobodnih masnih kiselina do 0,3% izraženih kao % oleinske kiseline (Pravilnik NN 41/2012.).

β -ketooksidacija – značajna je za ulja i masti u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca. Do ove oksidacije dolazi djelovanjem mikroorganizama – gljivica iz grupe *Aspergillus* i *Penicillium*, te djelovanjem bakterija *Bacillus mesentericus* i *B. subtilis*.

2.3.2. Kemijski procesi

Kemijski procesi koji uzrokuju kvarenje ulja i masti su:

1. Autooksidacija
2. Termooksidacijske promjene
3. Reverzija

Autooksidacija

Nezasićene masne kiseline koje se nalaze u svim prirodnim uljima i mastima u različitim količinama, vežu kisik iz zraka na dvostruke veze što dovodi do njihove oksidacije, odnosno autooksidacije jer nastali produkti katalitički pospješuju daljnji tijek oksidacije. To je jedan od najčešćih oblika kvarenja ulja i masti (Oštrić-Matijašević, 1980; Rade i sur., 2001.).

Termooksidacijske promjene ulja i masti

Zagrijavanjem ulja pri visokim temperaturama (većim od 150 °C), uz prisutnost vodene pare i zraka dolazi do složenih kemijskih reakcija. Nakon određenog vremena zagrijavanja ulja na povišenim temperaturama u uljima osim oksidacijskih produkata (hidroperoksida i njihovih razgradnih produkata) dolazi i do nastanka produkata termooksidacije: cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina i triacilglicerola, oksipolimeri i drugi hlapljivi i ne hlapljivi spojevi (Volmut, 2008.; Patterson, 1989.). Do sada ih je identificirano preko 400.

Kako će se odvijati termooksidacijske promjene ovisi o vrsti ulja, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Neke studije pokazuju da veliki stupanj oksidacije i zagrijavanje ulja može imati štetno djelovanje na zdravlje ljudi zbog mogućnosti nastajanja toksičnih tvari (kancerogena svojstva) (Mandić, 2003.).

Reverzija

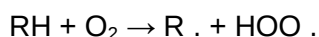
Reverzija je pojava, karakteristična za neka ulja, kod kojih se poslije kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan okus i miris na sirovinu, ili pak ribu, i postaju jako izraženi kada se ulje zagrijava (Rac, 1964.; Oštrić-Matijašević, 1980.; Swern, 1972.). Za usporavanje reverzije primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja (zbog uklanjanja linolenske kiseline) ili dodatak aditiva koji će povećati održivost ulja (Oštrić-Matijašević, 1980.).

2.4. STABILIZACIJA ULJA

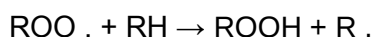
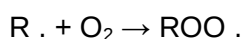
Autooksidacija je vrsta kvarenja ulja, u praksi često nazvana i užeglost. Do oksidacije dolazi djelovanjem kisika iz zraka na (=) veze u lancu nezasićene masne kiseline. Da li će se autooksidacija razvijati brže ili sporije ovisi o sastavu ulja, uvjetima čuvanja i o prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju oksidaciju.

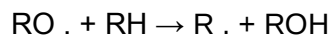
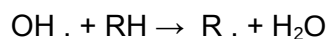
Autooksidacija je lančana reakcija koja se odvija u tri faze (Oštrić-Matijašević, 1980.; Rade i sur. 2001.; Koprivnjak, 2006.).

1. Početak reakcije – indukcija

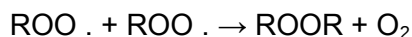
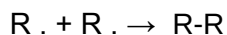


2. Tijek reakcije – propagacija





3. Završetak reakcije – terminacija



RH – masne kiseline

R · , RO · – slobodni radikali

ROO · - radikal peroksida

ROOH - hidroperoksid

HOO · - radikal vodikovog peroksida

R-R, ROOR – polimeri

Hidroperoksidi su primarni produkti autooksidacije, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom hidroperoksida, to su aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i drugi spojevi. Sekundarni produkti oksidacije daju ulju neugodan, užegnut miris i okus, iako mogu biti u vrlo malim količinama.

Mnogi od sekundarnih produkata oksidacije ulja su vrlo reaktivni spojevi i mogu pokrenuti lančanu reakciju oksidacije in vivo (Shahidi, 1997.). Oni mogu pridonijeti nastajanju karcinoma, arteroskleroze, srčanih i alergo bolesti (Simic i Karel, 1980.).

Višestruko nezasićene komponente ulja oksidiraju se puno brže nego mononezasićene ili zasićene komponente. Polinezasićene masne kiseline smatramo ključnim komponentama u procesu autooksidacije (Swern, 1972.).

Oksidacijom ulja gube se esencijalne masne kiseline koje se, kao nezasićene s dvije i više dvostrukih veza, najbrže oksidiraju. Dolazi i do oksidacije nekih vitamina i provitamina, a produkti oksidacije djeluju toksično, pa je važno spriječiti kvarenje ulja tijekom proizvodnje, skladištenja i upotrebe. Zbog ovih ranije navedenih razloga veća oksidacijska stabilnost lipida je važna za zdravlje ljudi i također je ekonomski značajna (Yanishlieva, Marinova, 2001.).

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su reducirajuće tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja. Odnosno to su spojevi koji usporavaju

proces autooksidacije ulja i masti. Njihova primjena počinje za vrijeme 2. svjetskog rata kako bi se sačuvale veće količine masti i ulja pod nepovoljnim uvjetima.

Antioksidansi se primjenjuju u mnogim proizvodima osim jestivih ulja i masti, i to u eteričnim uljima, kozmetičkim i farmaceutskim proizvodima.

Danas je poznat veći broj antioksidanasa, sintetskih i prirodnih koji se koriste kao inhibitori autooksidacije ulja odnosno primjenjuju se za produženje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja (Yanishlieva, Marinova, 2001.; Merrill i sur., 2008.)

2.4.1.1. Mehanizam djelovanja

Antioksidans sprječava oksidaciju ulja kroz dvije reakcije (Koprivnja, 2006.):

1. reakcija - Inaktivacija slobodnih radikala

Antioksidans daje vodik koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO.) ili radikal masne kiseline (R):



2. reakcija – Hvatanje slobodnih radikala

Slobodni radikal antioksidansa (A.) veže se na slobodni radikal (R.) ili (ROO.):



Antioksidans veže slobodne radikale i tako usporava proces autooksidacije ulja.

Važno je da se antioksidansi dodaju ulju niskog peroksidnog broja (<1) jer će samo tada spriječiti oksidaciju. Dodatkom antioksidansa u ulje u kojem je oksidacija već počela ne dolazi do sprječavanja procesa oksidacije jer su već stvoreni hidroperoksidi koji djeluju kao katalizatori autooksidacije.

Antioksidans djeluje toliko dugo dok se ne potroši. Koliko će on djelovati ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji u kojoj je dodan, vrsti ulja i uvjetima čuvanja.

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa može se izraziti pomoću stabilizacijskog (zaštitnog) faktora (PF) (eng. *protection factors*) koji pokazuje koliko se puta poveća održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa (Bandoniene i sur., 2000.).

Zaštitni faktor (PF) = IPX / IPK

IPX - induksijski period uzorka ulja sa dodatkom antioksidansa (h)

IPK - induksijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h)

Vrijeme indukcije ili induksijski period (I) je broj sati potreban da ulje dostigne peroksidni broj 5 mmol O₂/kg. Smatra se da se povećanjem koncentracije dodanog antioksidansa povećava i oksidacijska stabilnost ulja, no kod nekih antioksidansa nije tako jer oni u većoj količini djeluju suprotno, kao prooksidansi, te ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja.

2.4.1.2. Vrste antioksidanasa

Danas je poznat veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa, ali ne koriste se svi za stabilizaciju jestivih ulja i masti. U Tablici 7 prikazani su antioksidansi koji se obično upotrebljavaju u hrani.

Tablica 7. Primarni antioksidansi koji se koriste u hrani (Shahidi, 2005.)

Prirodni	Sintetski
Karotenoidi	Butil hidriksianisol (BHA)
Flavonoidi	Butil hidroksitoluen (BHT)
Fenolne kiseline	Etoksiquin (EQ)
Tokoferoli i tokotrienoli	Propil galat (PG)
	Tercijarni butilhidrokinon (TBHQ)

Kod antioksidansa imamo i pojavu sinergizma. Sinergizam je kooperativni učinak više antioksidansa ili antioksidansa sa drugim tvarima kako bi povećali antioksidacijski aktivitet nego što je aktivitet pojedinačnih komponenti kada se koriste odvojeno.

Potvrđena su dva tipa sinergizma, jedan obuhvaća samo primarne antioksidanse i drugi koji je složen od kombinacije primarnih antioksidansa sa metalhelatorima i čistačima peroksida (sinergisti ili sekundarni antioksidansi).

Askorbinska kiselina zajedno sa α -tokoferolom pokazuje dobar sinergizam, a jak sinergistički aktivitet pokazuje mješavina prirodnog tokoferola i limunske kiseline koja sa metalima stvara helate (Shahidi, 2005.).

Sintetski antioksidansi

Sintetski (umjetni) antioksidansi se koriste za stabilizaciju masti, ulja i hrane koja sadrži lipide. Dobiveni su kemijskim putem i nisu prirodan sastojak hrane – pripadaju grupi aditiva. Po svom kemijskom sastavu antioksidansi su uglavnom aromatski spojevi fenolnog tipa. Mnoge tvari su aktivne kao antioksidansi, no samo nekoliko se može upotrebljavati u hrani zbog stroge regulative iz sigurnosti hrane. U nekim zemljama pojedini antioksidansi može biti

dozvoljen, dok je u drugima zabranjen. Količina antioksidansa koja se može dodati u uljima, mastima i hrani u većini zemalja je regulirana zakonom. U Hrvatskoj upotreba aditiva, antioksidanasa regulirana je Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 81/2008

Sintetski antioksidansi koji su našli primjenu prilikom proizvodnje i prerade ulja i masti su: alkil esteri galne kiseline, npr. propil galat (PG), oktil galat, dodecil galati, butilhidroksitoluen (BHT), α -tokoferol, butilhidroksianisol (BHA), askorbil palmitat i askorbil stearat, tercijarni butilhidrokinon (TBHQ), mješavina tokoferola i drugi. Na tržištu je prisutan niz već gotovih mješavina antioksidanasa namijenjenih za uporabu u industriji jestivih ulja i masti i njihovih prerađevina, jer je za bolju održivost ulja poželjno dodati smjesu antioksidansa (Shahidi, 2005.).

Prirodni antioksidansi

U posljednje vrijeme razvojem svijesti i sve većom željom i potrebom potrošača za zdravijom hranom sve više potrošača pokazuje zanimanje za novim proizvodima obogaćenim prirodnim antioksidansima (Berra i sur., 2006.).

Prirodnih antioksidansa ima među aminokiselinama i dipeptidima, hidrolizatima proteina, vodi topljivim proteinima, fosfolipidima, anorganske soli, tokoferolima i njihovim derivatima, karotenoidima, askorbinska kiselina, antioksidans enzimi i veliki broj fenolnih spojeva jestivih i nejestivih dijelova biljaka (Subhashinee Wijerante i sur., 2006.).

Orašasti plodovi su jedni od najvažnijih izvora prirodnih antioksidanasa, poznati su da posjeduju svojstva koja pomažu zdravlju (Andreasen i sur., 2001.). Od prirodnih antioksidansa koji se nalaze u biljnim uljima najpoznatiji su tokoferoli.

Mnoge biljke sadrže komponente koje imaju antioksidacijsko djelovanje. Ekstrakti iz prirodnog biljnog materijala (voća, povrća, aromatskog i začinskog bilja) bogat su izvor tokoferola, vitamina C, karotenoida i flavonoida, oni daju doprinos uspješnijem povećanju održivosti ulja, te razvoju zdravije prehrane (Ahn i sur., 2008.; Erkan i sur, 2008.).

Ekstrakt zelenog čaja posjeduje antioksidacijsku aktivnost u biljnim uljima i životinjskim mastima, glavni antioksidacijski sastojci u ekstraktu zelenog čaja su (+) katehin, (+) galokatehin, (-) epikatehin, (-) epikatehin galat, (-) epigalokatehin i (-) epigalikatehin galat. Antioksidacijska aktivnost ekstrakta zelenog čaja se ponaša različito u različitim lipidnim sistemima. (Frankel i sur., 1997.).

Začini koji imaju antioksidacijska svojstva su ružmarin, kadulja, origano, timijan i dr.

Začini kao kadulja i ružmarin pokazuju visoka antioksidacijska svojstva zbog prisustva fenolne grupe spojeva (Pokorny i sur., 1997.).

Tokoferoli

Najpoznatiji prirodni antioksidansi u biljnim uljima su tokoferoli. Dolaze kao neosapunjivi sastojci skoro u svim prirodnim uljima i mastima, ali znatno više u onima biljnog podrijetla. Po kemijskom sastavu su visoko molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Poznato je osam tokoferola, najvažniji su α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol i δ -tokoferol. Oni se razlikuju po svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju.

Najbolje vitaminsko djelovanje ima α -tokoferol koji je i dobio naziv vitamin E.

Utjecajem temperature i UV svjetlosti dolazi do degradacije α -tokoferola (Sabliov i sur.2009.).

Antioksidacijsko djelovanje najviše pokazuje γ -tokoferol i δ -tokoferol. Ulja koja više sadrže γ -tokoferol i δ -tokoferol imati će veću održivost. Takvo je ulje kukuruznih klica koje je veoma dobre održivosti (Gudstone, 2008.).

α -tokoferol je antioksidans in vivo – štiti nezasićene masne kiseline u organizmu od procesa oksidacije, sprječava nastajanje slobodnih radikala, ima najjače vitaminsko djelovanje. Koncentrati tokoferola dobivaju se iz prirodnih ulja, a dodani u većoj količini u biljno ulje djeluju kao prooksidansi.

Mehanizam djelovanja tokoferola i fenolnih spojeva (ekstrakt ružmarina, maslinovo ulje) ostvaruje se tako da antioksidans (AH) predaje atom vodika slobodnim radikalima (R .), pri čemu ovi postaju stabilne molekule (RH), a sam inaktivator postaje radikal vrlo niske reaktivnosti (A .). Takav mehanizam je efikasan u zaustavljanju procesa oksidacije samo u fazi indukcije tj. kod malih koncentracija hidroperoksida (primarnih produkata oksidacije ulja). (Warner, 2005.).

Ulje ima najbolju oksidacijsku stabilnost sa profilom tokoferola 470 ppm γ , 100 ppm δ i 300 ppm α , znači da ulje može biti i oksidacijski stabilno i još dobar izvor vitamina E (α -tokoferola) (Warner i sur., 2008.).

Lecitin

Lecitin je prvi prirodni spoj koji je predložen kao antioksidans. Lecitin je smjesa različitih fosfolipida, a u biljnom lecitinu to su fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin i fosfatidilinozitol.

Prilikom proizvodnje ulja bilo prešanjem ili ekstrakcijom sa organskim otapalima zajedno sa uljem iz sjemena izlaze i fosfolipidi (fosfatidi) koji se uklanjaju iz sirovog ulja postupkom

degumiranja. Fosfolipidi se moraju ukloniti iz sirovog ulja prije rafinacije jer povećavaju gubitke i otežavaju proces rafinacije. Veći sadržaj fosfolipida u sirovim uljima je jedan od razloga veće stabilnosti sirovih ulja od rafiniranih. Češće se za lecitin navodi njegovo djelovanje kao sinergista s drugim antioksidansima. Najbolja je kombinacija lecitina sa askorбил palmitatom i tokoferolom (Rade i sur., 2001.).

Začinske biljke – ružmarin

Začinske biljke sadrže određene spojeve koji imaju antioksidacijsko djelovanje stoga su prirodni antioksidansi i ekstrakti iz začinskih biljaka. Najčešće se koriste začinske biljke iz porodice Lamiaceae – i to ekstrakt ružmarina i kadulje. Oni imaju izrazito antioksidacijsko djelovanje, a zadržavaju ga i pri visokoj temperaturi (98-194 °C).

Ružmarin se najviše primjenjuje od prirodnih antioksidansa, listići ružmarina sadrže 0,5-3% eteričnog ulja.

Antioksidansi ekstrakta ružmarina su fenolni diterpenoidi: karnosol, karnosolna kiselina, rosmanol, epirosmanol, rosmadial i metil-karnosat, antioksidacijsko svojstvo imaju i flavonoidi genkvanin i cirsimaritin (Škevin, 2003.). Najznačajniji su karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina. Od svih navedenih spojeva fenolnih diterpenoida dominantna frakcija ekstrakta ružmarina je karnosolna kiselina (White i sur., 1986.), ona ima i najjaču antioksidacijsku aktivnost (Richhmeimer i sur., 1996.; Cuvelier i sur., 1996.) . Istraživana je antioksidacijska aktivnost čiste karnosolne kiseline sa antioksidansima BHT, BHA i TBHQ, te je utvrđeno da karnosolna kiselina ima nekoliko puta veću antioksidacijsku aktivnost od BHT i BHA, ali manju od TBHQ (Richhmeimer i sur., 1996.). Ekstrakt ružmarina koji je sadržavao antioksidacijske komponente karnosolnu kiselinu (36,33%) i karnosol (4,79%) pokazao je najbolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α -tokoferol, askorбилpalmitat i limunsku kiselinu. Istraživan je sinergistički efekt α -tokoferola, askorбилpalmitata i limunske kiseline na ekstrakt ružmarina. U kombinaciji sa limunskom kiselinom i naročito sa askorбил palmitatom ekstrakt ružmarina pokazuje povećanje antioksidacijskog efekta, dok u kombinaciji sa α -tokoferolom dobiven je negativan sinergistički učinak (Hraš i sur., 2000.).

Steroli

Izvori sterola i njihovih derivata koji imaju antioksidacijsku aktivnost potječu od kukuruznog vlakna (Wang i sur., 2002.), zob (White i Armstrong, 1996.) i rižinih mekinja (Wang i sur., 2002.). Ti sastojci se dobivaju od neosapunjive frakcije koja je uklonjena iz ulja za vrijeme rafinacije. Alkoholi triterpeni i ugljikovodici ili steroli iz zob, riže i kukuruznih vlakana imali su snažan antioksidacijski utjecaj na ulje za prženje i kao rezultat pokazivali su

antipolimerizacijski efekt (Shahidi, 2005.). Ulje od rižinih mekinja pokazuje vrlo dobru antioksidacijsku i antipolimerizacijsku aktivnost (Wang i sur.,2002.).

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produžuju njegovo djelovanje.

U ulje je potrebno dodati uz antioksidanse i spojeve koji djeluju kao sinergisti. Uz antioksidans obično se dodaje 0,005 do 0,02% sinergista. Sinergisti koji se najviše koriste uz antioksidanse su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropil citrat, askorбил palmitat i lecitin. Svaki sinergist ne odgovara svakom antioksidansu. Sinergisti imaju tri načina djelovanja:

1. Vežu ione metala, inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje.
2. Daju vodikov atom antioksidansu, te ga regeneriraju i produžuju vrijeme njegovog trajanja.
3. Sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida – sinergist se veže sa radikalom antioksidansa i time zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

Oni se u ulje obično dodaju na kraju procesa dezodorizacije.

Sinergisti se još nazivaju sekundarni antioksidansi jer ne prevode izravno slobodne radikale u stabilne molekule, već posredno pridonose usporavanju oksidacijskog procesa kvarenja ulja (Koprivnjak, 2006.).

2.4.3. Prooksidansi

Čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja nazivaju se prooksidansi.

Autooksidacija se ne može spriječiti, no isključenjem djelovanja pojedinih čimbenika može se usporiti, i time produljiti oksidacijsku stabilnost ulja i masti. Važni prooksidansi su: temperatura, svjetlost, tragovi metala i neki pigmenti.

Slobodne masne kiseline također mogu biti prooksidansi, one to čine sa karboksilnom skupinom koja ubrzava razlaganje hidroperoksida (Miyashita, 1986.).

Temperatura

Porastom temperature, autooksidacija ulja se ubrzava, a sniženjem temperature usporava. Oksidacijsko kvarenje se ne može u potpunosti spriječiti. Skladištenjem na niskim temperaturama, nižim od – 20 °C proces autooksidacije se odvija polagano. Povišena

temperatura ubrzava djelovanje kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida, to je izraženo najviše kod biljnih ulja sa visokim udjelom polinezasićenih masnih kiselina (npr. sojino ulje). Porastom temperature proces autooksidacije se naglo ubrzava, tako se pri temperaturi oko 100 °C autooksidacija ulja znatno ubrzava, ovisno o raspoloživom kisiku.

Svjetlost

Svjetlost ubrzava oksidaciju ulja bez obzira na valnu duljinu. Kraće valne duljine svjetlosti, manje od 380 nm, više ubrzavaju oksidaciju ulja jer pospješuju i autooksidaciju i razgradnju hidroperoksida. Za održivost biljnih ulja važan je utjecaj vidljivog dijela spektra koji ubrzava autooksidaciju, ali manje nego svjetlost kraćih valnih duljina. Spremnici za ulje trebaju imati inertnu unutarnju površinu koja bi štitila ulje kroz duži vremenski period skladištenja.

Tragovi metala

Ioni metala koji se nalaze u ulju u vrlo malim količinama (ppm = mg/kg) su izraziti prooksidansi. Dovoljno je npr. 0,1 ppm Cu ili 1 ppm Fe da se smanji održivost ulja za više od pola vremena trajanja. Tragovi metala su prooksidansi samo u slučaju kad su već prisutni hidroperoksidi. Djelovanjem metala na hidroperoksidi dolazi do oksidacije iona metala, te stvaranja slobodnog radikala. Slobodni radikali nastavljaju dalje lančanu reakciju oksidacije ulja. Svi metali nemaju isto prooksidacijsko djelovanje. Intenzitet djelovanja je u nizu metala slijedeći: Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al.

Ulja i masti sa većim udjelom slobodnih masnih kiselina lakše otapaju metale nego neutralna ulja.

Pigmenti

Prooksidacijsko djelovanje imaju klorofil i hem-spojevi. Klorofil djeluje kao prooksidans samo uz djelovanje svjetlosti. Hem-spojevi su sastavni dio nekih proizvoda (koncentrati juha, proizvodi od mesa), te se pri proizvodnji ovih proizvoda mora koristiti svježe ulje.

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja koristi se veći broj metoda (Matthaus, 1996.). Nijedna metoda ne može dati ukupnu sliku stupnja oksidacijskih promjena. Istovremenom primjenom više metoda koje daju ukupan sadržaj oksidacijskih promjena (primarnih i sekundarnih produkata oksidacije) možemo dobiti kompletan uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena (Crapise i sur., 1999.).

Metode kojima se određuje stupanj oksidacijskih promjena ulja mogu se podijeliti u tri grupe:

1. Senzorske metode
2. Kemijske metode
3. Fizikalne metode

2.5.1. Senzorske metode

Senzorsko ocjenjivanje stupnja oksidacije zasniva se na određivanju pojave neprijatnog, užeglog mirisa i okusa ulja zbog nastanka razgrađenih, sekundarnih produkata oksidacije. Sekundarni proizvodi oksidacije su hlapljivi karbonilni spojevi (aldehidi, ketoni). Oni daju, naročito aldehidi, u malim koncentracijama (oko 10 - 6 ppm) neugodan, užegnuto okus i miris ulja. Senzorske metode ispitivanja su veoma važne u ispitivanju kvalitete ulja. Brojna istraživanja su imala za cilj da senzorske metode zamjene sa nekim jednostavnim i bržim metodama kao što je plinska kromatografija, no još uvijek nije pronađena dobra korelacija između senzorske metode i plinske kromatografije (Oštrić-Matijašević, 1980.). U industrijama ulja, odnosno i u svim laboratorijima gdje se provode analize ulja, uz kemijske i analitičke metode za ispitivanje kvalitete ulja, i organoleptičko ocjenjivanje ulja je vrlo važan pokazatelj oksidacijskog stanja ulja.

2.5.2. Kemijske metode

Analitičke metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti mogu biti kemijske i fizikalne. U Tablici 8 prikazane su analitičke metode i ispitivani parametar za ocjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti.

Tablica 8. Analitičke metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti (Dimić i Turkulov, 2000.)

Analitička metoda	Ispitivani parametar
Kemijske metode	
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehid
Karbonilni broj	Svi spojevi sa karbonilnom grupom
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbonilni spojevi
Kreis test	Epoksialdehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj	OV=2PV+AV, ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije
Fizikalne metode	
UV-spektrofotometrija	Konjugirani dieni/trieni
IR spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nukl.magn.rezonanca)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi) i ketoni
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehid i sekundarni proizvodi
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

Peroksidni broj (Pbr)

Kemijska metoda koja je jedna od najstarijih i najčešće primjenjivanih metoda za ispitivanje stupnja oksidacije ulja i masti je određivanje peroksidnog broja. Peroksidnim brojem se utvrđuju primarni produkti oksidacije ulja. Određuje se sadržaj hidroperoksida i peroksida kao primarnih produkata oksidacije ulja. U praksi se najviše primjenjuju metode Lea i Wheeler-a. To su jodometrijske metode, po kojima se određuje količina joda kojeg iz kalij-jodida oslobode peroksidi (primarni produkti oksidacije) sadržani u ulju i masti (Oštrić-Matijašević, 1980; Rade i sur., 2001.; Dimić i Turkulov, 2000.).

Za određivanje peroksidnog broja, osim jodometrijske može se koristiti i kolorimetrijska metoda koja se temelji na oksidaciji željeza (II) soli u željezo (III) (fero oblik soli u feri oblik) i mjerenjem intenziteta nastalog obojenja (Oštrić-Matijašević, 1980; Rade i sur., 2001.).

Za biljna rafinirana ulja smatra se da su ulja dobre kvalitete ako peroksidni broj ne prelazi 5 mmol O₂/kg, dok je za ulja koja se koriste nerafinirana ili hladno prešana ulja dozvoljen peroksidni broj do 7 mmol O₂/kg (Pravilnik NN 41/2012.).

Tiobarbiturni broj (TB)

Tiobarbiturni broj je metoda kod koje se određuje stupanj oksidacijskih promjena na osnovu količine nastalih sekundarnih produkata oksidacije ulja. Kod ove kolorimetrijske metode mjeri se intenzitet ružičaste boje na 532 nm, a koja nastaje kao rezultat reakcije tiobarbiturne kiseline sa malonaldehidom (sekundarni produkt oksidacije višestruko nezasićenih masnih kiselina). Neki autori predlažu i mjerenje boje na 450 nm (Rade i sur., 2001.).

Anisidinski broj (Abr)

Hidroperoksidi su nestabilni i brzo se razgrađuju osobito pri visokim temperaturama. Razgradnja može ići tako da se stvaraju slobodni hlapljivi aldehidi koji uzrokuju neugodan okus i miris, no oni se tijekom dezodorizacije uklanjaju iz ulja, a drugi dio su aldehidi koji ostaju vezani za trigliceride, pa su teže hlapljivi i ostaju u ulju nakon dezodorizacije. Nehlapljivi karbonilni spojevi negativno utječu na senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost ulja. Ovi sekundarni produkti oksidacije ukazuju na „oksidacijsku prošlost“ ulja, i što je veći njihov udio znači da je ulje bilo izloženo većoj oksidaciji. Anisidinski broj prikazuje sadržaj sekundarnih produkata oksidacije, a temelji se na reakciji viših nezasićenih aldehida s p-anisidinom u kiselom mediju (Rade i sur., 2001.; Dimić i Turkulov, 2000.). Određivanje anisidinskog broja se često koristi za ispitivanje kvalitete sirovih i jestivih ulja, jer omogućuje potpuniju procjenu kvalitete (Crapiste i sur., 1999.; List i sur., 1974.). Ulje dobre kvalitete bi trebalo imati anisidinski broj manji od 10 (Dimić i Turkulov, 2000.).

Iz vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja izračunava se oksidacijska vrijednost (OV) ili Totox broj.

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

OV daje dobar pregled količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja.

2.5.3. Fizikalne metode

Apsorpcija u UV dijelu spektra

Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u ultraljubičastom području. Hidroperoksidi linolne kiseline i konjugirani dieni, kao primarni

produkti oksidacije pokazuju apsorpcijski maksimum na 232 nm. Sekundarni produkti oksidacije (aldehidi, ketoni) kao i konjugirani trieni, pokazuju apsorpcijski max na 270 nm.

Odnos ove dvije vrijednosti apsorbancije, izražen kao R-vrijednost je dobar izvor podataka za procjenjivanje oksidacijske kvalitete ulja.

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

A_{232 nm} - apsorbancija na 232 nm

A_{270 nm} - apsorbancija na 270 nm

Ulje je lošije kvalitete što je R - vrijednost niža, jer sadrži više konjugiranih triena i sekundarnih produkata oksidacije. Procjenjivanje stupnja oksidacije na osnovu R-vrijednosti moguće je samo kod sirovih ulja jer kod rafiniranih ulja tijekom procesa dekoloracije djelovanjem aktivne zemlje nastaju konjugirani trieni koji nisu rezultat oksidacijskih promjena (Dimić i Turkulov, 2000.).

Plinska kromatografija

Plinska kromatografija se sve više koristi za određivanje oksidacijskih promjena na nezasićenim masnim kiselinama. Ona se može uspješno koristiti za praćenje oksidacije čistih ulja i masti, dok u kompleksnim lipidnim sustavima (hrana) identifikacija je otežana. Plinska kromatografija se koristi za određivanje hlapljivih spojeva (najčešće aldehida) koji nastaju oksidacijskom razgradnjom ulja i masti (Rade i sur., 2001.).

Indeks refrakcije

Oksidacijske promjene ulja se mogu pratiti i promjenom indeksa refrakcije jer konjugirani dieni hidroperoksida i polimeri povećavaju indeks refrakcije (Rade i sur., 2001.).

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ILI ODRŽIVOST ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja i masti je vrijeme kroz koje se oni mogu sačuvati od autooksidacije, a što je izuzetno važno za skladištenje ovih proizvoda.

Kako bi unaprijed utvrdili vremenski period u kojem neće doći do značajnih promjena kvalitete ulja važno je znati kolika je održivost nekog ulja.

Metode koje se upotrebljavaju za određivanje održivosti ulja zasnivaju se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem temperature i zraka. Starije metode se baziraju na termostatiranju ulja na određenim temperaturama i određivanje peroksidnog broja. Kao

održivost ulja uzima se vrijeme (u satima) potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja. Metode za određivanje održivosti ulja i masti prikazane su u Tablici 9.

Tablica 9. Analitičke metode za određivanje održivosti ulja i masti (Dimić i Turkulov, 2000.)

Analitička metoda	Ispitivani parametar
Oven test	Peroksidi, promjene senzorskih svojstava (okus i miris)
AOM test (Active Oxygen Method) ili Swift test	Peroksidi
Rancimat test	Niže molekularne kiseline, provodljivost
Metoda apsorpcije kisika	Apsorbirani kisik
Test na bazi fluorescentnog svjetla	Peroksidi, senzorske promjene

Najveću primjenu u praksi imaju slijedeće metode: Oven test, Swift test i Rancimat test.

2.6.1. Oven test

Oven test (Schaal Oven metoda) je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za ispitivanje održivosti ulja. Uzorci ulja se zagrijevaju u termostatu (ili u sušioniku) na temperaturi 60 ili 63 °C. Pri tome se prati porast peroksidnog broja ili senzorske promjene u određenim vremenskim razmacima.

Rezultati Oven testa se prikazuju kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena držanja uzorka (u danima) pri temperaturi od 63 °C (jestiva ulja se obično drže 4 dana pri toj temperaturi)
- broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena, vrijednost peroksidnog broja
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užglosti pomoću senzorskog ispitivanja.

Utvrđeno je da jedan dan Oven testa odgovara stvarnoj održivosti ulja od 6 do 12 dana pri sobnoj temperaturi (oko 20 °C) (Dimić i Turkulov, 2000.).

2.6.2. AOM test

Kod Swift testa ili AOM (*Active Oxygen Method*) testa uzorci ulja se zagrijevaju na 98 °C i kroz njih prolazi struja zraka u Swift aparatu. U određenim vremenskim razmacima uzimaju se uzorci ulja i određuje se peroksidni broj. Najčešće se održivost ulja određuje do peroksidnog broja 5 mmol O₂/kg. Vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O₂/kg je granica pri kojoj je ulje još ispravno. Kvalitetna ulja dobre održivosti poslije 8 sati AOM metode moraju imati peroksidni broj manji od 5 mmol O₂/kg. U nedostatku Swift aparature primjenjuje se

metoda: Test održivosti pri 98 °C koja pokazuje dobru korelaciju sa Swift testom. Ulje se zagrijeva u sušioniku pri 98 °C i određuje se peroksidni broj.

2.6.3. Rancimat test

Danas se za određivanje održivosti ulja najčešće koriste instrumentalne metode za provedbu testa ubrzane oksidacije ulja kod točno definiranih uvjeta. Tako se ubrzana oksidacija ulja provodi Rancimat testom (ISO metoda) i OSI indeksom (AOCS metoda). Kod Rancimat testa održivost ili oksidacijska stabilnost ulja se određuje primjenom Rancimat uređaja u kojem dolazi do ubrzane oksidacije ulja pri povišenoj konstantnoj temperaturi (100,110,120 °C) uz konstantan dovod zraka. Umjesto određivanja peroksidnog broja, hlapljivi spojevi koji nastaju oksidacijom ulja pri povišenoj temperaturi, a to su uglavnom kratkolančane hlapljive organske kiseline, uvode se u deioniziranu vodu. Uvođenjem ovih kiselina, iz posude sa uzorkom u deioniziranu vodu i mjerenjem porasta vodljivosti, indirektno se može pratiti tijek oksidacije ulja. Vrijeme indukcije (indukcijski period) IP, određen na ovaj način, označava se kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001.). Indukcijski period (vrijeme indukcije) je početna faza autooksidacije ulja u kojoj je količina produkata oksidacije tako mala da ne djeluje na organoleptička svojstva, ni na prehrambenu vrijednost ulja.

U ovom testu, na kraju indukcijskog perioda, nastaju znatne količine hlapljivih kiselina (mravlja, octena, propionska) koje se uvode u deioniziranu vodu, a njihova prisutnost se određuje konduktometrijski sa automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena. Indukcijski period pokazuje otpornost ulja prema oksidaciji. Što je vrijeme indukcije dulje to znači da ulje ima bolju održivost ili oksidacijsku stabilnost. Indeks održivosti ulja pomoću Rancimat uređaja je u dobroj korelaciji sa AOM testom (Laubli i Bruttel, 1986.).

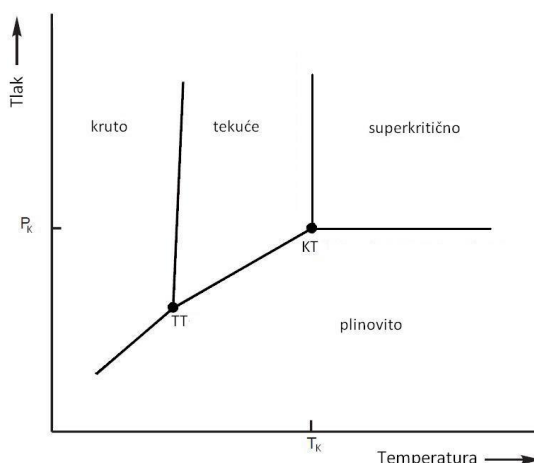
Ova metoda je standardizirana pod oznakom ISO 6886 – eng. *Determination of oxidative stability* (Matthaus, 1996.). Rancimat metodu ili Rancimat test su razvili Hadorn i Zurcher 1974. godine i od tada ima veliku primjenu kao brza metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja.

2.7. EKSTRAKCIJA SUPERKRITIČNIM FLUIDIMA

Ekstrakcija je jedan od temeljnih separacijskih procesa u pojedinim granama prehrambene industrije, a definira se kao proces izdvajanja neke tvari iz čvrste ili tekuće smjese prikladnim otapalom u kojem je ta tvar topljiva ili ima bolju topljivost od preostalih sastojaka smjese. Princip ekstrakcije sadržan je u pojavi molekulske difuzije, koju karakterizira izjednačavanje koncentracija otopljenih tvari u sustavima koji dođu u međusobni dodir.

U novije vrijeme koristi se ekstrakcija superkričnim fluidima koja, za razliku od hladnog prešanja te klasičnog postupka ekstrakcije, iziskuje veća investicijska ulaganja u kapitalnu opremu i tehnički zahtjevniji inženjerski pristup uzimajući u obzir da se radi o relativno visokim tlakovima pri kojima se provodi sam proces (Aladić, 2015.). Prednost u odnosu na tradicionalna (organska) otapala, od kojih su poneka toksična, upravo je u netoksičnosti fluida, odnosno plinova koji se upotrebljavaju za ekstrakciju. Ovakva vrsta ekstrakcije primjenjiva je kako na krutinama tako i na tekućinama. Primjere specifičnih postrojenja za ekstrakciju nalazimo u industriji ulja i šećera (Sovova, 1994.).

Ekstrakcija superkričnim fluidima (engl. *Supercritical fluid extraction* – SFE) ili, prema navodima nekih autora, superkrična ekstrakcija, je operacija prijenosa tvari bazirana na činjenici da pojedini plinovi postaju izuzetno dobra otapala za određene vrste kemijskih spojeva u blizini svoje kritične točke, ili u superkričnom području (Jokić, 2011.). U tom postupku mobilna faza je podvrgnuta tlaku i temperaturi blizu ili iznad kritične točke sve u svrhu poboljšanja snage otapanja mobilne faze (Sairam i sur., 2012). Superkrični fluid može biti svaka tvar koja se nalazi na temperaturi i tlaku iznad kritične točke (Slika 5). U superkričnom stanju postoji samo jedna faza u kojem fluid nije niti plin, niti tekućina. Ova faza ima moć otapanja poput tekućina i snagu prijenosa uobičajenu za plinove (Askin i Otles, 2005.). Zanimljivo je da tvar nikada neće prijeći u superkrično stanje, neovisno o stalnom povećanju tlaka, ukoliko se nalazi na temperaturi nižoj od kritične temperature.



Slika 5. Fazni dijagram (tlak-temperatura) (Mukhopadhyay, 2000.)

Superkrični fluid je bilo koja tvar koja se nalazi, pri uvjetima tlaka i temperature, iznad svoje kritične temperature (T_K) i kritičnog tlaka (P_K). Kritična temperatura i kritični tlak odnosno kritična gustoća definiraju kritičnu točku neke čiste tvari koja predstavlja krajnju točku razdvajanja plinske i tekuće faze. Iznad kritične točke ne mogu zasebno postojati ni tekuća ni plinovita faza, zbog čega superkrični fluidi imaju svojstva i plinova i tekućina (Mukhopadhyay, 2000.; Brunner, 2005.). Superkrični fluidi pogodni su kao zamjena za

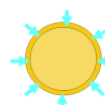
organska otapala, u rasponu od industrijskih do laboratorijskih procesa (Martinez i sur., 2008.). Superkritični fluidi imaju karakteristike i plinova i tekućina.

Ekstrakcija superkritičnim fluidima ima puno više prednosti u odnosu na postupak ekstrakcije s organskim otapalima (Jokić, 2011.):

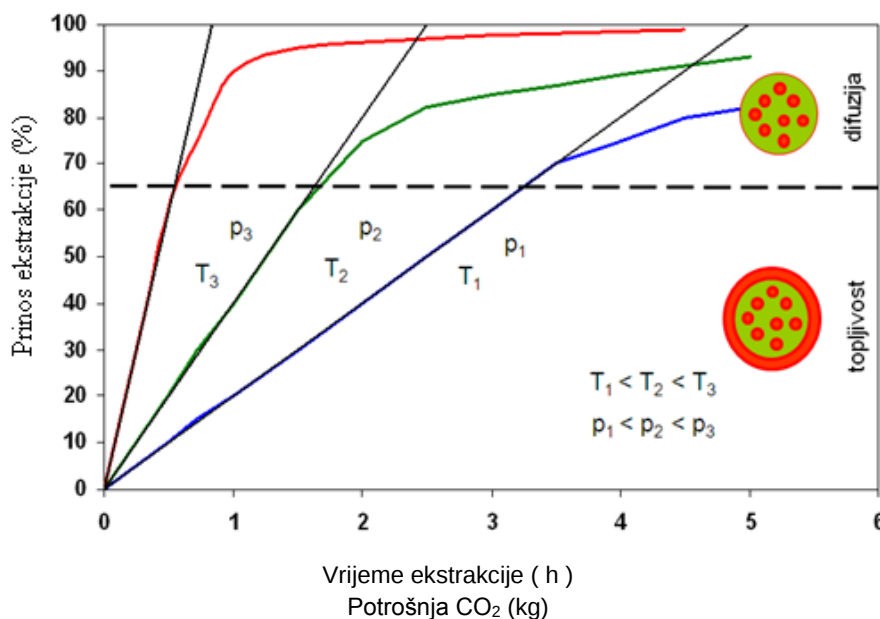
- Superkritični fluidi imaju sposobnost otapanja kao i organska otapala, ali s boljom difuzijom, nižom viskoznosti i manjom površinskom napetosti fluida
- Razdvajanje ekstrakta od otapala je lako i brzo zbog mogućnosti reguliranja topljivosti komponenata promjenom tlaka ili temperature.
- Dodavanjem kootapala (metanola, etanola, vode i drugih polarnih otapala) u CO₂, moguće je poboljšati topljivost polarnih supstanci čime se postiže veća selektivnost prilikom separacije.
- Otapala korištena u superkritičnoj ekstrakciji su jeftina i sigurna za okoliš. Troškovi odlaganja nisu visoki, a u industrijskim procesima moguće je i recikliranje otapala.
- Ekstrahiranje termolabilnih komponenata s minimalnim deformacijama.
- Ekstrahiranje komponenata visokih temperatura ključanja na relativno niskim temperaturama.
- Zeleni proces.
- Ekstrakcija superkritičnim fluidima se može primijeniti na sustave različitog kapaciteta od analitičkih (manje od grama do nekoliko grama uzorka), preparativnih (nekoliko stotina grama uzorka), poluindustrijskih postrojenja (kilogram uzorka) do velikih industrijskih postrojenja (tone sirovine; npr. postrojenje za dekofeinizaciju kave i čaja) (Jokić, 2011.).

Proces ekstrakcije superkritičnim fluidima odvija se u pet uzastopnih faza (Jokić, 2011.):

1. difuzija superkritičnog fluida do površine čestice kroz film fluida koji je okružuje;
2. prodiranje i difuzija superkritičnog fluida kroz vanjski sloj sfernog omotača, krutog, inertnog materijala;
3. kontakt superkritičnog fluida s otopljenom tvari na površini neizreagirane jezgre i ekstrakcija otopljene tvari;
4. difuzija otopljene tvari (ulja) u superkritičnom fluidu kroz sloj vanjskog sfernog omotača krutog inertnog materijala na vanjsku površinu čestice;
5. difuzija otopljene tvari (ulja) u superkritičnom fluidu kroz film superkritičnog fluida koji okružuje česticu u glavnu struju fluida.



Najbolji prikaz procesa ekstrakcije je preko ekstrakcijskih krivulja iz kojih je vrlo lako iščitati podatke o masi dobivenog ekstrakta u odnosu na vrijeme ekstrakcije, masi utrošenog CO_2 odnosno podatak o specifičnoj potrošnji ($\text{kg CO}_2/\text{kg materijala}$) (Slika 6).



Slika 6. Prikaz krivulja ekstrakcije (Jokić, 2011.)

Neki plinovi koje se mogu kondenzirati, poput ugljičnog dioksida (CO_2), etana i propana smatraju se otapalima niske kritične temperature, dok se dugolančani alkani, metanol i voda mogu smatrati otapalima visoko kritične temperature.

Najznačajniji čimbenici koji imaju izravan utjecaj na sam tijek ekstrakcije su:

- tlak, temperatura, vrijeme ekstrakcije te protok otapala;
- gustoća, viskoznost i difuzivnost otapala i supstance koja se ekstrahira;
- interakcije između molekula otapala, topljive supstance i netopljivog dijela krutog materijala (matriksa) u kome se nalazi topljiva supstanca, koje utječu na faznu ravnotežu i koeficijente difuzije;
- dodatak različitih kootapala;
- oblik, veličina i raspodjela veličina čestica materijala u sloju, poroznost čestica
- poroznost sloja (Jokić, 2011.).

2.7.1. Superkritični ugljični dioksid

Veliki je broj komponenti koje se mogu koristiti kao fluidi u superkritičnoj ekstrakciji, ali do sada je najkorišteniji ugljični dioksid (CO_2). Tehnička održivost (kritična svojstva), toksičnost, troškovi i sposobnost topljivosti određuju koje otapalo je najbolje za određenu primjenu

(Pereira i sur., 2010.). Superkritični CO₂ kao novo zeleno otapalo razmatra se intenzivno posljednjih godina, te se pokazao kao vrlo poželjno otapalo u separacijskim procesima budući da je neotrovan, nezapaljiv, bez okusa i mirisa, jeftin i lako dostupan u većim količinama, kao i zbog toga što je ekološki prihvatljivo i GRAS (generalno prihvaćen kao sigurno) otapalo. Nadalje, s tehničkog gledišta posjeduje dobre osobine postizanja superkritičnog stanja ($T_k = 31,06\text{ °C}$, $P_k = 7,38\text{ MPa}$) (Herrero i sur., 2010.; Damjanović i sur., 2005.). Ekstrakcija superkritičnim CO₂ spada u "čiste tehnologije" jer nema sekundarnih proizvoda štetnih za okolinu i kao takva nalazi značajno mjesto u prehrambenoj industriji. Prepoznat je kao siguran od strane FDA (engl. *Food and Drug Administration*) i EFSA (engl. *European Food Safety Authority*).

Korištenje superkritičnog CO₂ visoke čistoće nije obvezujuće, ali i najmanju nečistoću i vlagu u industrijskom mjerilu CO₂ može akumulirati te može doći do interferencije u daljnjim analitičkim operacijama poput plinske i tekućinske kromatografije.

Snaga otapanja superkritičnog CO₂ može se sažeti u nekoliko pravila (Jokić, 2011.; Brunner, 2005.):

- otapa nepolarne ili blago polarne spojeve (alkani, alkeni, terpeni);
- snaga otapanja za spojeve male molekularne mase je visoka i smanjuje se sa povećanjem molekularne mase;
- kisikovi organski spojevi s niskom ili srednjom molekularnom masom (ketoni, esteri, alkoholi) su vrlo topljivi;
- proteini, polisaharidi, šećeri i mineralne soli, voćne kiseline i glikozidi su netopljivi;
- superkritični CO₂ ima sposobnost odvajanja spojeva koji su manje isparljivi, imaju veću molekularnu masu i/ili su više polarni, s porastom tlaka;
- pigmenti su slabo topljivi;
- voda ima slabu topljivost (<0,5% m/m) na temperaturama ispod 100 °C.

CO₂ je pogodno otapalo za ekstrakciju lipofilnih nepolarnih sastojaka. Kao takav, on ima nizak afinitet prema polarnim spojevima. To je jedan od glavnih nedostataka ekstrakcije superkritičnim CO₂. Niski polaritet superkritičnog CO₂ može se prevladati upotrebom polarnih modifikatora (kootapala, uglavnom etanola i metanola) za promjenu polariteta superkritičnog fluida s ciljem povećanja snage otapanja prema komponenti od interesa.

Klasifikacija ulja dobivena pomoću ekstrakcije superkritičnim CO₂ mogu se podijeliti u sljedeće kategorije:

- Specijalna ulja, kao što su ulja orašastog voća (badema, lješnjaka, kikirikija, oraha, pistacija);
- Ulja iz koštica i sjemenki (marelice, višnje, lana, grožđa, bundeve, sezam i dr.);
- Ulja iz klica žitarica (amarant, zob, rižine posije i pšenične klice);
- Ulja iz sjemenki voća i povrća (mrkve, komine masline, rajčice i dr.) (Temelli, 2009.).

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog specijalističkog rada bio je:

- 1) Ispitivanje utjecaja procesnih parametara prešanja bučinih koštica (golica) na efikasnost proizvodnje hladno prešanog bučinog ulja;
- 2) Određivanje osnovnih parametara kvalitete proizvedenog hladno prešanog bučinog ulja: Pbr, SMK, udio vlage i udio netopljivih nečistoća;
- 3) Određivanje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog bučinog ulja Schaal Oven testom, te utjecaj dodatka mješavine dva prirodna antioksidansa i sinergista na promjenu održivosti ulja;
- 4) Provođenje ekstrakcije zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog CO₂ na novo dizajniranom i izrađenom uređaju za ekstrakciju superkritičnim fluidima.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Golica

Sirovina korištena u ovom radu za proizvodnju hladno prešanog bučinog ulja je golica, austrijska sorta Gleisdorf, uzgojena na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu (OPG) Davora Špoljara, Terezino Polje 116a, iz mjesta Lukač u Virovitičko-podravskoj županiji, Hrvatska.

3.2.1.2. Reagensi

- 0,1 M vodena otopina natrij hidroksida
- neutralizirana smjesa etiletera i 96%-tnog etanola (1:1)
- fenolftalein
- petroleter
- smjesa ledene octene kiseline i kloroforma (3:2)
- hladno zasićena otopina kalij jodida (KI)
- 0,01 M otopina natrij tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)
- 1%-tna otopina škroba
- natrijev sulfat (Na_2SO_4)
- kvarcni pijesak
- *n*-heksan
- CO_2

3.2.1.3. Uređaji

- pužna preša (SPU 20, ElektroMotor Šimon d.o.o. Senta, Srbija)
- analitička vaga (Denver Instruments, Njemačka)
- tehnička vaga (Kern, Njemačka)
- Soxhlet (INKO, Poljska)
- mlin (Janke & Kunkel, IKA labortechnik, Njemačka)
- termostat – Binder (FED 53, Njemačka)
- termostat Advantage – lab
- uređaj za ekstrakciju superkritičnim CO_2 (PTF Osijek)

3.2.1.4. Antioksidansi

a) Ekstrakt ružmarina (tip StabilEnhance OSR)

Ekstrakt ružmarina dobiven je od listova ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.). Proizvođač je Naturex, Francuska. Sastojci: destilirani monoglicerid (E471), propilen glikol (E1520), prirodni ekstrakt. Specifikacija navedenog ekstrakta ružmarina prikazana je u Tablici 10.

Tablica 10. Specifikacija ekstrakta ružmarina StabilEnhance OSR

Specifikacija	
Izgled	tekućina
Boja	tamno zlatna
Miris	veoma slab
Topljivost	topljiv u ulju
Analitički parametri kvalitete	
Udio karnosolne kiseline	> 5 %
Udio vode	< 0,5 %
Sadržaj ostatka otapala	< 25 ppm

b) Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja proizveden iz lišća biljke *Camellia sinensis* L. Specifikacija ekstrakta zelenog čaja prikazana je u Tablici 11.

Tablica 11. Specifikacija ekstrakta zelenog čaja

Specifikacija	
Izgled	prah
Boja	žuto smeđa
Miris	trpak, karakterističan
Analitički parametri kvalitete	
Udio vode, %	maximalno 8%
Specifična težina (20°C/20°C)	< 0,3 g/mL
Udio epigalokatehin gelata (EGCG)	> 20%
Udio ukupnih polifenola	> 98%
Udio kofeina	< 0,5%
Udio katehina	> 30%

3.2.1.5. Sinergisti

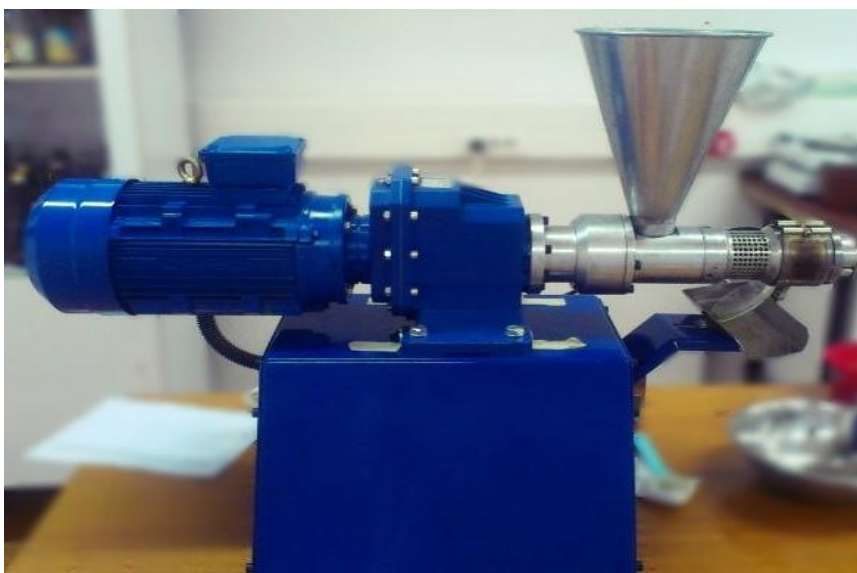
Kao sinergist upotrebljena je askorbinska kiselina ($C_6H_8O_6$) tj. vitamin C; proizvođača Kemig d.o.o. i limuska kiselina ($C_6H_8O_7$) monohidrat.

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Hladno prešanje

Iz koštica buče laboratorijskim postupkom hladnog prešanja, na pužnoj preši (Slika 7), proizvedeno je sirovo ulje. Prilikom prešanja korišteni su različiti procesni parametri: veličina otvora glave preše, temperatura zagrijavanja glave preše i frekvencija elektromotora. Korištenjem ovih parametara provedeno je prešanje s masom polazne sirovine od 1 kg, te je ispitivan utjecaj procesnih parametara prešanja na iskorištenje ulja.

Pužna preša sadržava lijevak u koji se dodaju koštice buče, komoru za prešanje koja se sastoji od glave preše, otvora za pogaču, puža preše, prijenosnih mehanizama, te elektromotora za pokretanje preše. Princip prešanja je zapravo snažna pužnica koja gura koštice iz većeg zatvorenog prostora u manji, što dovodi do porasta tlaka te cijedenja ulja. Ulje je skupljano u odgovarajuću staklenu posudu, a dobivenim pogačama je izmjerena masa, te su potom sušene na zraku i skladištene u hladnjaku. Sirovo ulje taloženo je 7 dana u tamnom prostoru, a potom je provedena vakuum filtracija kako bi se što više uklonile netopljive nečistoće zaostale iz bučine koštice. Na taj način dobiveno je hladno prešano bučino ulje, izmjeren je konačni volumen ulja sjedinjenog iz svih pokusa, te se moglo početi s daljnim analizama.



Slika 7. Pužna preša (SPU 20)

3.2.2.2. Određivanje udjela ulja u koštici i pogači

Udio ulja u bučinoj koštici i pogači zaostaloj nakon prešanja određen je standardnom metodom ekstrakcijom ulja po Soxhletu. Otapalo korišteno u ovom postupku je petrol-eter.

Ekstrakcija uzorka provodila se u odgovarajućoj aparaturi (Soxhletu), koja se sastoji od tikvice, ekstraktora i hladila. Na osušenu i izvaganu tikvicu stavljen je ekstraktor sa tuljkom u kojem je uzorak. Dodano je otapalo, pričvršćeno hladilo i provedena ekstrakcija do iscrpljenja uzorka. Otapalo je na kraju predestilirano, a zaostalo ulje u tikvici se suši i važe. Udio ulja računat je prema formuli:

$$\text{Udio ulja \%} = (a-b) * 100 / c$$

a – masa tikvice sa uljem (g)

b – masa prazne tikvice (g)

c – masa uzorka koji se ispituje (g)

Količina ulja dobivenog prešanjem računata je prema formuli (Dimić, 2005.):

$$U = U_o - U_p * (a / b) (\%)$$

U – količina prešanog ulja (%)

U_o – udio ulja u sirovini (%)

U_p – udio ulja u pogači (%)

a – suha tvar u sirovini (%)

b – suha tvar u pogači (%)

Stupanj djelovanja prešanja računat je prema formuli:

$$P = (U / U_o) * 100 (\%)$$

U – količina prešanog ulja (%)

U_o – udio ulja u sirovini (%)

3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje temperature i volumena ulja

Hladno prešanje provedeno je u više uzastopnih ponavljanja pri različitim procesnim parametrima, te je dobiveno sirovo ulje, kome je očitana temperatura i volumen.

Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

SMK u ovom istraživanju određivane su primjenom standardne metode prema normi ISO 660:1996 pod nazivom Određivanje kiselinskog broja i kiselosti.

Princip određivanja je provođenje titracije ulja, otopljenog u otapalu, sa otopinom natrijevog hidroksida $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$.

Udio SMK je izražen kao % oleinske kiseline, a izračunava se prema formuli:

$$\text{SMK} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

V - utrošak vodene otopine NaOH za titraciju uzorka (mL)

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

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

m - masa uzorka za ispitivanje (g)

Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Određivan je standardnom metodom ISO 3960 (2007.). Uzorak ulja otopljen je u otopini ledene octene kiseline i kloroforma, te mu je dodan otopina kalij jodid (KI). Uzorak je mućkan rukom točno 1 minutu i zatim razrijeđen prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom, nakon čega mu je dodan škrob kao indikator. Djelovanjem peroksida oslobađa se jod iz otopine KI, koji je zatim određivan titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) uz škrob kao indikator. Rezultat je izražen kao broj mmol aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1 kg ulja ($\text{mmol O}_2/\text{kg}$).

Pbr se izračunava prema formuli:

$$\text{Pbr} = \frac{(V_1 - V_0) \times 5}{m}$$

V_1 – volumen otopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol/L}$ utrošenog za titraciju uzorka ulja (mL)

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

m – masa uzorka ulja (g)

Određivanje udjela vlage

Količina vlage je određena u bučinoj koštici i u proizvedenom hladno prešanom ulju. Metoda je jednaka ISO 662 (1992), temelji se na isparavanju vode i hlapljivih tvari zagrijavanjem u

sušioniku. Za ispitivanje je izvagano 5 g uzorka u prethodno osušenu, u eksikatoru ohlađenu i izvaganu staklenu posudicu sa poklopcem. Posudica sa uzorkom stavljena je u sušionik na sušenje 2 h pri 103°C, te je ohlađena u eksikatoru na sobnu temperaturu i izvagana. Postupak sušenja, hlađenja i vaganja ponavljan je sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,002 g. Udio vlage izračunava se prema formuli:

$$\text{Udio vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 – masa prazne posudice (g)

m_1 – masa posudice i uzorka prije sušenja (g)

m_2 – masa posudice i uzorka nakon sušenja (g)

Određivanje netopljivih nečistoća u ulju

Za određivanje netopljivih nečistoća korištena je standardna metoda ISO 663 (1992). Stakleni lijevak sa sinteriranim dnom za filtriranje osušen je u sušioniku pri 103°C u trajanju od 30 minuta, a potom je ohlađen u eksikatoru te izvagan. Nakon toga je u Erlenmayer tikvicu sa brušenim grlom i čepom izvagano 20 g uzorka ulja te dodano 100 mL otapala (*n*-heksan). Sve je dobro promućkano te ostavljeno da stoji 20-30 minuta pri temperaturi 20°C. Potom je sastavljena aparatura za vakuum filtraciju te je uzorak filtriran, tako da je sadržaj Erlenmayer tikvice više puta ispiran manjom količinom otapala. Stakleni lijevak je potom osušen u sušioniku pri 103°C tijekom 1 sata te ohlađen u eksikatoru i izvagan. Udio netopljivih nečistoća izračunat je prema formuli:

$$\text{Udio netopljivih nečistoća} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

m_0 – masa uzorka (g),

m_1 – masa osušenog lijevka (g)

m_2 – masa lijevka s nečistoćama nakon sušenja (g)

Određivanje mase pogače i udjela ulja u pogači

Provođenjem hladnog prešanja koštica buče dobiveno je ulje kao primarni produkt prešanja, te pogača kao sekundarni produkt. Masa pogače određena je klasičnim postupkom mjerenja na laboratorijskoj vagi. Budući da je pogača sadržavala velik udio ulja, provedena je

ekstrakcija po *Soxhlet*-u u svrhu određivanja zaostalog ulja. Metoda je provedena jednako kao i pri određivanju ulja u košticama, a udio ulja je izračunat prema formuli:

$$\text{Udio ulja} = \frac{(a-b)}{c} \times 100$$

a – masa tikvice sa uzorkom (g)

b – masa prazne tikvice (g)

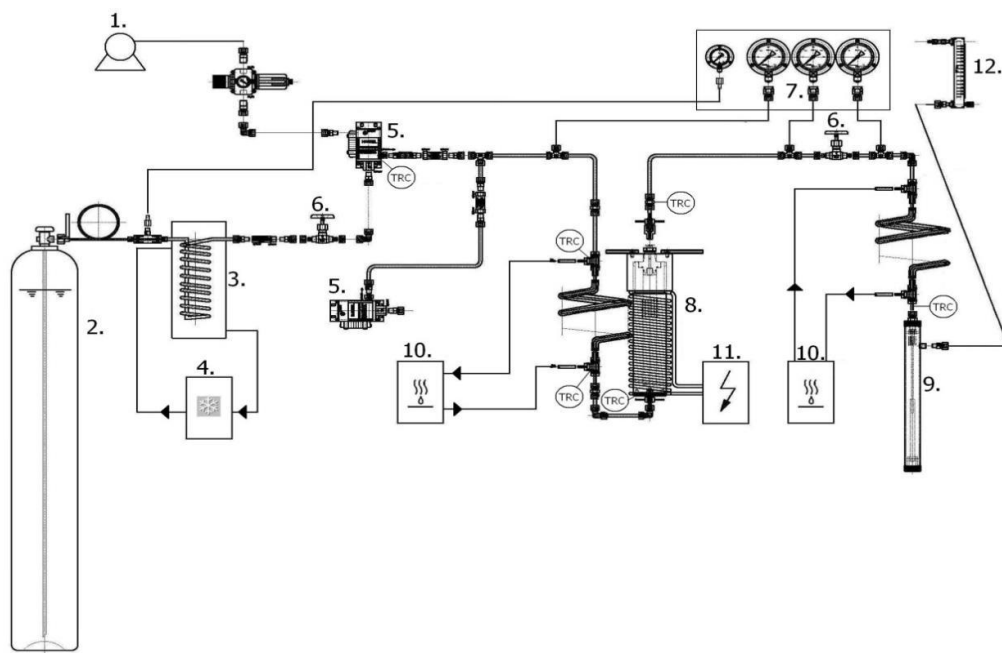
c – masa ispitivanog uzorka (g)

3.2.2.4. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Oven testom

Oven test (Schaal Oven test) proveden je na proizvedenom hladno prešanom bučinom ulju bez dodanih antioksidanasa i sa dodanim prirodnim antioksidansima u koncentracijama 0,1% i sinergistima u koncentracijama 0,01% i 0,02%. Uzorci su pripremljeni tako da su u čašice prvo izvagani antioksidansi, te je dodano 50 g ulja. Potom su uzorci zagrijavani uz miješanje 30 min na 70 – 80 °C. Nakon što su uzorci ohlađeni na sobnu temperaturu, stavljeni su u termostat Advantage-lab na temperaturu 63°C, otvoren na pola, uz praćenje porasta Pbr-a tijekom 4 dana, svakih 24 sata. Svakih 24 sata bučino ulje i mješavine bučinog ulja s antioksidansima i sinergistima su uzorkovane kako bi se odredio Pbr. Prije samog uzorkovanja važno je dobro homogenizirati uzorke staklenim štapićem. Nakon homogeniziranja uzeto je 3 do 5 grama ulja, a uzorci su ponovno vraćeni u termostat. Kada je temperatura ulja dostigla sobnu temperaturu određen je Pbr. Rezultati Schaal Oven testa prikazani su kao vrijednosti Pbr-a (mmol O₂/kg) tijekom četiri dana trajanja testa.

3.2.2.5. Ekstrakcija zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog CO₂

Na novo projektiranom i izrađenom uređaju za ekstrakciju superkritičnim fluidima (Slike 8 i 9) ekstrahirano je ulje iz pogače dobivene pri optimalnim uvjetima prešanja. 250 g pogače smješteno je u posudu ekstraktora kako bi se izdvojilo zaostalo ulje unutar pogače. Tijekom procesa ekstrakt je sakupljan u prethodno izvaganu staklenu posudu. Količina ekstrakta prikupljena u određenim vremenskim intervalima, određena je pomoću laboratorijske vage sa preciznošću od ±0,0001 g. Proces ekstrakcije se odvijao pri tlaku od 30 MPa, temperaturi 40 °C i protoku CO₂ od 1,73 kg/h. U separatoru se odvijao proces separacije ili razdvajanja CO₂ i ekstrakta pri tlaku od 1,5 MPa i temperaturi 25 °C.



Slika 8. Procesna shema uređaja za ekstrakciju superkritičnim CO₂

1. Kompresor; 2. Spremnik CO₂; 3. Izmjenjivač topline izrađen od nehrđajućeg čelika; 4. Rashladna kupelj; 5. Zrakom pogonjena pumpa Haskel MS-71; 6. Ventili (B-HV); 7. Manometri; 8. Ekstraktor; 9. Separator; 10. Vodena kupelj; 11. Centralizirani sustav grijača od staklenih vlakana; 12. Mjerač protoka.



Slika 9. Uređaj za superkritičnu ekstrakciju (PTF Osijek)

4. REZULTATI

Tablica 12. Udio ulja i vode u bučinoj koštici (%)

	%
Udio ulja u bučinoj koštici	41,82 %
Udio vode u bučinoj koštici	7,03 %

Tablica 13. Utjecaj veličine otvora glave preše kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. Sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Iskorištenje ulja tijekom prešanja (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 7 mm F = 28 Hz T = 90 °C	1	130	54	42	874,44	38,15	6,74	3,67	8,78
N = 10 mm F = 28 Hz T = 90 °C	1	130	52	44	852,54	35,99	6,62	5,83	13,94
N = 12 mm F = 28 Hz T = 90 °C	1	136	49	42	849,43	38,69	6,65	3,13	7,48

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm)

F – frekvencija elektromotora (Hz)

T – temperatura zagrijavanja glave preše (°C)

Tablica 14. Utjecaj zagrijavanja glave preše kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. Sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Iskorištenje ulja tijekom prešanja (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 7 mm F = 28 Hz T = 90 °C	1	130	54	42	874,44	38,15	6,74	3,67	8,78
N = 10 mm F = 28 Hz T = 100 °C	1	180	96	54	842,84	34,38	6,69	7,44	17,79
N = 7 mm F = 28 Hz T = 110 °C	1	165	88	50	839,62	35,87	6,79	5,95	14,23

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm)

F – frekvencija elektromotora (Hz)

T – temperatura zagrijavanja glave preše (°C)

Tablica 15. Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (7 dana taloženja i vakum filtracija) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	Iskorištenje ulja tijekom prešanja (%)	Stupanj djelovanja preše (%)
N = 7 mm F = 20 Hz T = 90 °C	1	168	90	37	838,55	35,85	6,83	5,97	14,28
N = 7 mm F = 28 Hz T = 90 °C	1	130	54	42	874,44	38,15	6,74	3,67	8,78
N = 7 mm F = 36 Hz T = 90 °C	1	102	33	39	913,63	38,91	6,59	2,91	6,96

N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm)

F – frekvencija elektromotora (Hz)

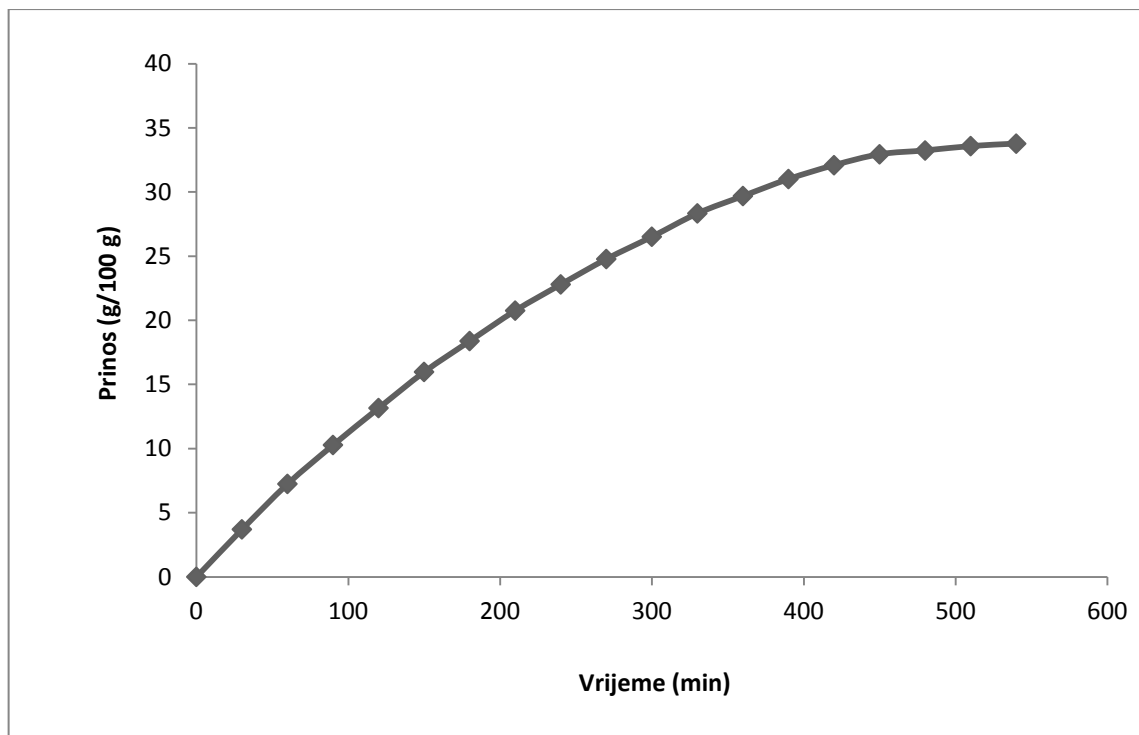
T – temperatura zagrijavanja glave preše (°C)

Tablica 16. Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog bučinog ulja (dobivenog miješanjem ulja iz svih pokusa prešanja)

Pbr (mmol O₂/kg)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
2,02	0,56	0,040	0,16

Tablica 17. Oksidacijska stabilnost hladno prešanog bučinog ulja, sa i bez dodanih antioksidanasa i sinergista, određena praćenjem Pbr-a tijekom četiri dana Oven testa

UZORAK	UDIO ANTIOKSIDANSA (%)	Pbr (mmol O_2 /kg)				
		0.dan	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan
hladno prešano bučino ulje (kontrolni uzorak)	0	2,02	2,87	3,38	4,06	4,31
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR)	0,1	2,02	2,56	2,87	3,21	3,87
+ Ekstrakt zelenog čaja	0,1					
Ekstrakt ružmarina + Ekstrakt zelenog čaja + Askorbinska kiselina	0,1	2,02	2,37	2,83	3,00	3,22
	0,1					
	0,01					
Ekstrakt ružmarina + Ekstrakt zelenog čaja + Limunska kiselina	0,1	2,02	2,56	2,74	3,27	3,59
	0,1					
	0,01					
Ekstrakt ružmarina + Ekstrakt zelenog čaja + Limunska kiselina	0,1	2,02	2,28	2,63	2,81	3,54
	0,1					
	0,02					



Slika 10. Ekstrakcija bučinog ulja iz pogače (udio ulja u pogači = 34,38 %) pomoću superkritičnog CO₂

5. RASPRAVA

5.1. UTJECAJ PROCESNIH PARAMETARA HLADNOG PREŠANJA BUČINE KOŠTICE (GOLICE) NA ISKORIŠTENJE ULJA

Prije provedbe postupka prešanja bučine koštice određen je udio ulja u koštici 41,82% i udio vode 7,03% (Tablica 12), koji utječu na iskorištenje ulja kod prešanja. Svi eksperimenti provedeni su sa količinom bučine koštice od 1 kg.

5.1.1. Utjecaj veličine otvora glave preše kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

Rezultati ispitivanja utjecaja veličine otvora glave preše (N) kod prešanja bučine koštice na iskorištenje proizvedenog sirovog i filtriranog hladno prešanog bučinog ulja prikazani su u Tablici 13.

Primjenom nastavka veličine otvora glave preše promjera 7 mm ($N = 7$ mm) kod konstantne frekvencije elektromotora, tj. brzine pužnice ($F = 28$ Hz) i temperature zagrijavanja glave preše ($T = 90$ °C) prešanjem bučine koštice dobiven je volumen sirovog ulja 130 mL temperature 42 °C što zadovoljava Pravilnik NN 41/12.

Nakon 7 dana sedimentacije (taloženja) sirovog bučinog ulja i vakuum filtracije dobiven je finalni proizvod hladno prešano bučino ulje u količini 54 mL. Analizom količine zaostalog ulja u pogači (nusprodukt prešanja) dobivena je vrijednost udjela ulja u pogači od 38,15 % što ukazuje na nizak stupanj djelovanja preše.

Korištenjem nastavka za izlaz pogače $N = 10$ mm, kod konstantnih parametara $F = 28$ Hz i $T = 90$ °C, prešanjem bučine koštice proizvedeno je sirovo ulje u količini 130 mL temperature 44 °C. Nakon 7 dana taloženja i vakuum filtracije dobiveno je 52 mL hladno prešanog bučinog ulja. Udio zaostalog ulja u pogači bilo je 35,99 %.

Daljnim porastom veličine otvora za izlaz pogače na $N = 12$ mm tijekom hladnog prešanja dobiveno je 136 mL sirovog ulja temperature 42 °C, a nakon taloženja i vakuum filtracije 49 mL finalnog hladno prešanog bučinog ulja.

Iz ovog ispitivanja zaključujemo da veličina otvora glave preše utječe na iskorištenje ulja kod proizvodnje hladno prešanog bučinog ulja uz konstantnu frekvenciju elektromotora (brzina pužnice) 28 Hz i temperaturu glave preše za izlaz pogače od 90 °C.

Što je veličina otvora na glavi preše manja to je radni tlak veći, tj. primjenom manjeg promjera parametra N, dobivena je manja masa pogače, te manje zaostalog ulja u pogači (Rac, 1964.; Moslavac i sur., 2014.).

5.1.2. Utjecaj temperature zagrijavanja glave preše kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

Kod ovog istraživanja tijekom prešanja bučine koštice (golice) ispitivan je utjecaj temperature zagrijavanja glave preše (90°C, 100°C, 110°C), kod konstantne frekvencije elektromotora (brzina pužnice) $F = 28$ Hz i nastavka za izlaz pogače $N = 7$ mm, na iskorištenje bučinog ulja (Tablica 14).

Zagrijavanjem glave preše na 90°C tijekom prešanja golice dobiveno je 130 mL sirovog ulja i 54 mL hladno prešanog bučinog ulja.

Porastom temperature glave preše na 100°C proizvedeno je 180 mL sirovog ulja temperature 54°C, a nakon 7 dana taloženja i vakuum filtracije radi uklanjanja krutih čestica iz ulja dobiveno je 96 mL finalnog hladno prešanog bučinog ulja. Analizom pogače utvrđen je manji udio zaostalog ulja 34,38 % te izračunom ostvaren veći stupanj djelovanja preše (17,79 %) u odnosu na temperature glave preše od 90°C.

Zagrijavanjem glave preše na 110°C tijekom prešanja golice smanjuje se količina proizvedenog sirovog ulja (165 mL) i finalnog hladno prešanog bučinog ulja (88 mL) u odnosu na primjenu temperature 100°C. Također je analizom pogače utvrđen veći udio zaostalog ulja 35,87 % i manji stupanj djelovanja preše.

Ovim ispitivanjem utvrđeno je da temperatura zagrijavanja glave preše utječe na iskorištenje bučinog ulja (Martinez i sur., 2013.). Veće iskorištenje ulja kod prešanja koštice golice dobiveno je zagrijavanjem glave preše na 100°C u odnosu na 90°C i 110°C.

5.1.3. Utjecaj frekvencije elektromotora (brzine pužnice) kod prešanja bučine koštice na iskorištenje ulja

U Tablici 15 prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja frekvencije elektromotora (20 Hz, 28 Hz, 36 Hz), kod konstantne temperature glave preše $T = 90^\circ\text{C}$ i nastavka za izlaza pogače $N = 7$ mm, na iskorištenje bučinog ulja.

Prešanjem bučine koštice golice kod frekvencije elektromotora $F = 20$ Hz proizvedeno je 168 mL sirovog ulja temperature 37°C , a nakon taloženja 7 dana i vakuum filtracije dobiveno je 90 mL finalnog hladno prešanog bučinog ulja. Analizom pogače utvrđeno je 35,85 % zaostalog ulja pri čemu se izračunom postiže stupanj djelovanja preše 14,28 %.

Povećanjem brzine pužnice na 28 Hz znatno se smanjuje volume proizvedenog sirovog ulja (130 mL) i finalnog hladno prešanog bučinog ulja (54 mL), povećava se udio zaostalog ulja u pogači (38,15 %) i smanjuje stupanj djelovanja preše (8,78 %).

Daljim porastom brzine pužnice na 36 Hz još se više smanjuje količina dobivenog sirovog ulja (102 mL) i finalnog ulja (33 mL) nakon taloženja i vakuum filtracije. Izračunom se utvrđuje i manji stupanj djelovanja preše (6,96 %).

Dakle, ovim ispitivanjem možemo zaključiti da se porastom frekvencije elektromotora smanjuje iskorištenje proizvedenog hladno prešanog bučinog ulja tj. pri manjoj vrijednosti parametra F (frekvencije elektromotora), dobiva se više ulja jer se stvaraju veći tlakovi, pa se više ulja iscijedi iz uljarice (Kartika i sur., 2012.)

Mali proizvođači ulja vrlo često se odlučuju za upotrebu pužne preše u proizvodnji bučinog ulja s obzirom da se dobiva proizvod visoke kvalitete bez korištenja kemijskih sredstava. Dobivanje ulja na ovaj način ima mnoge prednosti kao što su niska cijena opreme, niska potrošnja energije i ne zahtijevaju visokostručnu obuku radnika (Fils, 2000). Unatoč brojnim prednostima taj proces ima i nedostataka s gledišta niskog prinosa ulja jer određen dio ulja zaostaje u pogači (Moslavac i sur., 2014).

5.2. OKSIDACIJSKA STABILNOST (ODRŽIVOST) PROIZVEDENOG HLADNO PREŠANOG BUČINOGL ULJA SA I BEZ DODANOG ANTIOKSIDANSA I SINERGISTA

Na svježe proizvedenom hladno prešanom bučinom ulju provedena je analiza osnovnih parametara kvalitete (peroksidni broj, slobodne masne kiseline, voda i netopljive nečistoće) prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41 /12).

Rezultati ovih analiza (Tablica 16) pokazuju da je bučino ulje dobre kvalitete s obzirom da su vrijednosti ispitivanih parametara kvalitete ulja u skladu s Pravilnikom.

U Tablici 17 vidljivi su rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti (održivosti) proizvedenog hladno prešanog bučinog ulja sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista.

Test ubrzane oksidacije ovog ulja proveden je primjenom Schaal Oven testa (Oven test) kod temperature 63°C tijekom 4 dana, praćenjem peroksidnog broja (Pbr) svakih 24 sata.

Hladno prešano bučino ulje (kontrolni uzorak) ima peroksidni broj (Pbr) 2,02 (mmol O₂/kg), a tijekom četiri dana Oven testa postepeno se povećava vrijednost Pbr do 4,31 (mmol O₂/kg) nakon 4 dana testa. Ovako niska vrijednost Pbr nakon 4 dana testa ukazuje na dobru održivost tj. otpornost ovoga ulja prema oksidacijskom kvarenju što se pripisuje sastavu masnih kiselina (oleinska kiselina) i visokom udjelu γ – tokoferola (90 %) koji ima visoko antioksidacijsko djelovanje.

Dodatkom mješavine prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina tipa StabilEnhance OSR (0,1 %) i ekstrakta zelenog čaja (0,1 %) u bučino ulje postiže se još veća stabilnost ulja prema oksidacijskom kvarenju. Mješavina ovih antioksidanasa dodatno štiti ovo ulje od oksidacije što rezultira nižim Pbr nakon 4 dana testa (3,87 mmol O₂/kg).

U radu Pokorny i sur. (1997) su pokazali da acetonski ekstrakt ružmarina i kadulje produljuje održivost suncokretovog ulja, odnosno povećava oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja.

Frankel i sur. (1997) su dokazali da se antioksidacijska aktivnost ekstrakta zelenog čaja ponaša različito u različitim lipidnim sistemima. Petrik (2009) zapaža da je mehanizam djelovanja ekstrakta zelenog čaja učinkovit u zaustavljanju procesa oksidacije samo u slučaju malih koncentracija hidroperoksida.

Ispitivanjem utjecaja dodatka sinergista (limunska i askorbinska kiselina) udjela 0,01 % sa mješavinom ekstrakta ružmarina i zelenog čaja postignuta je još veća zaštita bučinog ulja od oksidacijskog kvarenja. Korištenjem limunske kiseline (0,01 %) uz mješavinu antioksidanasa nakon 4 dana testa dobivena je niža vrijednost Pbr (3,59 mmol O₂/kg), a dodatkom askorbinske kiseline (0,01 %) još niži Pbr (3,22 mmol O₂/kg). Dakle, zapaža se bolje sinergističko djelovanje askorbinske kiseline uz ovu mješavinu prirodnih antioksidanasa u odnosu na limunsku kiselinu.

Povećanjem udjela sinergista limunske kiseline sa 0,01 % na 0,02% uz mješavinu ekstrakta ružmarina i zelenog čaja neznatno je povećana stabilnost ovog ulja (Pbr je 3,54 mmol O₂/kg) u odnosu na primjenu 0,01 %.

5.3. EKSTRAKCIJA ZAOSTALOG ULJA IZ POGAČE POMOĆU SUPERKRITIČNOG CO₂

Za ekstrakciju zaostalog ulja iz pogače pomoću superkritičnog CO₂ uzet je jedan uzorak pogače (N = 7 mm, F = 28 Hz, T = 100°C) s udjelom ulja u pogači 34,38 % (Tablica 14).

Na Slici 11 prikazano je da je tijekom 9 h trajanja procesa ekstrakcije pomoću superkritičnog CO₂ (pri tlaku od 30 MPa i temperaturi 40°C te pri protoku CO₂ od 1,73 kg h⁻¹) ekstrahirana gotovo sva količina ulja iz pogače. Kada je promjena mase ekstrahiranog ulja izgubila statistički značaj, odnosno kada se postigla konstantna masa ulja, proces je prekinut i zabilježeno je vrijeme trajanja procesa.

Mnogi autori (Salgın i Salgın, 2006.; Martínez i sur., 2008.; Sovilj, 2010.) ističu ekstrakciju superkritičnim CO₂ kao jednu od najznačajnijih metoda koja može zamijeniti uobičajene industrijske procese, kao što su prešanje i ekstrakcija organskim otapalima, zbog mnogih prednosti kao što su odsustvo ostataka otapala i bolje zadržavanje mirisnih komponenti u ulju.

Najvažnija prednost korištenja superkritičnog CO₂ je njegova netoksičnost i ekološka prihvatljivost (Brunner, 2005.; Martinez i sur. 2008.; Sahena i sur., 2009.; Temelli, 2009.)

Iz krivulje ekstrakcije (Slika 10) vidimo da je proces ekstrakcije podijeljen u tri perioda: brzi period, prijelazni period i usporeni period ekstrakcije ulja. Prvi period je konstantni period ekstrakcije (razdoblje brze ekstrakcije) gdje je konvekcija dominantni mehanizam ekstrakcije. Količina ekstrahiranog ulja uvjetovana je topljivošću bučinog ulja u superkritičnom CO₂. Drugi period je prijelazni period ekstrakcije (pad brzine ekstrakcije) – kombinacija konvekcije i difuzije. Treći period ekstrakcije je period difuzije (razdoblje spore ekstrakcije) – difuzija je glavni mehanizam prijenosa tvari (Lovrić, 2003.).

Daljni tijek istraživanja uključivao bi istraživanje utjecaja procesnih parametara superkritične ekstrakcije (temperatura, tlak, protok CO₂) na iskorištenje ulja i vrijeme trajanja procesa ekstrakcije. Vrijeme ekstrakcije uvelike ovisi o tlaku pri kojem se provodi ekstrakcija i protoku otapala, dok temperatura nema statistički značajan utjecaj na trajanje procesa ekstrakcije. Što je veći tlak i veći protok otapala vrijeme ekstrakcije se smanjuje, tj. vrijeme ekstrakcije je obrnuto proporcionalno s tlakom i protokom otapala (Aladić, 2015.).

6. ZAKLJUČCI

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

1. Veličina otvora glave preše (7, 10, 12 mm) utječe na iskorištenje bučinog ulja tijekom hladnog prešanja koštice golice.
2. Primjenom veličine otvora glave preše za izlaz pogače promjera $N = 7$ mm, kod konstantne brzine pužnice i temperature glave preše, dobivena je veća količina hladno prešanog bučinog ulja.
3. Porastom veličine otvora glave preše na 10 mm i 12 mm postepeno se smanjuje količina proizvedenog hladno prešanog bučinog ulja.
4. Temperatura zagrijavanja glave preše (90°C , 100°C , 110°C) utječe na iskorištenje hladno prešanog bučinog ulja.
5. Zagrijavanjem glave preše na 100°C , kod konstantne brzine pužnice i nastavka za izlaz pogače, proizvedena je veća količina sirovog ulja i hladno prešanog bučinog ulja.
6. Frekvencija elektromotora (20 Hz, 28 Hz, 36 Hz), koja predstavlja brzinu pužnice, utječe na proizvodnju hladno prešanog bučinog ulja.
7. Prešanjem bučine koštice golice kod frekvencije elektromotora 20 Hz proizvedena je veća količina hladno prešanog ulja.
8. Povećanjem frekvencije elektromotora na 28 Hz i 36 Hz smanjuje se količina proizvedenog bučinog ulja i stupanj djelovanja preše, a povećava se udio zaostalog ulja u pogači.
9. Hladno prešano bučino ulje pokazuje dobru oksidacijsku stabilnost zbog visokog udjela oleinske kiseline i prirodnog antioksidansa γ - tokoferola.
10. Dodatkom mješavine prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) 0,1 % i ekstrakta zelenog čaja 0,1 % u hladno prešano bučino ulje povećava se razina zaštite ulja od oksidacije.
11. Korištenjem sinergista askorbinske kiseline (0,01 %) sa mješavinom ekstrakta ružmarina (0,1 %) i zelenog čaja (0,1 %) postiže se veća stabilizacija bučinog ulja prema oksidaciji u odnosu na primjenu limunske kiseline udjela 0,01 % i 0,02%.
12. Proces ekstrakcije bučinog ulja iz pogače pomoću superkritičnog CO_2 odvijao se u tri perioda. Na početku ekstrakcije postoji linearna ovisnost količine ekstrahiranog ulja o

vremenu ekstrakcije. Nakon početnog perioda konstantne brzine prijenosa ulja iz bučinih sjemenki u superkritični CO₂, dolazi do usporavanja brzine procesa ekstrakcije (prijelazni period ekstrakcije) te potom slijedi razdoblje spore ekstrakcije, gdje je glavni mehanizam prijenosa tvari difuzija.

13. Primjenom suvremene metode ekstrakcije superkritičnim CO₂ moguće je potpuno ekstrahirati zaostalo ulje iz pogače nakon procesa prešanja što je iznimno važno u industrijskoj proizvodnji ulja, jer se time postiže gotovo potpuno iskorištenje sirovine i ostvaruju se minimalni gubici u proizvodnom procesu.
14. Značenje predloženog istraživanja ogleda se u proizvodnji visokokvalitetnog hladno prešanog bučinog ulja, maksimalnom iskorištenju ulja iz nusproizvoda i u dobivanju odmašćene pogače koja se dalje može koristiti u druge svrhe, čime je proces proizvodnje hrane zaokružen i ne stvara se velika količina organskog otpada koji danas predstavlja ogromni ekološki i financijski teret u gotovo svim granama prehrambene industrije.

7.LITERATURA

- Ahn, J-H., Kim, Y-P., Seo, E-M., Choi, Y-K., Kim H-S.: Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. J. Food Eng., 84, 327-334, 2008.
- Aladić K: Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis sativa* L.) ulja superkritičnim CO₂ iz pogače nakon hladnog prešanja, Doktorska disertacija, Prehrambeno – tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
- Andreasen, M.F., Landbo, A. K., Christense, L. P., Hansen, A. and Meyer, A.S.: Antioxidant Effects of Phenolic Rye (*Secale cereale* L.) Extracts, Monomeric Hydroxycinnamates, and Ferulic Acid Dehydrodimers on Human Low-density Lipoproteins. J. Agric. Food Chem., 49, 4090-4096, 2001.
- AOAC: Official Methods of Analysis, seventeenth ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA, 2000.
- AOAC: Official Methods of Analysis, sixteenth ed. AOAC International, Gaithersburg, 1999.
- Askin, R., Ötles, A.: Supercritical fluids. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 4, 3-16. , 2005
- Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P. R. and Gruzdiene: Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. Food Res. Int., 33, 785-791, 2000.
- Barrera-Arellano, D., Esteves, W.: Oxidative of Potato Chips Determined by Rancimat. J. Am. Oil Chem. Soc., 69, 335-337, 1992.
- Bavec, F., Berenji, J., Bojić, F., Bulajić, A., Dimić, E., Kereši, T., Veselinov B., i Vujasinović, V., *Curcubita pepo*, Novi Sad, 2011.
- Berra, D., Lahiri, D., Nag, A.: Studies on a natural antioxidant for stabilisation of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. J. Food Eng., 74, 542-545, 2006.
- Bockisch, M.: Fats and oils handbook, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Botega, D. Z.; Bastida, S., Marmesat, L., Perez-Olleros, B., Ruiz-Roso, F., Sanchez-Muniz, J.: Carob Fruit Polyphenols Reduce Tocopherol Loss, Triacylglycerol Polymerization and Oxidation in Heated Sunflower Oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 86, 419-425, 2009.

- Brunner, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. J. Food Eng., 67, 21–33; 2005.
- Caggiula, A. W., Mustad, V. A.: Effect of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations. Epidemiologic studies, Am. J. Clin. Nutr., 65 (suppl), 1597S-1610S, 1997
- Carr R.A.: Oilseeds Processing, Technology and Solvents for Extracting Oilseeds and Nonpetroleum Oils, AOCS Press, Champaign, IL, 109-112. 1997.
- Crapiste, G.H., Brevedan, M.I.V. , Carelli, A.A.: Oxidation of Sunflower Oil During Storage. J. Am. Oil Chem. Soc., 76,1437-1443, 1999.
- Curaković, M., Lazić, V., Gvozdanović, J.: Osnovne karakteristike ambalažnih materijala za pakovanje ulja, Zbornik radova, Budva, 1996.
- Cuvelier, M-E., Richard, H., Berset, C.: Antioxidative Activity and Phenolic Composition of Pilot-Plant and Commercial Extracts of Sage and Rosemary. J. Am. Oil Chem. Soc., 73, 645-652, 1996.
- Damjanović, B; Lepojević, Ž., Živković, V., Tolić, A.: Extracting of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation. Food Chem., 92, 143-149. 2005.
- Dimić, E., Dimić, V., Romanić, R.: Essential fatty acids and nutritive value of edible nonrefined linseed oil, 9th Symposium: Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, Proceedings, pp. 480-483, Jena/Thuringen, 2003.
- Dimić, E., Radoičić, J., Lazić, V., Vukša, V.: Jestiva nerafinisana ulja suncokreta - Problemi i perspektive, Tematski zbornik, Novi Sad, 2002.
- Dimić, E., Turkulov, J.: Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Tehnološki fakultet Novi Sad, 2000.
- Dimić, E.: Hladno ceđena ulja, Tehnološki Fakultet, Novi sad, 88-91, 2005.
- Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E.: Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chem., 110, 76-82, 2008.

- Farhoosh, R.: The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 84, 205-209, 2007.
- Fils, JM. Poglavlje: The Production of Oils. U knjizi: *Edible Oil Processing*, Editori: Hamm W., Hamilton RJ., Sheffiela Academy Press, str. 47-78, 2000.
- Frankel, E. N., Huang, S-W., Aeschbach, R.: Antioxidant Activity of Green Teasin Different Lipid Systems. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 1309-1315, 1997.
- Frega, N., Mozzon, M. , Lercker, G.: Effects of Free Fatty Acids on Oxidative Stability of Vegetable Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 325-329, 1999.
- Frison-Norrie, S., Sporns, P.: Identification and Quantification of Flavonol Glycosides in Almond Seed Coats Using MALDI-TOF MS. *Ibid.*, 50, 2782-2787, 2002.
- Fruhwrth GO, Hermetter A, Production technology and characteristics of Styrian pumpkin seed oil, 2009.
- Gunstone, F. D.: *Oils and fats in the Food Industry*. Dundee, UK, 2008.
- Herrero, M., Mendiola, JA; Cifuentes, A; Ibanez, E. Supercritical fluid extraction: recent advances and applications. *J. Chromatogr. A*, 1217, 2495-2511, 2010.
- Hraš, A. R., Hadolin, M., Knez, Ž., Bauman, D.: Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.*, 71, 229-233, 2000.
- ISO 3960: Animal and vegetable fats and oils – determination of peroxide value, 1998.
- ISO 663: Animal and vegetable fats and oils – determination of insoluble impurities content, 1992.
- ISO 6885: Animal and vegetable fats and oils – determination of anisidine value, 2006.
- ISO 6886, Animal and vegetable fats and oils, Determination of oxidative stability (accelerated oxidation test), 2006.
- Jokić, S.: Matematičko modeliranje ekstrakcije ulja iz zrna soje superkričnim CO₂. Doktorska disertacija, Osijek, 2011.
- Karleskind, A.: *Oils and fats Manual*. Vol1, Intercept Ltd, Andover, Hampshire, UK, 1996.

- Karlović, Đ., Andrić, N.: Kontrola kvalitete semena uljarica, Tehnološki fakultet Novi Sad, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd, 1996.
- Karlović, Đ., Berenji, J., Recseg, K.: Proizvodnja i prerada uljarica, Herceg Novi, 2001.
- Kartika A., Pontalier, P.Y., Rigal, L.: Twin-screw extruder for oil processing of sunflower seeds: Thermo-mechanical pressing and solvent extraction in a single step. *Ind.Crop Prod.*, 72: 297-304, 2010.
- Koprivnjak, O.: Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, monografija, MIH d.o.o., Poreč, 2006.
- Laubli, G.R., Bruttel, P.A.: Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison between the Active Oxygen Method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat Method. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 792-795, 1986.
- Leder F., Molnar, I.: A nagy taperteku olajtokmag-presmaradek hasznositasi lehetosege, Gabonaipar, 1993.
- List, G. R., Evans, C. D., Kwolek, W. F., Warner, K., Boundy, B. K.: Oxidation and Quality of Soybean Oil: A Preliminary Study of the Anisidine Test. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 51, 17-21, 1974.
- Lovrić, T.: Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Hinus, Zagreb, 2003.
- Mandić, M. Znanost o prehrani, interna skripta, PTF Osijek, 2005.
- Martinez M, Penci C, Marin A, Ribotta P: Screw press extraction of almond: Oil Recovery and oxidative stability. *J Food Eng.*, 72, 40-45, 2013.
- Martínez, ML.; Mattea, MA.; Maestri, DM.: Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil. *J. Food Eng.*, 88, 399–404, 2008
- Matthaus, W.: Determination of the Oxidative Stability of Vegetable Oils by Rancimat and Conductivity and Chemiluminescence Measurements. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 1039-1043, 1996.
- Merrill, L. I., Pike, A. O., Ogden, L. V. Dunn, M.L.: Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils With Added Antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 771-776, 2008.

- Miyashita, K., Takagi, T.: Study on the Oxidative Rate and Prooxidant Activity of Free Fatty Acids. J. Am. Oil Chem. Soc., 63, 1380-1384, 1986.
- Moslavac, T., Jokić, S., Šubarić, D., Aladić, K., Vukoja, J., Prce, N.: Pressing and Supercritical CO₂ extraction of *Camellina sativa* oil. Ind. Crop. Prod., 2014., 54, 122 – 129.
- Mukhopadhyay, M.: Natural extracts using supercritical carbon dioxide. Boca Raton: CRC Press; 2000.
- Neđeral Nakić S., Rade D., Škevin D., Štrucelj D., Mokrovčak Ž., Bartolić M. Chemical characteristic of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita Pepo* L. Eur. J. Lipid Sci. Tech. 108, 936-943, 2006.
- Neđeral, S.: Utjecaj uvjeta prerade koštica buče *Cucurbita Pepo* L. na bioaktivne sastojke i održivost ulja, Doktorska disertacija, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2008.
- Nikolovski, B.: Kinetika i modelovanje ekstrakcije ulja iz bobica kleke (*Juniperus communis* L.) i semenki tikve (*Cucurbita pepo* L.) natkritičnim ugljendioksidom. Doktorski rad, Novi Sad, 2009.
- Nor, F. M., Mohamed, S., Idris, N. A., Ismail, R.: Antioxidative Properties of Curcuma longa Leaf Extract in Accelerated Oxidation and Deep Frying Studies., J. Am. Oil Chem. Soc., 86, 141-147, 2009.
- Novaković I.: Kvalitativne karakteristike hladno presovanog i devičanskog ulja semene tikve, Novi Sad, 2009.
- Nyam K. L., Tan C. P., Lai O. M., Long K., Che Man Y. B.: Physicochemical properties and biactive compounds of selected seed oils. Food Sci. Tech., 42, 1396-1403, 2009.
- Oštrić-Matijašević, B., Turkulov, J.: Tehnologija ulja i masti, Tehnološki fakultet; Novi Sad, 1980.
- Patterson H.B.W.: Handling and storage oilseeds, oils, fats and meals, Elsevier, London and New York, 1989.
- Pereira, C. G; Angela, M.; Meirles, A.: Supercritical Fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. Food Bioprocess Tech., 3, 340- 372, 2010.

- Petrik, J.: Polifenoli-Antioksidansi. Zavod za medicinsku biokemiju i hepatologiju, Zagreb, 2009.
- Pokorny, J., Nguyen, H.T.T., Korczak, J.: Antioxidant activities of rosemary and sage extracts in sunflower oil. *Nahrung*, 41, 176-177, 1997.
- Pravilnik o jestivim uljima i mastima, Narodne Novine 41/2012.
- Pravilnik o prehranbenim aditivima, Narodne Novine 81/2008.
- Rac, M.: Ulja i masti, Privredni pregled, Beograd, 1964.
- Rade, D., Mokrovčak, Ž., Štrucelj, D.: Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, Zagreb, 2001.
- Richhmeimer, S. L., Bernart, M. W., King, G. A., Kent, M. C., Bailey, D. T.: Antioxidant Activity of Lipid-Soluble Phenolic Diterpenes from Rosemary. *J.Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 507-514, 1996.
- Rozman, V., Liška, A.: Skladištenje ratarskih proizvoda, Priručnik za vježbe – interna skripta, Poljoprivredni fakultet Osijek, 2012.
- Sabliov, C. M., Fronczek, C., Astete, E., Khachatryan, L., Leonardi, C.: Effects of Temperature and UV Light on Degradation of α – Tocopherol in Free and Dissolved Form. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 895-902, 2009.
- Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Karim, A.A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M.: Application of supercritical CO₂ in lipid extraction - A review, *J. Food Eng.* 95, 240–253. 2009.
- Sairam, P., Ghosh, S., Jena, S., Rao, K. N. V.; Banji, D.: Supercritical Fluid Extraction (SFE)- An Overview, *Asian J. Pharmaceutical Sci.* 2, 112–120, 2012.
- Salgin, S., Salgin, U.: Supercritical fluid extraction of walnut kernel oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 108, 577–582. 2006.
- Sanhueza, J., Nieto, S., Valenzuela, A.: Thermal Stability of Some Commercial Synthetic Antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77, 933-936, 2000.
- Shahid, F.: Bailey's industrial and Fat Products. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. Newfoundland, Canada, 2005.

- Shahidi, F.: Natural antioxidants: an overview. In: Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effects, and Applications. Ed. F. Shahidi, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1-11, 1997.
- Simic, M.G.; Karel, M.: Autooxidation in Food and Biological Systems. Plenum Press. New York, 1980.
- Sovilj, M.: Critical review of supercritical carbon dioxide extraction of selected oil seeds, APTEFF. 41, 105-120. 2010.
- Subhashine Wijerante, S. K., Amarowicz, R., Shadidi, F.: Antioxidant activity of almonds and their by-products in Food model Systems. J. Am. Oil Chem. Soc., 83, 223-230, 2006.
- Swern, D.: Industrijski proizvodi masti i ulja po Baileyju, Nakladni zavod Znanje, Zagreb, 1972.
- Škevin, D.: Utjecaj prirodnih antioksidanasa na održivost i svojstva djevičanskog maslinovog ulja sorte oblica i buharica. Doktorski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagrebu, str. 38, 2003.
- Takeoka, G., Teranishi, L. D. R., Wong, R., Flessa, S., Harden, L., Edwards, R.: Identification of Three Triterpenoids in Almond Hulls. J. Agric. Food Chem., 48, 3437-3439, 2000.
- Temelli, F.: Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils. J. Supercrit. Fluid., 47, 583-590, 2009.
- Topallar, H., Bayrak, Y., Iscan, M.: A Kinetic Study on the Autooxidation of Sunflowerseed Oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 74, 1323-1327, 1997.
- Tyagi, V. K., Vasishtha, A. K.: Changes in the Characteristics and composition of oils during deep-fat frying, J. Am. Oil Chem. Soc., 73, 499-506, 1996.
- Veselinović S, Turkulov J.: Über die Selbsterwärmung der SonnenBlumensaat beim Lagern, Fat Sci, Technol, 1988.
- Volmut K: Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom propil galata i ekstrakta ružmarina. Specijalistički rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2010.
- Vujasinović, V., Djilas S., Dimić E., Romanić, R.: Shelf life of cold pressed pumpkin seed oil obtained with a on a screw press, J. Am. Oil Chem. Soc., 87, 1497-1505, 2010.
- Vukša, V., Dimić, E.: Characteristics of cold pressed pumpkin seed oil, Jena/Thuringen, 2003.

- Wang, T., Hicks, K. B., Moreau, R.: Antioxidant Activity of Phytosterols, Oryzanol, and Other Phytosterol Conjugates. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79, 1201-1206, 2002.
- Warner, K., Miller, J., Demurin, Y.: Oxidative Stability of Crude Mid-Oleic Sunflower Oils from Seeds with High γ - and δ -Tocopherol Levels. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 529-533, 2008.
- Warner, K.: Effects of the flavor and oxidative stability of stripped soy bean and sunflower oils with added pure tocopherols. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 9906-9910, 2005.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M.: Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103, 752-767, 2001.
- Web 1 www.tehnologijahrane.com (pristupljeno 15.11.2015.)
- Web 2 <http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega-3+masne+kiseline> Generalić, E. Omega-3 masne kiseline (pristupljeno 14.11.2015.)
- Web 3 www.ekomreza.org (pristupljeno 31.03.2015.)
- Web 4 www.agroklub.com (pristupljeno 31.03.2015.)
- Web 5 www.grbic.hr (pristupljeno 6.07.2015.)
- White, P.J., Armstrong, L. S.: Effect of Selected Oat Sterols on the Deterioration of Heated Soybean Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 525-529, 1986.