Proizvodnja i stabilizacija hladno prešanog ulja iz koštice marelice

Kostelac, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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:109:157389

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ivana Kostelac

PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA IZ KOŠTICE MARELICE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac 2014.

Prije svega željela bih se zahvaliti svojoj mami Anđelki ☺ i tati Tomislavu koji su vjerovali u mene, te mi omogućili studiranje u najljepšem gradu Osijeku. Također, veliko hvala mami Jovanki ♥ bez koje sve ovo ne bi bilo moguće i koja je uvijek bila uz mene, pružala podršku i ljubav. Hvala obitelji Topić i mom kumčetu Karlici ♥ što su me prihvatili kao svoju. Zahvaljujem se svojim sestrama na razumijevanju i što mi nisu zamjerile odsutnost od kuće sve ove godine. Šećer na kraju, hvala Tomislavu što je studiranje i život u gradu Osijeku učinio voljenim.

Posebno hvala prijateljima za neprocjenjiva učenja 24 sata na dan, 7 dana u tjednu ☺ uz mnogobrojna ispijanja kave, bez Vas studentski život ne bi bio zanimljiv. Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu i komentorici doc. dr. sc. Steli Jokić na prihvaćanju mnogobrojnih ideja i teme, savjetima prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela, te na suradnji. Također, hvala tehničarki Danieli Paulik na pomoći i ugodnoj atmosferi tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju ulja i masti
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na VI. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 25. ožujka 2014.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac
Komentor: doc. dr. sc. Stela Jokić

PROIZVODNJA I STABILIZACIJA HLADNO PREŠANOG ULJA IZ KOŠTICE MARELICE

Ivana Kostelac, 208 – DI

Sažetak:
Prunus armeniaca L. (Rosaceae) je vrlo važna ljekovita jestiva biljna vrsta, poznatija pod nazivom „marelica“, koja sadrži široku paletu bioaktivnih komponenti, te je njena konzumacija povezana sa smanjenjem rizika od kroničnih bolesti. Postupkom prešanja koštice marelice proizvedena su tri proizvoda: sirovo ulje, uljni talog i pogača. Nakon postupka centrifugiranja sirovog ulja dobiveno je hladno prešano ulje koštice marelice. U ovom radu ispitan je utjecaj procesnih parametara prešanja - temperatura, veličina otvora glave preše, brzina pužnice (frekvencija elektromotora) - na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete hladno prešanog ulja koštice marelice. Određena je oksidacijska stabilnost ulja, sa i bez dodanih antioksidanasa, primjenom Oven testa te je utvrđen utjecaj dodatka prirodnog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja marelice. Antioksidansi korišteni u ovom istraživanju su: ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara u koncentracijama 0,1 % i 0,2 %, te eterično ulje majčine dušice, origana, bosiljka i rtanjskog čaja (0,05 %). Rezultati ispitivanja prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja tijekom četiri dana testa. Najveće iskorištenje ulja kod prešanja sjemenki koštica marelice dobiveno je kod procesnih parametara: nastavak za izlaz pogače 6 mm, brzina pužnice 20 Hz i temperatura glave preše 100 °C. Od ispitivanih prirodnih antioksidanasa najbolji antioksidacijski učinak pokazuju ekstrakt zelenog čaja (0,1 % i 0,2 %) i eterično ulje majčine dušice (0,05 %).

Ključne riječi: ulje koštice marelice, prešanje, oksidacijska stabilnost, antioksidansi

Rad sadrži: 59 stranica
18 slika
9 tablica
54 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	izv. prof. dr. sc. Vedran Slačanac	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac	član - mentor
3.	doc. dr. sc. Stela Jokić	član - komentor
4.	izv. prof. dr. sc. Jurislav Babić	zamjena člana

Datum obrane: 12. prosinac 2014.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no.VI. held on 25. March 2014.
Mentor: *Tihomir Moslavac, PhD, associate prof.*
Co – mentor: *Stela Jokić, PhD, assistant prof*

THE PRODUCTION AND STABILIZATION OF COLD-PRESSED APRICOT KERNEL OIL

Ivana Kostelac, 208 – DI

Summary:
Prunus armeniaca L. (Rosaceae) is very important medicinal and edible plant, also known as "apricot" which contains a wide variety of bioactive components, and its consumption is often associated with reduced risk of chronic diseases. Apricot kernel pressing results in three products: raw oil, oil sludge, and scone. Cold pressed apricot kernel oil is obtained using the process of centrifugation. This paper examines the influence of process parameters - temperature, size of the press head hatch and the screw speed (electromotor frequency) - on oil extraction and the basic quality parameters of cold pressed apricot kernel oil, as well as oxidation stability of the extracted oil with and without added antioxidants using the Oven test, thus identifying the influence of individual natural antioxidant on the oxidation stability of the extracted apricot oil. The antioxidants used in this study are rosemary extract (OxyLess®.CS), green tea and pomegranate extracts at concentrations of 0,1 % and 0,2 %, thyme, oregano, and basil volatile oil, as well as savory tea volatile oil at concentration of 0,05 %. The study results are demonstrated as peroxide value during the four days. It was concluded that process parameters for the highest oil extraction during the apricot kernel pressing are as follows: cake extension length 6 mm, screw speed 20 Hz, and the press head temperature of 100 °C. Out of natural antioxidants tested, study determined that green tea extract (0,1 % and 0,2 %), and thyme volatile oil (0,05 %) demonstrate the best antioxidant effects.

Key words: apricot kernel oil, pressing, oxidation stability, antioxidants

Thesis contains: 59 pages
18 figures
9 tables
54 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Vedran Slačanac*, PhD, associate prof.	chair person
2.	*Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof.	supervisor
3.	*Stela Jokić*, PhD, assistant prof.	co - mentor
4.	*Jurislav Babić*, PhD, associate prof.	stand-in

Defense date: December 12, 2014.

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

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. JESTIVA BILJNA ULJA 4
2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA 8
2.2.1. Koštice marelice 9
2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANOG BILJNOG ULJA 12
2.3.1. Priprema sirovine za prešanje 13
2.3.2. Prešanje 14
2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća 15
2.3.4. Pakiranje i skladištenje ulja 16
2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA 16
2.4.1. Kemijski procesi 17
2.4.2. Enzimski i mikrobiološki procesi 19
2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA 20
2.5.1. Antioksidansi 21
2.5.2. Sinergisti 24
2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA 26
2.7. ODRŽIVOST ILI OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA 28
3. EKSPERIMENTALNI DIO 30
3.1. ZADATAK 31
3.2. MATERIJALI I METODE 31
3.2.1. Materijali 31
3.2.2. Metode 33
3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači 33
3.2.2.2. Određivanje stupnja djelovanja preše 34
3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja 34
3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja 38
3.2.2.5. Određivanje antioksidacijske stabilnosti prirodnih antioksidanasa 39
3.2.2.6. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja 40
4. REZULTATI 42
5. RASPRAVA 48
5.1. UTJECAJ PARAMETARA PREŠANJA NA ISKORIŠTENJE I PARAMETRE KVALITETE ULJA 49
5.2. UTJECAJ DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA 50
6. ZAKLJUČCI 52
7. LITERATURA 54

Popis oznaka, kratica i simbola

Abr	Anisidinski broj
AI	Antioksidacijski indeks
AO	Ulje koštica marelice
BHA	Butil hidroksianisol
BHT	Butil hidroksitoluen
DHA	Dokosaheksaenska kiselina
DPA	Dokosapentaenska kiselina
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetra – octena kiselina
EMK	Esencijalne masne kiseline
EPA	Eikosapentaenska kiselina
HCl	Klorovodična kiselina
KI	Kalij jodid
KOH	Kalijev hidroksid
$Na_2S_2O_3$	Natrijev tiosulfat
NaOH	Natrijev hidroksid
OV	Totox broj
Pbr	Peroksidni broj
PF	Zaštitni faktor
PTF	Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek
SFA	Zasićene masne kiseline
SMK	Slobodne masne kiseline

1. UVOD

Postupkom prešanja određenih biljnih sirovina na temperaturi do 50 °C dobivamo sirovo ulje koje sadrži mehaničke nečistoće, uljni talog i djelove pogače. Takvo ulje se podvrgava postupcima taloženja i filtracije kako bismo uklonili nečistoće i proizveli hladno prešano ulje. Proizvedeno hladno prešano ulje potrebno je pravilno skladištiti kako ne bi došlo do kvarenja, zato je vrlo važno poznavati oksidacijsku stabilnost ulja, te kako bismo što preciznije definirali rok trajanja ulja.

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu čuvati od procesa autooksidacije i narušavanja njegovih senzorskih svojstava i kvalitete. Oksidacijska stabilnost ulja se određuje metodama koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja, djelovanjem jednog ili više faktora koji ubrzavaju proces. U praksi se koriste Rancimat test, AOM test i Oven test.

Antioksidansi su tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju tj. usporavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja, a mogu biti prirodni i sintetski.

Zadatak ovog diplomskog rada bio je proizvesti hladno prešano ulje iz koštice marelice i odrediti utjecaj procesnih parametara – temperature glave preše, veličine otvora glave preše za izlaz pogače i brzine pužnice (frekvencije elektromotora) - na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja. Također će se ispitati oksidacijska stabilnost ulja sa i bez dodatka antioksidanasa i na taj način utvrditi utjecaj pojedinog prirodnog antioksidansa na održivost hladno prešanog ulja koštica marelice.

U ovom istraživanju korišteni su samo prirodni antioksidansi: ekstrakt ružmarina (OxyLess®.CS), ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt nara, eterična ulja majčine dušice, origana, bosiljka i rtanjskog čaja. Oksidacijska stabilnost ulja ispitana je primjenom Oven testa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Masti i ulja su organski spojevi biljnog ili životinjskog podrijetla, netopljivi u vodi, ali topljivi u organskim otapalima. Prema kemijskom sastavu, masti i ulja se sastoje od triglicerida masnih kiselina, odnosno masti i ulja su esteri alkohola glicerola i masnih kiselina. Ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina, te su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti koje sadrže više zasićenih masnih kiselina i pri sobnoj temperaturi su u čvrstom stanju.

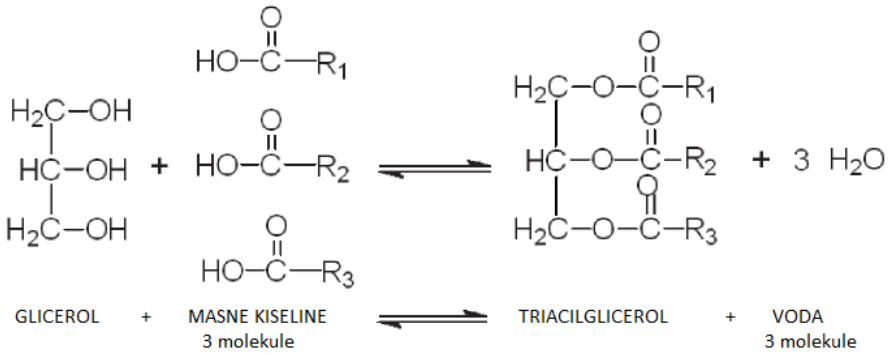
S obzirom na strukturu i sastav biljnih ulja, lipidi se dijele na:

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

Jednostavni lipidi

U jednostavne lipide ubrajamo triacilglicerole (trigliceride) masnih kiselina koje nalazimo u prirodi prisutne s malim količinama lipidima drugih skupina, te voskovima koji predstavljaju estere viših masnih kiselina i viših masnih alkohola. Na **Slici 1** je prikazana reakcija nastajanja triacilglicerola iz masnih kiselina i alkohola glicerola.

Ulja i masti (triacilgliceroli) su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina. Masne kiseline su reaktivni dio molekule triacilglicerola pa imaju veliki utjecaj na njegova kemijska i fizikalna svojstva (Swern, 1972.).



Slika 1 Nastajanje triacilglicerola

Složeni lipidi

Složeni lipidi uključuju derivate fosforne kiseline, tj. fosfolipide, lipide koji sadrže ostatke ugljikohidrata, tj. glikolipide, aminolipide, sulfolipide. Udio negliceridnih sastojaka u

prirodnim biljnim uljima iznosi 1 – 2 %, u nekima i do 3,5 %, a čine ih fosfatidi (fosfolipidi), karoteni, voskovi, steroli, vitamini A, D i E, tokoferoli, pigmenti klorofil i gosipol, glikozidi, aldehidi, ketoni, masni alkoholi i tragovi metala. Određeni negliceridni sastojci u prirodnim uljima su izrazito poželjni (npr. vitamini, karoteni) i poboljšavaju kvalitetu ulja prilikom rafinacije, dok voskovi, fosfatidi i tragovi metala mogu uvelike pogoršati kvalitetu ulja prilikom rafinacije, pa ih je potrebno ukloniti iz ulja tijekom postupka rafinacije.

Derivati lipida

U derivate lipida ubrajaju se masne kiseline, vitamin D, vitamin E, alkoholi (steroli), ugljikovodici (karoteni).

Masne kiseline se razlikuju po:

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

S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikujemo:

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

Što je lanac masnih kiselina kraći, to je masnoća u više tekućem obliku, odnosno snižava se njezino talište.

S obzirom na stupanj nezasićenosti masne kiseline dijele se na:

- zasićene masne kiseline,
- nezasićene masne kiseline (Swern, 1972.).

Zasićene masne kiseline

Kada su ugljikovi atomi u masnim kiselinama povezani jednostrukim vezama (C-C), takve masne kiseline nazivamo zasićenim masnim kiselinama (SFA). Zasićenim masnim kiselinama vodikovi atomi potpuno ispunjavaju sva slobodna mjesta na ugljikovim atomima i

najvažnije svojstvo je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu, te dominiraju u mastima koje su na sobnoj temperaturi u čvrstom stanju (masti životinjskog porijekla).

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv masne kiseline	Formula
4	Maslačna kiselina	$CH_3(CH_2)_2COOH$
6	Kapronska kiselina	$CH_3(CH_2)_4COOH$
8	Kaprilna kiselina	$CH_3(CH_2)_6COOH$
10	Kaprinska kiselina	$CH_3(CH_2)_8COOH$
12	Laurinska kiselina	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
14	Miristinska kiselina	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
16	Palmitinska kiselina	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
18	Stearinska kiselina	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
20	Arahidska kiselina	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$
22	Behenijska kiselina	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$
24	Lignocerinska kiselina	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$

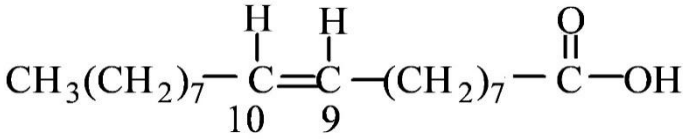
Povećanjem broja C atoma u molekuli raste i točka topljenja masnih kiselina. Najraširenije zasićene masne kiseline su: laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska masna kiselina **(Tablica 1)**.

Nezasićene masne kiseline

Ako je jedna ili više veza između ugljikovih atoma povezana dvostrukim vezama (C = C), masna kiselina pripada nezasićenim masnim kiselinama. Ovisno o broju dvostrukih veza, nezasićene masne kiseline dijelimo u dvije skupine. Masne kiseline s jednom dvostrukom vezom su mononezasićene masne kiseline, s dvije ili više dvostrukih veza zovu se polinezasićene masne kiseline. Nezasićene masne kiseline dominiraju u uljima, te su na sobnoj temperaturi u tekućem stanju (maslinovo ulje, sojino, suncokretovo, ulje uljane repice i dr.), jer se točka topljenja smanjuje s dvostrukim vezama.

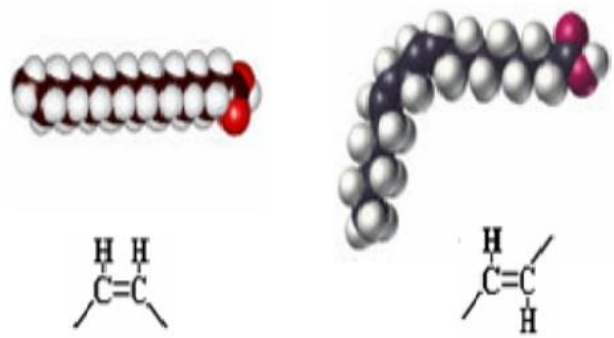
Oleinska kiselina sa 18 - C atoma i jednom dvostrukom (=) vezom je najčešće prisutna mononezasićena masna kiselina **(Slika 2)**. Značajno je zastupljena u maslinovom, repičinom i visokooleinskom suncokretovom ulju. Jednostruko nezasićena oleinska kiselina je manje podložna oksidaciji od polinezasićenih masnih kiselina (Rade i Škevin, 2004.). Najpoznatija

polinezasićena masna kiselina je linolna masna kiselina koja ulazi u sastav brojnih biljnih ulja poput suncokretovog, kukuruznog, sezamovog ulja i dr. ulja.



Slika 2 Mononezasićena oleinska masna kiselina (Jašić, 2009.)

Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, cis i trans obliku **(Slika 3)**. Prirodne nezasićene masne kiseline su cis konfiguracije, a trans nezasićene masne kiseline nastaju tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije biljnih ulja (O'Brien, 2004.). Tehnološkim procesom proizvodnje hidrogeniziranih masti i margarina, gdje se procesom hidrogenacije molekulama nezasićenih masnih kiselina na mjestima dvostukih veza adiraju vodikovi atomi, mijenja se prirodan cis oblik masnih kiselina u trans oblik, koji je štetan za ljudski organizam.



Slika 3 Cis i trans oblik nezasićene dvostruke veze (Jašić, 2009.)

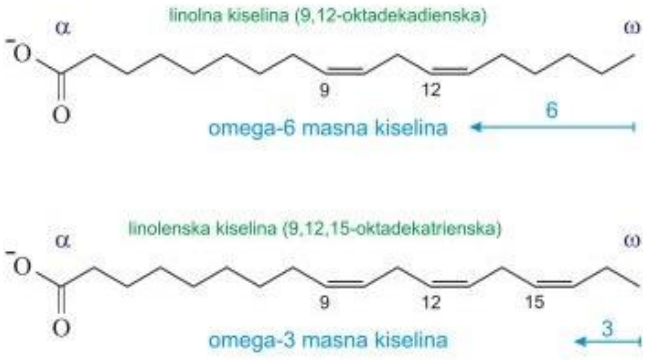
Kemijski sastav oba oblika je jednak, ali fizikalna svojstva im se razlikuju zbog razlike u konfiguraciji, broj cis i trans izomera ovisi o broju dvostrukih veza u nezasićenim masnim kiselinama (npr. masne kiseline s dvije dvostruke veze imaju četiri geometrijska oblika; cis – cis, cis – trans, trans – cis, trans - trans). Određivanja udjela trans masnih kiselina je vrlo važno zbog određivanja kvalitete masti i kontrole procesa hidrogenacije.

Polinezasićene masne kiseline dijele se na omega–3 i omega–6 (n–3 i n-6). Omega–3 skupini 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, pastrvama i ulju biljaka, a kod uljarica se nalaze najviše u lanenom ulju,

konopljinom ulju i repičinom ulju. Omega – 6 skupini pripadaju linolna kiselina i arahidonska kiselina koju organizam može sintetizirati iz linolne kiseline (Mandić, 2003.).

Esencijalne masne kiseline

Linolna i linolenska masna kiselina se ubrajaju u esencijalne masne kiseline (EMK), jer ih naš organizam ne može sam sintetizirati, pa ih je potrebno unositi hranom u organizam **(Slika 4)**. Vrlo su važne za pravilan rast i razvoj organizma, rad stanica i funkciju organizma, te pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina sa 18 i 20 ugljikova atoma i sadrže 2 – 6 dvostrukih veza u cis konfiguraciji masne kiseline.



Slika 4 Strukturna formula esencijalnih omega-3 i omega-6 masnih kiselina

2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

Za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava se više od 20 vrsta biljaka, međutim samo ih je 12 od većeg ekonomskog značaja. Dijelimo ih u skupine prema dijelu biljke koja se koristi za prešanje i prema podrijetlu na:

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

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

2.2.1. Koštice marelice

Prunus armeniaca L. (Rosaceae) je vrlo važna ljekovita jestiva biljna vrsta poznatija kao "marelica" **(Slika 5)**. Sjemenke koštica marelice se nalaze kao sastavnice različitih proizvoda, uključujući pekarske i konditorske proizvode. Zanimljivo, sjemenka koštice marelice sadrže čak 50% ulja (Zhang i sur., 2009.). Biljka se može botanički opisati kao jednogodišnje stablo 2-10 m visine, plod obično dozrijeva krajem srpnja do sredine kolovoza. Prema vrsti i njegovoj strukturi je koštuničavo voće, s tankom vanjskom, pahuljastom kožom koja zatvara žuti mesnati dio (mezokarp).



Slika 5 Plod marelice

Marelica je jedna od najpopularnijih umjerenih vrsta voća, ima ukupnu svjetsku proizvodnju od oko 2,6 milijuna tona, s Turskom (370.000 tona) kao vodećom zemljom, Iran (285.000 tona) i Italija (244.000 tona) kao drugi glavni proizvođači (Gattii sur., 2009.).

Treba istaći da stabla rano dolaze u rod i da daju obilne prirode. Marelica je otpornija prema bolestima i štetnicima od velikog broja voćnih vrsta, pa je jeftinija njena zaštita. Plodovi su vrlo cijenjena sirovina za preradu u različite proizvode, a posebno za: džemove, marmelade, slatko, kompote i sokove. Osim toga, marelica se dosta suši, ili prerađuje u rakiju odlične kvalitete. Svježi plodovi marelice omiljeno su rano voće, bogato lako pristupačnim šećerima, organskim kiselinama, vitaminima, mineralnim tvarima itd. (Miljković, 1991.).

Postoji preko tristo sorti marelice, od kojih su nama najznačajnije:

A. Vodeće sorte

- Grosse Frühe (Velika rana)
- Magyar kajszi (Mađarska najbolja)
- Kečkemetska ruža (Kecskei rozsa)

B. Prateće sorte

- Stark Early Orange (Stark erli orindž)
- Čečensko zlato (Miljković, 1991.).

Također, marelice možemo podjeliti i prema vremenu dozrijevanja na:

- rane sorte,
- srednje rane sorte,
- srednje kasne sorte i
- kasne sorte.

Velika rana (Grosse Frühe)

Dosta proširena na našem području, naročito se uzgaja u Francuskoj i Njemačkoj te pripada ranim sortama marelice.

Dozrijeva u drugoj polovici, odnosno krajem lipnja. Plod je velik, okruglasta oblika, a pri vrhu se sužava. Kožica je svijetlonarančasta s lijepo izraženim crvenilom na sunčanoj strani (Miljković, 1991.).

Mađarska najbolja (Magyar kajszi)

Uzgoj Mađarske najbolje je veoma proširen na našem području i ona pripada srednje ranim sortama. Ova sorta se odlikuje dobrom bujnošću, te ranom, redovnom i obilnom rodnošću.

Meso je narančastožuto, sočno, topljivo, slatkokiselo, aromatično i vrlo kvalitetno. Koštice se lagano odvajaju od mesa. Plodovi su prikladni za potrošnju u svježem stanju, za sušenje i razne prerađevine (Miljković, 1991.).

Kečkemetska ruža (Kecskei rozsa)

Kečkemetska ruža je dobro poznata sorta na našem području i pripada kasnim sortama. Dozrijeva produljeno, od kraja srpnja do početka kolovoza, odnosno, nešto malo iza Mađarske najbolje ili skupa s njom (Miljković, 1991.).

Ova sorta je dosta otporna prema mrazu, plodovi dobro podnose transport, koštice se lako odvajaju od mesa, a sjemenka je gorka.

FIZIKALNA I KEMIJSKA SVOJSTVA KOŠTICE MARELICE

Poznato je da koštice marelice sadrže široku paletu bioaktivnih komponenti, te da je konzumacija koštica marelice povezana sa smanjenjem rizika od kroničnih bolesti. Subhashinee i sur. (2006.) ocijenili su antioksidacijska svojstva koštice marelice primjenom nekoliko kemijskih i biokemijskih testova. Antioksidacijsko djelovanje je vrlo visoko zbog bogatog sadržaja polifenola, te je konzumacija marelica preporučena za ljudsko zdravlje.

Ulje koštice marelice (AO) je bogato mono – i polinezasićenim masnim kiselinama, s oleinskom i linolnom kiselinom kao glavnim sastojcima, te nizom sastojaka manjeg udjela, kao što su tokoferoli i fenolni spojevi (Jia i sur., 2011.; Turan i sur., 2007.). Mononezasićene i polinezasićene masne kiseline, kao i manje lipidne komponente, igraju važnu ulogu u ljudskoj prehrani i zdravlju. Prehrana bogata tim spojevima može smanjiti krvni tlak i ukupnu razinu kolesterola u krvi, smanjiti oksidativni stres i održavati tjelesnu težinu (Turan i sur., 2007.). Prosječan udio masnih kiselina u tim sortama utvrđen je: oleinska kiselina (70,83%), linolna kiselina (21,96 %), palmitinska kiselina (4,92 %) i stearinska kiselina (1,21 %). U dosljednosti s prethodnim izvješćima, oleinska kiselina je glavna masna kiselina u tri uzorka u rasponu između 43,58 i 68,65 % (Erdogan-Orhan i Kartal, 2010.). Rezultati analize karotenoida na trima sortama marelice (Kečkemetska ruža, Mađarska najbolja i Velika Rana) prikupljenim u Hrvatskoj pokazali su postojanje β - karotena u velikim količinama, zajedno s γ - karotenom i luteinom u nezreloj, poluzreloj i zreloj fazi voća (Dragović Uzelac i sur., 2007.). Istraženo je da ukupni sadržaj karotenoida varira između 1,5 i 16,5 mg/100 g s β - karotenom kao glavnim pigmentom, zatim β - i γ -kriptoksantinom i γ - karotenom.

Koštice marelice sadrže i cijanogene glikozide, najzastupljeniji je amigdalin. Enzimska razgradnja amigdalina može dovesti do stvaranja cijanida kada su koštice ili sjemenke oštećene. Koštice marelice i koštice gorkog badema imaju sadržaj amigdalina od oko 3 - 4 %,

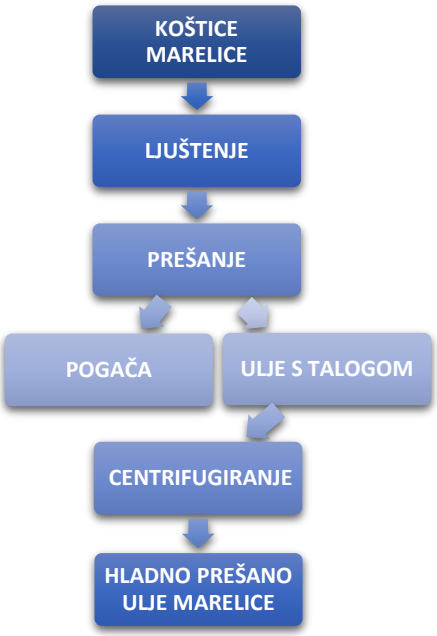
po težini i sadržaj amigdalina može čak porasti i do 8 % u sjemenki marelice (Frohne i Pfander, 2005.). Cijanogeni glikozidi se mogu naći u mnogim hranjivim biljkama, uključujući marelicu i oslobađaju cijanovodičnu kiselinu pod određenim okolnostima (Zöllner i Giebelmann, 2007.). Prekomjerna konzumacija sjemenki koje sadrže veliku količinu amigdalina može uzrokovati akutno ili kronično trovanje ljudi i životinja (Silem i sur., 2006.). Drugi cijanogeni glikozid prisutan u sjemenkama marelice je prunasin, metabolit amigdalina (Tuncel, Nout i Brimer, 1998.).

2.3. PROIZVODNJA HLADNO PREŠANOG BILJNOG ULJA

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50 °C. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem (NN 41/12).

Tehnološki postupak proizvodnje hladno prešanih, kao i nerafiniranih ulja **(Slika 6)** obuhvaća dvije osnovne faze:

- pripremu sirovine za prešanje i
- proizvodnja ulja prešanjem.



Slika 6 Blok shema tehnološkog postupka proizvodnje hladno prešanog ulja koštica marelice

Prije prešanja je potrebno prilagoditi parametre prešanja ovisno o polaznoj sirovini kako bismo dobili što kvalitetnije ulje i što veće iskorištenje prilikom postupka prešanja **(Tablica 2)**.

Izdvajanje ulja treba prilagoditi, prije svega, polaznim sirovinama. Sirovine treba pripremiti tako da se ulje može što lakše izdvojiti, a istovremeno zbog odsustva rafinacije, ulje mora biti što bolje kvalitete. Priprema obuhvaća čišćenje, ljuštenje i mljevenje, međutim, na prešanje može ići sirovina i bez ljuštenja i mljevenja, a što ovisi o vrsti sirovine (Dimić, 2005.).

Tablica 2 Primjenjeni procesni parametri prešanja sjemenki s kontinuiranom pužnom prešom

VELIČINA OTVORA (N=mm)	TEMPERATURA [°C]	FREKVENCIJA (Hz)
8	80	20
6	80	20
6	100	20

2.3.1. Priprema sirovine za prešanje

Priprema sirovine za prešanje podrazumijeva ljuštenje koštica i čišćenje sjemenki od ostataka koštica. Ljuska sjemenki ili plodova sastoji se uglavnom od celuloznih i hemiceluloznih tvari i ima veliku čvrstoću, kao takva vrlo lako može oštetiti prešu, ali to nije jedini razlog odvajanja ljuske od sjemenki. Ljuštenje sjemenki obavlja se i zbog:

- poboljšanja kvalitete ulja;
- povećanja kapaciteta i iskorištenja preše i
- poboljšanja kvalitete pogače.



Slika 7 Ljuštenje i čišćenje koštica marelice

Ljuštenje se provodi najčešće mehaničkim putem **(Slika 7)**, pomoću ljuštilica. Kod mehaničkog ljuštenja prvo moramo razbiti ljusku i osloboditi jezgru, te odvojiti ljusku od jezgre **(Slika 8)**. Moguće je primjeniti i druge načine ljuštenja, npr. pomoću rotirajućih ploča s različitim nazubljenjima, gdje se ploče postavljaju vertikalno jedna prema drugoj, a razmak između njih je moguće regulirati, zatim upotrebom para valjaka koji rade na sličan princip kao i rotirajuće ploče.



Slika 8 Oljuštene sjemenke marelice

2.3.2. Prešanje

Prešanje je tehnološki postupak istiskivanja ulja, primjenom visokog tlaka, iz prethodno pripremljene sirovine. Prešanje se provodi mehaničkim putem na pužnim ili hidrauličnim prešama, u današnje vrijeme najčešće na pužnim prešama.

Pužne preše

Prema načinu rada, pužne preše mogu biti kontinuirane i diskontinuirane (šaržne). Glavni dijelovi ovih preša su vodoravna pužnica, koš koji se nalazi oko pužnice, konusna posuda za punjenje i doziranje materijala, uređaj za regulaciju debljine pogače, zupčani prijenosnik i kućište preše. Razlika između kontinuiranih i šaržnih pužnih preša je u kapacitetu proizvodnje, šaržne ćemo koristiti kada imamo manje kapacitete proizvodnje, dok su kontinuirane pužne preše zapravo koriste kada imamo veći kapacitet proizvodnje. Koš koji se nalazi oko pužnice je konusnog oblika, pa puž potiskuje materijal iz većeg u manji volumen što uzrokuje sabijanje materijala i pri tome dolazi do porasta tlaka i cijeđenja ulja.

Trenje u materijalu i preši je veliko, pa je neizbježan porast temperature. Visoka trenja mogu povisiti temperaturu materijala do 170 °C. Kod proizvodnje hladno prešanih ulja visina temperature sirovog ulja koje napušta prešu je vrlo bitna, jer ne bi smjela biti viša od 50 °C. Da bi se to postiglo potrebne su preše posebne konstrukcije ili se prešanje mora provesti pri blažim uvijetima, tj. pri nižem tlaku. U tom slučaju sadržaj zaostalog ulja u pogači je u pravilu veći, odnosno, prinos ulja je manji (Bockisch, 1998.).

2.3.3. Odvajanje netopljivih nečistoća

Nakon prešanja u sirovom ulju se nalaze mehaničke (netopljive) nečistoće, voda i sluzave tvari, koje mogu nepovoljno utjecati na senzorska svojstva ulja, pa ih je potrebno ukloniti iz ulja nakon prešanja. Količina nečistoća koja izlazi iz preše zajedno s uljem ovisi o: konstrukciji preše, krupnoći materijala i finoći usitnjavanja-mljevenja materijala prije prešanja, parametrima preše (tlak, temperatura), kemijskom sastavu sirovine itd.

Netopljive nečistoće iz sirovog ulja se mogu izdvojiti na više načina:

- taloženjem (sedimentacijom),
- filtracijom (filter preša) i
- centrifugalnim separatorom.

Odvajanje nečistoća taloženjem (sedimentacijom)

Sirovo ulje se nakon prešanja stavlja u posude ili rezervoare u kojima se vrši odvajanje nečistoća taloženjem. Odvajanje nečistoća taloženjem radi na principu razlike u specifičnoj masi čestica. Čestice nečistoća, koje imaju veću specifičnu masu od ulja, prirodnim putem se talože na dno posude i na taj način ih izdvajamo iz ulja.

Odvajanje nečistoća filtracijom

S obzirom da je razlika specifične mase čestica nečistoća i ulja mala, a viskoznost ulja velika, taloženje može potrajati nekoliko dana, a i čestice nečistoća se ne mogu u potpunosti izdvojiti iz ulja. Postupkom filtracije sirovo prešano ulje se propušta kroz filter na kojem zaostaju nečistoće i na taj način se uspješnije izdvajaju iz ulja. Filtersko sredstvo može biti izrađeno od pamuka, sintetskih materijala ili lana, a postupak filtracije se može provesti na različitim izvedbama uređaja (vibracijska sita, filter preše, vakuum filter, centrifugalni separatori).

Kapacitet filtracije je proporcionalan veličini filtracijske površine i brzini filtracije. Brzina fitracije ovisi o veličini pora filtera, viskozitetu ulja i osobinama taloga koji zaostaje na filteru. Brzina filtracije se može povećati dodatkom pomoćnog filtracijskog sredstva (Dimić, 2005.).

2.3.4. Pakiranje i skladištenje ulja

Hladno prešana biljna ulja podložna su nepoželjnim enzimskim, kemijskim i mikrobiološkim promjenama, zbog kojih dolazi do kvarenja ulja. Stoga, potrebno je voditi računa o ambalažnom materijalu u koji se pakira ulje i uvjetima čuvanja. Ambalažni materijal mora onemogućiti interakcije s proizvodom i potpuno ga zaštititi, osigurati zdravstvenu ispravnost, spriječiti prodiranje plinova, vodene pare i svjetlosti do proizvoda i imati dobra fizikalno-mehanička svojstva. Najčešće se upotrebljavaju tamno staklo, polimerni materijali, inox, kombinirani materijali.

Ambalaža svojim zaštitnim svojstvima, oblikom, dizajnom, grafičkim rješenjima, tekstom deklaracije i logotipovima značajno utječe na prihvatljivost proizvoda (Vučetin, 2004.).

2.4. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Kod proizvodnje hladno prešanih ulja vrlo je važno spriječiti kvarenje ulja od samog ubiranja i skladištenja sirovine, prešanja sirovine, pa do skladištenja isprešanog ulja. Kvarenje ulja ovisi o vrsti ulja i sirovini za proizvodnju ulja, te uvjetima skladištenja sirovine i proizvedenog ulja. Proces kvarenja u uljima je uzrokovan kemijskim, enzimskim i mikrobiološkim promjenama u ulju, koje narušavaju organoleptička svojstva, smanjuju nutritivnu vrijednost ulja i uzrokuju nastanak štetnih spojeva (peroksida, polimera).

Prilikom kvarenja dolazi do promjene organoleptičkih svojstava masti i mjenja se njihova prehrambena vrijednost. Dolazi i do mjenjanja ili gubitka jednog djela biološki aktivnih tvari kao što su esencijalne masne kiseline, vitamini, provitamini i drugi sastojci. Posljedica kvarenja su razgradni produkti (posebno isparljive karbonilne skupine i niže molekularne masne kiseline) koji ulju daju neugodan okus i miris. Neki razgradni produkti mogu biti i štetni za zdravlje (peroksidi, polimeri, malondialdehidi) pa se takve masti koriste u tehničke svrhe (Čorbo, 2008.).

2.4.1. Kemijski procesi

Kvarenja biljnih ulja uzrokovana kemijskim procesima su:

- autooksidacija,
- termooksidacijske promjene i
- reverzija.

Autooksidacija ulja i masti

Kvarenje biljnih ulja uzrokovano oksidacijskim procesom je najčešći tip kvarenja svih biljnih ulja i proizvoda u kojima se nalaze ulja, a predstavlja proces djelovanja kisika na dvostruke veze nezasićenog lanca masne kiseline i nastajanja slobodnih radikala.

Da li će proces autooksidacije biljnih ulja nastupiti polaganije ili brže ovisi o sastavu ulja, uvjetima skladištenja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ovu reakciju oksidacije (Martin-Polvillo, 2004).

Proces autooksidacije uključuje tri faze, a to su:

1. Inicijacija,
2. Propagacija i
3. Terminacija.

1. Inicijacija

$$\underset{\text{masna kiselina}}{RH} + O_2 \text{ -----> } \underset{\text{slobodni radikali}}{R\cdot} + \cdot HOO \qquad \textbf{(1)}$$

U prvoj fazi **(1)** autooksidacije dolazi do homolitičkog cijepanja na metilnim skupinama nezasićenih masnih kiselina djelovanjem topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog svijetla ili uz katalitičko djelovanje iona metala, tj. izdvaja se vodik i nastaju slobodni radikali.

2. Propagacija

$$R\cdot + O_2 \text{ -----> } ROO\cdot \qquad \textbf{(2)}$$

$$\underset{\text{slobodni radikal}}{ROO\cdot} + \underset{\text{masna kiselina}}{RH} \text{ -----> } \underset{\text{hidroperoksid}}{ROOH} + R\cdot$$

$$\begin{aligned} &ROOH \quad \text{-----}> \quad RO\cdot + \cdot OH \\ &2ROOH \quad \text{-----}> \quad ROO\cdot + RO\cdot + H_2O \end{aligned}$$

hidroperoksid slobodni radikali

$$\begin{aligned} &OH\cdot + RH \quad \text{-----}> \quad R\cdot + H_2O \\ &RO\cdot + RH \quad \text{-----}> \quad R\cdot + ROH \end{aligned}$$

slobodni radikali masna kiselina slobodni radikal

U fazi propagacije **(2)** reakcija se kontinuirano nastavlja, slobodni radikali reagiraju s kisikom i grade slobodne radikale peroksida i hidroperoksida. Hidroperoksidi su nestabilni i raspadaju se na slobodne radikale RO· i ·OH. Formiranje novonastalih radikala pokreće niz novih lančanih reakcija, te proces autooksidacije postaje autokataliziran.

3. Terminacija

$$\begin{aligned} &R\cdot + R\cdot \quad \text{-----}> \quad R - R \\ &R\cdot + ROO\cdot \quad \text{-----}> \quad ROOR \\ &ROO\cdot + ROO\cdot \quad \text{-----}> \quad ROOR + O_2 \end{aligned} \qquad \textbf{(3)}$$

slobodni radikali polimeri

U završnoj fazi **(3)** nastali slobodni radikali međusobno reagiraju i stvaraju polimere (R–R, ROOR). Polimeri nemaju svojstva slobodnih radikala, pa se njihovim nastankom usporava, odnosno završava proces oksidacije.

Primarni produkti procesa su hidroperoksidi, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom hidroperoksida (aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i dr.) i daju neugodan užegnut miris i okus uljima čak i u vrlo malim koncentracijama. Mnogi od njih su vrlo reaktivni spojevi i mogu pokrenuti lančanu reakciju oksidacije *in vivo* (Shahidi, 1997.).

Polinezasićene masne kiseline reaktivnije su od mononezasićenih i zasićene masnih kiselina, stoga su i podložnije oksidaciji brže nego mononezasićene i zasićene masne kiseline. Zato u procesu autooksidacije polinezasićene masne kiseline smatramo ključnim komponentama.

Termooksidacijske promjene ulja

Do termooksidacijskih promjena u uljima dolazi djelovanjem visokih temperatura (> 150 °C) uz prisutstvo vodene pare i zraka. Proces ovisi o vrsti ulja, visini temperature i

vremenu izloženosti ulja visokoj temperaturi. Osim promjene fizikalnih svojstava ulja, dolazi i do promjene kemijskih svojstava, čime se zapravo dokazuje prisustvo termooksidacijskih promjena. Glavna metoda za određivanje stvaranja dimera i polimera tijekom zagrijavanja je određivanje jodnog broja, jer se tijekom termooksidacijskih promjena povisuje udio slobodnih masnih kiselina, broj osapunjenja i peroksidni broj, a kad se jodni broj snizi za 5 %, ulje se više ne smije koristiti za prženje hrane.

Nakon određenog vremena zagrijavanjem 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 triglicerola, oksipolimeri i drugi hlapljivi i nehlapljivi spojevi (Vidyasagar i sur., 1974.).

Reverzija

Kada nakon kraćeg vremena čuvanja u biljnom ulju dođe do pojave neugodnog okusa i mirisa na ribu ili sirovinu, ta pojava se naziva reverzija. Ova pojava je karakteristična kod ulja koja sadrže linolensku kiselinu (npr. sojino ulje) i usporava se djelomičnom hidrogenacijom ulja kako bi se uklonila linolenska kiselina ili primjenom aditiva koji produžuju održivost ulja.

2.4.2. Enzimski i mikrobiološki procesi

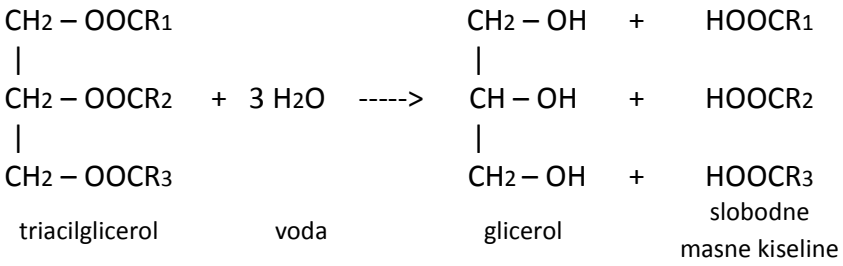
Ova vrsta kvarenja nastaje u uljima i mastima djelovanjem enzima ili mikroorganizama još dok je u plodovima ili sjemenkama i nastavlja se tijekom skladištenja, stoga je vrlo važno sjemenke pravilno skladištiti (temperatura, pH, voda), jer prirodnim disanjem sjemena dolazi do oslobađanja topline i aktivnosti enzima.

Enzimske i mikrobiološke procese dijelimo na:

- hidrolitičku razgradnju i
- β – ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja

To je reakcija hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisutnost vode i povišene temperature. Cijepa se esterska veza između masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triglicerida (triacilglicerola) i nastaju slobodne masne kiseline **(Slika 9)**.

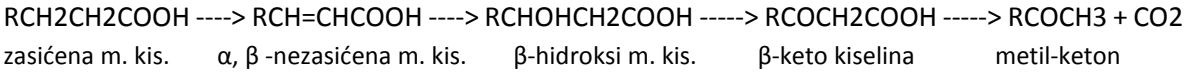


Slika 9 Hidrolitička razgradnja triacilglicerola

Rezultat hidrolitičke razgradnje ulja je povećanje kiselosti ulja i nastajanje diglicerida, monoglicerida i glicerola, stupanj hidrolitičke razgradnje se određuje udjelom slobodnih masnih kiselina u ulju. Hladno prešana i nerafinirana ulja ne smiju sadržavati više od 2 % slobodnih masnih kiselina, izraženih kao oleinska kiselina (NN 41/12). Za zaustavljanje procesa hidrolitičke razgradnje potrebno je inaktivirati lipolitičke enzime zagrijavanjem na temperaturu iznad 80 °C ili hlađenjem na temperaturu ispod - 20 °C.

β – ketooksidacija

Uzročnici ovog kvarenja su mikroorganizmi, točnije djelovanjem plijesni *Aspergillus* i *Penicillium*, te bakterija *Bacillus masantericus* i *Bacillus subtilis* na zasićene masne kiseline nastaju primarni produkti β – keto kiseline i metil ketoni kao sekundarni produkti reakcije **(Slika 10)**. Posljedica ove reakcije je užeglost ulja i masti koja nastupa već pri niskim koncentracijama produkata β – ketooksidacije. Reakcija se sprječava termičkom obradom (pasterizacija, sterilizacija), sniženjem pH i primjenom aditiva (konzervansa).



Slika 10 Reakcija β-ketooksidacije

2.5. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost najviše ovisi o vrsti ulja, odnosno o sastavu masnih kiselina, zato što su polinezasićene masne kiseline reaktivnije od mononezasićenih i zasićenih masnih kiselina i oksidiraju puno brže. Ovisi i o raspodjeli masnih kiselina u molekuli triglicerida, te o prisutnosti različitih komponenti u uljima koje mogu pogoršavati održivost (slobodne masne kiseline, metali i dr.) i koje mogu poboljšavati održivost (tokoferoli, karotenoidi, fenolne skupine i dr.).

Oksidaciona stabilnost masti zavisi o geometrijskoj izomeriji i broju dvostrukih veza (Swern, 1972.). Stabilnost biljnih ulja prema oksidacijskom kvarenju može se poboljšati dodatkom antioksidansa, a to su tvari koje inhibiraju, usporavaju autooksidacijsko kvarenje ulja (Yanishlieva i Marinova, 2001.). Danas je poznat veći broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste kao inhibitori autooksidacije biljnih ulja (Merill i sur., 2008.). Na terminaciju, odnosno zaustavljanje oksidacije ulja važnu uslogu imaju tvari koje usporavaju propagaciju na način da deaktiviraju slobodne radikale u sastavu (Eskin i Przybylski, 2001.).

2.5.1. Antioksidansi

Antioksidansi su reducirajuće tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja (Yanishlieve i Marinova, 2001.). Kako bi se što uspješnije spriječio autokatalitički proces, antioksidanse je potrebno što je prije moguće dodati u proizvedeno ulje, ali djelovanje antioksidansa ne ovisi samo o vremenu kada će se dodati u ulje, već i o:

- sastavu masnih kiselina u ulju,
- udjelu antioksidanasa već prisutnih u ulju,
- svojstvima antioksidansa,
- dodanoj koncentraciji antioksidansa i
- uvjetima čuvanja ulja.

Povećanjem koncentracije antioksidansa povećava se i oksidacijska stabilnost ulja, no neki aktioksidansi u većoj koncentraciji djeluju suprotno te ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja (Bandoniene i sur., 2000.). Djelovanje antioksidansa (prirodnog i sintetskog) na poboljšanje oksidacijske stabilnosti ili održivosti istraživanih mješavina biljnih ulja odredeno je stabilizacijskim ili zaštitnim faktorom (PF) prema izrazu **(4)** (Yanishlieva i Marinova, 2001):

$$PF = IP_{inh} / IP_0 \qquad \textbf{(4)}$$

IP_{inh} = indukcijski period uzorka ulja s dodatkom antioksidansa (h),

IP_0 = indukcijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h).

Zaštitni faktor (PF) označava koliko se puta poveća stabilnost ili održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa.

Antioksidansi mogu djelovati u različitim fazama procesa oksidacijskog kvarenja, kao što su inicijacija i propagacija autooksidacije, stvaranje singlet kisika, razaranje hidroperoksida na kratkolančane spojeve itd., stoga ih dijelimo na primarne i sekundarne antioksidanse prema mehanizmu njihovog djelovanja **(Slika 11)**. Primarni antioksidansi rade na principu „hvatača“ radikala (radikal – akceptor), tj. doniraju vodikov atom slobodnom radikalu ili idu u reakciju zajedno sa slobodnim radikalima stvarajući stabilan inaktivni produkt koji se ne može uključiti u proces oksidacije i tako „hvataju“ alkil radikale (R·) u fazi inicijacije, te u fazi propagacije peroksi radikale (ROO·).

AH + ROO· -----> A· + ROOH
AH + R· -----> A· + RH

A· + ROO· -----> ROOA
A· + R· -----> RA

Slika 11 Mehanizam djelovanja primarnih i sekundarnih antioksidansa

U primarne antioksidanse ubrajamo **(Tablica 3)**: fenole, galate, hidrokvinoni, BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), tokoferole, flavonoide, askorbate, ekstrakte biljaka i začina. Sekundarni antioksidansi također pomažu sprječavanju procesa oksidacije, ali oni „hvataju“ ione metala prisutne u ulju i na taj način sprječavaju oksidaciju. U sekundarne antioksidanse ubrajamo: etilendiamin tetra – octenu kiselinu (EDTA), limunsku kiselinu, fosfornu kiselinu i određene aminokiseline. Ipak, za uspješno zaustavljanje procesa oksidacije ove dvije vrste antioksidansa se najčešće koriste zajedno.

Uobičajeno je da sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidacijsku aktivnost samo u prisustvu neke druge manje komponente npr. limunska kiselina postaje aktivna samo u prisustvu metalnih iona, a askorbinska kiselina je aktivna u prisustvu tokoferola ili nekih drugih primarnih antioksidanasa (Gordon, 2001.).

Tablica 3 Primarni antioksidansi koji se primjenjuju u hrani (Shahidi, 2005.)

Prirodni	Sintetski
Karotenoidi	Butil hidroksianisol
Flavonoidi	Butil hidroksitoluen
Fenolne kiseline	Etoksiquin
Tokoferoli i tokotrienoli	Propil galat
	Tercijarni butilhidrokinon

Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi su uglavnom fenoli, dobivaju se kemijskim putem i ne nalaze se prirodno u hrani. Ubrajamo ih u aditive, stoga je njihovo dodavanje u hranu strogo propisano i kontrolirano Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 62/2010.

Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetski antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, nadomjesci i lijekovi, ali je opće prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vrijedniji, učinkovitiji i sigurniji od sintetskih (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001.).

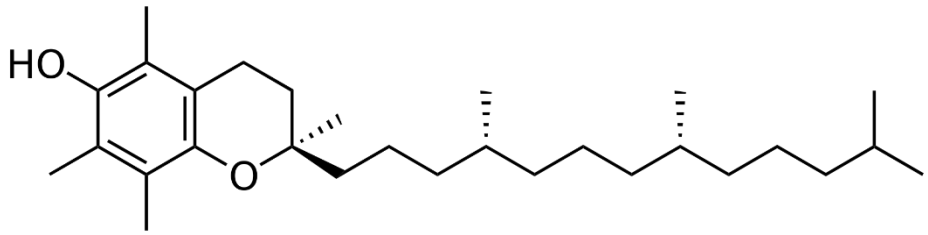
U sintetske antioksidanse ubrajamo butil hidroksianisol (BHA; E320), butil hidroksitoluen (BHT; E321), alkil esteri galne kiseline (propil galat – PG; E310, oktil galat – OG; E311, dodecil galat; E 312), tercijarni butilhidrokinon (TBHQ; E319).

Prirodni antioksidansi

Prirodne antioksidanse možemo naći među aminokiselinama i dipeptidima, hidrolizatima proteina, među proteinima topljivim u vodi, fosfolipidima, anorganskim solima, tokoferolima i njihovim derivatima, karotenoidima, askorbinska kiselina (Wijerante i sur., 2006.).

Od prirodnih antioksidanasa najpoznatiji i najčešće primjenjivani su tokoli (tokoferoli i tokotrienoli). Prirodno se nalaze u uljima i mastima kao neosapunjive tvari, a po kemijskom sastavu su molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. U prirodi postoji osam tokola, od toga četiri tokoferola koji se razlikuju po rasporedu metilnih grupa i četiri tokotrienola koji su slični tokoferolima, ali imaju tri nezasićene veze u lancu. Tokoferoli i tokotrienoli se pojavljuju u α, β, γ i δ oblicima, dakle ovisno o broju i položaju metilne skupine na kromanolnom prstenu, oni se razlikuju u svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju, te imaju mnogo izomera koji se razlikuju brojem i položajem metilne skupine na pobočnom lancu.

Najbolje vitaminsko djelovanje ima α – tokoferol **(Slika 12)** koji je dobio naziv vitamin E. Vitamin E se degradira na povišenoj temperaturi i u prisutstvu UV svjetlosti (Sabliov i sur., 2009.). Najbolje antioksidacijsko djelovanje imaju γ – tokoferol i δ – tokoferol.



Slika 12 α - tokoferol

U prirodne antioksidanse još ubrajamo:

- vitamine A, C i E,
- astaksantin (karotenoid),
- karotenoide- provitamine A,
- minerale: selen i cink,
- bioflavonoide,
- aminokiselinu cistein,
- biljke i biljne ekstrakte (ekstrakt sjemenki grožđa, češnjak, zeleni čaj i dr.),
- alfa lipoičnu kiselinu i dr.

Vitamin C (askorbinska kiselina) reagira s kisikom zaostalim u zatvorenim pakiranjim i na taj način spriječava reakcije oksidacije. Topljiv je u vodi i prisutan u svježem voću i povrću. Astaksantin se dobiva iz algi i on je karotenoid koji se u organizmu ne pretvara u vitamin A. Astaksantin se potvrdio kao vrlo snažni antioksidans za zaštitu kože i očiju od štetnog djelovanja sunca. Likopen je najjači antioksidans iz skupine karotenoida i najviše ga ima u rajčici. Likopen inaktivira slobodne radikale, štiti lipide, proteine i DNA od oksidacije, te je inaktivator kisika.

Ekstrakt ružmarina pokazuje najbolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α – tokoferol, askorbil palmitat i limunsku kiselinu. U kombinaciji sa aksorbil palmitatom i limunskom kiselinom pokazuje povećanje antioksidacijskog efekta. U kombinaciji sa α – tokoferolom otkriven je negativan sinergistički učinak (Hraš i sur., 2000.).

2.5.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali u kombinaciji s nekim antioksidansima produžuju njegovo djelovanje. Imaju tri načina djelovanja:

- vežu ione metala, inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,

- daju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju vrijeme njegovog trajanja,
- sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida – sinergist se veže s radikalom antioksidansa i zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

Najčešće korišteni sinergisti su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropil citrat, askorbil palmitat i lecitin, a nazivamo ih još i sekundarnim antioksidansima. Ne djeluju svi sinergisti sa svakim antioksidansom, određeni sinergisti s antioksidansima ubrzavaju proces autooksidacije.

Isto tako postoje čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja i nazivaju se prooksidansi. U prooksidanse ubrajamo:

- temperaturu,
- svjetlost,
- prisutnost slobodnih masnih kiselina,
- tragove metala i
- neke pigmente.

Djelovanje prooksidanasa je svojstveno po tome što skraćuju indukcioni period autooksidacije ili ga potpuno uklanjaju i tako kataliziraju proces oksidacije (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980.).

Povišene temperature ubrzavaju proces autooksidacije i razgradnje hidroperoksida, a temperature ispod – 20 °C usporavaju proces autooksidacije. Kako bismo sprječili prooksidacijsko djelovanje svjetlosti na ulje, potrebno je ulje skladištiti i čuvati u odgovarajućoj ambalaži (PET, tamna staklena), jer je svjetlost prooksidans, bez obzira na valnu duljinu, kao i tragovi metala u ulju koji su prooksidansi već u vrlo malim koncentracijama. Princip njihovog djelovanja je reakcija iona metala s hidroperoksidima, te nastaju slobodni radikali **(5)**.

$$Cu^{+} + ROOH \text{ -----> } Cu^{++} + OH^{-} + RO\cdot \qquad \textbf{(5)}$$

Nastaje autokatalizirana reakcija oksidacije ulja. Nemaju svi ioni metala jednako prooksidacijsko djelovanje **(6)**, a njihovo djelovanje se može spriječiti dodavanjem spojeva koji vežu metalne ione u kompleks i na taj način ih inaktiviraju.

$$Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al \qquad \textbf{(6)}$$

Djelovanjem svjetlosti na ulje koje sadrži klorofil, klorofil postaje prooksidans. I hem – spojevi također imaju prooksidacijsko djelovanje i sastavni su dio koncentriranih juha i proizvoda od mesa.

2.6. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Metode za određivanje stupnja oksidacije biljnih ulja su podjeljene u tri grupe:

- senzorske metode,
- fizikalne metode i
- kemijske metode.

Metode koje se primjenjuju za određivanje održivosti ulja rade na principu ubrzane oksidacije ulja pod utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces, te se nikad ne primjenjuje samo jedna metoda za određivanje ukupne slike stupnja nastale oksidacijske promjene.

Senzorske metode

Senzorske metode se zasnivaju na određivanju prisutnosti naugodnog užeglog mirisa i okusa ulja nastalog reakcijama oksidacije. Senzorska ispitivanja su subjektivna i nedovoljna za donošenje konačne ocjene nekog proizvoda, ali su vrlo važna pri ispitivanju kvalitete ulja.

Fizikalne metode

UV spektrofotometrija je fizikalna metoda koja radi na principu zavisnosti apsorbance od valne dužine zračenja koje je prošlo kroz analizirani uzorak. Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u ultraljubičastom području. Primarni produkti oksidacije pokazuju maksimum apsorpcije na 232 nm, a sekundarni produkti na 270 nm, njihov odnos je izražen kao R vrijednost **(7)**:

$$R - \text{vrijednost} = A_{232}\ \text{nm} / A_{270}\ \text{nm} \qquad \textbf{(7)}$$

A_{232} nm – apsorbancija na 232 nm

A_{270} nm – apsorbancija na 270 nm

Što je vrijednost R niža, to je ulje lošije kvalitete. Ova metoda se primjenjuje za određivanje oksidacijskog stupnja kod sirovih ulja, a ostale fizikalne metode, koje se primjenjuju za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja, prikazane su u **Tablici 4.**

Tablica 4 Fizikalne metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Fizikalne metode	Ispitivani parametri
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	Malonaldehidi i sekundarni produkti
Indeks refrakcija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

Plinska kromatografija se primjenjuje za određivanje oksidacijskih promjena kod čistih ulja i masti, jer je otežano praćenje kompleksnih lipidnih spojeva, pretežno se koristi za određivanje hlapljivih spojeva.

Kemijske metode

Kemijske metode se najčešće primjenjuju za određivanje stupnja oksidacije masti i ulja **(Tablica 5)**, točnije određivanje peroksidnog broja je najstarija i najprimjenjivanija metoda. Peroksidnim brojem se određuju primarni produkti oksidacije (peroksidi).

Najviše se primjenjuju metode Lea i Wheeler-a. To su jodometrijske metode po kojima se određuje količina joda kojeg iz kalij-jodida oslobode peroksidi sadržani u ulju (Gunstone, 2004.). Primjenjuju se još i kolorimetrijske metode koje se temelje na oksidaciji željeza (II) soli u željezo (III) i mjenjanjem obojenja. Anisidinskim brojem (Abr) određujemo količinu sekundarnih produkata, a temelji se na reakciji viših nezasićenih aldehida sa *p*- anisidinom u kiselom mediju. Totox brojem **(8)** određujemo količinu primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, tako što se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisisidinskog broja.

$$OV\ (totox\ broj) = 2\ Pbr\ +\ Abr \qquad \textbf{(8)}$$

- Pbr – peroksidni broj
- Abr – anisidinski broj

Tablica 5 Kemijske metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Kemijska metoda	Ispitivani parametar
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehidi
Karbonilni broj	Svi spojevi sa karbonilnom grupom
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbonilni spojevi
Kreis test	Epoksialdehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili totox broj	Ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije

2.7. ODRŽIVOST ILI OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja predstavlja vremenski period kroz koji se ulja mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Prilikom skladištenja ulja, vrlo je važno utvrditi oksidacijsku stabilnost ulja, kako bismo unaprijed poznavali vrijeme čuvanja proizvoda bez promjena njegove kvalitete, te definirali rok trajanja ulja. Određivanje oksidacijske stabilnosti se provodi primjenom određenih metoda koje rade na principu ubrzavanja procesa oksidacije ulja, djelovanjem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju proces. U praksi ne postoji jedinstvena metoda pomoću koje dobivamo ukupne podatke o oksidacijskim promjenama, već se koristi više metoda koje daju ukupne podatke **(Tablica 6)**, odnosno sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije.

Tablica 6 Analitičke metode za određivanje održivosti masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000.)

Analitička metoda	Ispitivani parametri
Oven test	Peroksidi, promjene senzorskih svojstava
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

Oven test (Schaal oven test)

Uzorci ulja se zagrijavaju i drže na temperaturi od 60 ili 63 °C u termostatu ili sušioniku, te se u određenim vremenskim razmacima (24 h) prati porast peroksidnog broja i senzorske promjene.

Rezultat se izražava kao:

- broj dana za koji peroksidni broj dostigne određenu vrijednost,
- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena (jestiva ulja obično četiri dana) na temperaturi od 63 °C,
- vrijeme u danima za koje se utvrdi pojava užeglosti putem senzorskih ispitivanja.

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

Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)

Kod ovog testa uzorci biljnih ulja se zagrijavaju na 97,8 °C i kroz njih prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci ulja uzimaju se određenim vremenskim razmacima i određuje se peroksidni broj. Održivost ulja se najčešće određuje do peroksidnog broja 5 mmol O_2/kg. Kvalitetna ulja koja su dobre održivosti nakon 8 sati ovog testa moraju imati peroksidni broj manji od 5 mmol O_2/kg (Rade i sur., 2001.).

Rancimat test

Rancimat test se temelji na ubrzanoj oksidaciji biljnih ulja pri određenim uvjetima. Rancimat uređajem određujemo oksidacijsku stabilnost ulja pri povišenoj temperaturi (100 °C, 110 °C, 120 °C) uz konstantan dovod zraka. Ovim testom se umjesto peroksidnog broja određuje povećanje udjela mravlje i drugih nižemolekularnih hlapljivih kiselina, koji su produkti oksidacije, one se uvode u deioniziranu vodu kojoj se mjenjaju svojstva elektroprovodljivosti. Ovi produkti određuju se konduktometrijski s automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena.

Indukcijski period (IP), određen na ovaj način, označava se kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001.). Što je vrijeme indukcije dulje u satima, ulje ima bolju održivost odnosno oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je proizvesti hladno prešano ulje koštice marelice na pužnoj preši, te ispitati utjecaj procesnih parametara prešanja (temperatura glave preše, veličine otvora glave preše za izlaz pogače i brzine pužnice - frekvencije elektromotora) na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja koštice marelice. Također, u ovom radu, zadatak je bio ispitati i oksidacijsku stabilnost (održivost) proizvedenog ulja, sa i bez dodanog antioksidansa. U tu svrhu potrebno je ispitati utjecaj pojedinog antioksidansa na održivost proizvedenog ulja primjenom Oven testa (63 °C) i praćenjem promjene vrijednosti peroksidnog broja uzorka čistog hladno prešanog ulja koštice marelice i uzoraka s dodanim prirodnim antioksidansima tijekom četiri dana trajanja testiranja.

Prije određivanja oksidacijske stabilnosti određeni su parametri kvalitete hladno prešanog ulja koštice marelice primjenom standardnih metoda, određeni su: peroksidni broj, udio slobodnih masnih kiselina, netopljive nečistoće, udio vlage u ulju, jodni broj, saponifikacijski broj, anisidinski i totox broj. Udio ulja u sjemenkama marelice i pogači određen je metodom po Soxlet-u.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

KOŠTICE MARELICE

Koštice marelice su prikupljene na području grada Osijeka i njegove okolice, očišćene od mezokarpa i osušene u hladu na prirodnom vjetru, te čuvane neoljuštene u vrećama na tamnom i suhom mjestu pri sobnoj temperaturi. Neposredno prije prerade koštice su mljevene kako bi se oslobodila sjemenka za proizvodnju hladno prešanog ulja.

ANTIOKSIDANSI

Ekstrakt ružmarina OxyLess®.CS

Oxy Less CS je prirodni ekstrakt listova ružmarina (*Romarinus officinalis* L.), proizveden u praškastom obliku u Francuskoj (tvrtka NATUREX). Udio karnosolne kiseline je 18 do 22 %, zaštitni faktor (PF) je veći od 12 %, suha tvar ekstrakta je od 92 do 98 %. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelima 0,1 % i 0,2 % računato na masu ulja.

Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja je prirodni ekstrakt dobiven iz listova zelenog čaja (*Camellia sintensis* L.) i proizveden je u praškastom obliku, proizvođač je tvrtka NATUREX. Udio epigalokatehin galata (EGCG) veći je od 45 %, udio ukupnih polifenola veći je od 98%, udio kofeina manji je od 2 %, a udio katehina veći je od 80 %.

Ekstrakt nara

Ekstrakt nara je prirodni ekstrakt, dobiven iz voća nara (*Punica granatum L.*). Prema sastavu pripada maltodekstrinima. Proizveden je, također, u Francuskoj (NATUREX) u praškastom obliku i topljiv je u vodi. Sadrži više od 10 % elagične kiseline, a udio suhog ekstrakta je veći od 95 %.

Eterično ulje majčine dušice

Eterično ulje majčina dušica je dobiveno parnom destilacijom majčine dušice (*Thymus serpyllum*) i proizvedeno je kao nusprodukt u tvornici čaja Fructus (Bačka Palanka, Srbija). DPPH metodom je određena antioksidacijska aktivnost eteričnog ulja majčine dušice i iznosi IC_{50} = 0,0996 (mg/ml).

Eterično ulje origana

Eterično ulje origana dobiveno je parnom destilacijom listova origana (*Origanum vulgare* L.). Proizven u Novom Sadu (Srbija) u obliku tekućine žute boje. Sadrži više od 70 % karvakrola.

Eterično ulje bosiljka

Eterično ulje bosiljka također je dobiveno parnom destilacijom jednogodišnje aromatične biljke bosiljka (*Ocimum basilicum*), odnosno njenih cvjetnih vrhova. Eterično ulje koje smo koristili u ovom ispitivanju je proizvedeno od strane Instituta za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija). DPPH metodom je određena antioksidacijska aktivnost i iznosi IC_{50} = 0,0285 (mg/ml).

Eterično ulje rtanjskog čaja

Eterično ulje rtanjskog čaja je dobiveno parnom destilacijom cvjetnih vrhova rtanjskog čaja (*Satureja Montana).* Eterično ulje koje smo koristili u ovom ispitivanju je proizvedeno od

strane Instituta za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija). DPPH metodom je određena antioksidacijska aktivnost eteričnog ulja rtanjskog čaja i iznosi IC_{50} = 0,0629 (mg/ml).

PUŽNA PREŠA

Za proizvodnju hladno prešanog ulja koštice marelice, u ovom radu je korištena kontinuirana pužna preša koju je proizvela tvrtka „ElektroMotor-Šimon“. Tip preše je SPU 20 **(Slika 13)**, a kapacitet prešanja je 20 - 25 kg/h, snage 1,5 kW.



Slika 13 Pužna preša

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači

Udio ulja u sjemenkama i udio ulja zaostalog u pogači nakon prešanja određen je standardnom metodom ekstrakcije ulja po Soxlet-u. Aparatura za ekstrakciju ulja sastoji se od: tikvice, ekstraktora i hladila, a za ekstrakciju smo koristili otapalo petrol – eter. Na osušenu i izvaganu tikvicu stavlja se ekstraktor s tuljkom u kojem je uzorak. U ekstraktor je dodano otapalo, te je na njega pričvršćeno hladilo i provedena ekstrakcija. Na kraju se otapalo predestilira, a zaostalo ulje u tikvici se suši i važe. Udio ulja računa se prema formuli **(9)**:

$$\text{Udio ulja \%} = (a - b) \cdot 100 / c \qquad \textbf{(9)}$$

gdje je:

a – masa tikvice sa uljem (g);

b – masa prazne tikvice (g);

c – masa uzorka koji se ispituje (g).

3.2.2.2. Određivanje stupnja djelovanja preše

Na temelju udjela ulja u sirovini i dobivenoj pogači, može se izračunati prinos prešanog ulja, odnosno stupanj djelovanja prešanja (Dimić i Turkulov, 2000.).

Količina prešanog ulja (%) izračunava se primjenom formule **(10)**:

$$U = U_0 - U_P \cdot (a / b)\ (\%) \qquad \textbf{(10)}$$

gdje je:

U- količina prešanog ulja (%);

U_0- udio ulja u sirovini (%);

U_P- udio ulja u pogači (%);

a- suha tvar u sirovini (%);

b- suha tvar u pogači (%).

Stupanj djelovanja prešanja (P) izračunava se primjenom formule **(11)**:

$$P = (U / U_0) \cdot 100\ (\%) \qquad \textbf{(11)}$$

gdje je:

U- količina prešanog ulja (%);

U_0- udio ulja u sirovini (%).

3.2.2.3. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj je indikator oksidacijskog kvarenja biljnih ulja, odnosno njihove užeglosti i njegovo određivanje je jedna od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oskidacije ulja. U ovom ispitivanju peroksidni broj je određen standardnom metodom – Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijski određivanje točke završetka prema zahtjevima norme HRN EN ISO 6885:2007 (HRN, 2007.). Rezultat je izražen kao broj mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O_2/kg).

Peroksidni broj se određuje na način da se uzorak ulja otopi u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma, promiješa i dodaje se KI. Točno jednu minutu se uzorak miješa rukom, a zatim se razrijedi prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom, te dodajemo otopinu škroba koja služi kao indikator. Djelovanjem peroksida oslobađa se jod iz otopine kalij

jodida koji se zatim određuje titracijom s natrij-tiosulfatom. Na isti način provodi se slijepa proba, ali bez ulja.

Peroksidni broj su mL 0,002 M otopine natrij tiosulfata potrebnog za redukciju one količine joda koji oslobodi 1g masti ili ulja iz kalij jodida ,a izražava se prema formuli **(12)**:

$$Pbr = (V_1 - V_0) \cdot 5 / m \text{ (mmol } O_2/kg) \quad \textbf{(12)}$$

gdje je:

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

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

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje vlage u ulju

Količina vlage i hlapljivih tvari je važan pokazatelj kvalitete sirovih i rafiniranih biljnih ulja. Pri određenim uvjetima i uz prisustvo vlage u ulju može doći do hidrolitičkih promjena, što rezultira porastom kiselosti ulja tj. povećava se udio slobodnih masnih kiselina. Isto tako, može doći do zamućenja ulja, te samim time i do smanjenja senzorske kvalitete ulja. Metoda za određivanje vlage i isparljivih tvari u ulju temelji se na isparavanju vode i hlapljivih tvari iz ulja zagrijavanjem u sušioniku pri točno definiranim uvjetima. Dolazi do gubitka mase (izražen u %) pri zagrijavanju na 103 ± 2 °C, do konstantne mase. Gubitak mase utvrđuje se vaganjem.

Udio vlage u ulju računa se prema formuli **(13)**:

$$\% \text{ vlage i isparljivih tvari} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad \textbf{(13)}$$

gdje je:

m_0 – masa staklene posudice (g);

m_1 – masa staklene posudice i uzorka (g);

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

Određivanje količine netopljivih nečistoća u ulju

Udio netopljivih nečistoća u ulju dobre kvalitete je često niži od 0,03 %. Količina netopljivih nečistoća, kao uvjet kvalitete ulja, limitirana je kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih ulja određenim Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12). Netopljive

nećistoće u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 663: 1992 (HRN, 1992.).

Metoda određivanja količine netopljivih nečistoća u ulju radi na principu da se uzorak za ispitivanje tretira odgovarajućim organskim otapalom za lipide kao što je n-heksan ili petrol-eter. Dobivena otopina se filtrira kroz stakleni filter lijevak sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom. Zaostali netopljivi talog na filteru se suši do konstantne mase i važe.

Udio netopljivih nečistoća u ulju izražava se kao % netopljive nečistoće, a računa se prema formuli **(14)**:

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \cdot 100 \qquad \textbf{(14)}$$

gdje je:

m_0 – masa uzorka (g);

m_1 – masa osušenog filter - lijevka (g);

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

Određivanje slobodnih masnih kiselina

Slobodne masne kiseline nastaju kao produkti hidrolitičke razgradnje triglicerida i njihov udio ovisi o načinu dobivanja ulja, o upotrebljenim sirovinama i uvjetima čuvanja, te se može izraziti kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj ili
- % SMK (izražen kao oleinska kiselina).

Navedene vrijednosti mogu se dobiti istim postupkom određivanja i mogu se preračunati jedna u drugu. Slobodne masne kiseline u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 660:1996 pod nazivom Određivanje kiselinskog broja i kiselost (HRN, 1996.).

Metoda se zasniva na principu titracije ulja s otopinom natrij hidroksida c (NaOH) = 0,1 mol/L. Izvagan uzorak ulja prelije se s neutralnom smjesom etera i etanola te promućka. Zatim se doda nekoliko kapi otopine fenolftaleina i titrira sa 0,1 M otopinom NaOH do promjene boje. Udio slobodnih masnih kiselina je izražen kao % SMK izražene kao oleinska kiselina, a računa se prema formuli **(15)**:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m \quad \textbf{(15)}$$

gdje je:

V – utrošak otopine natrijevog hidroksida za titraciju uzorka (mL);

c – koncentracija otopine natrijevog hidroksida utrošenog za titraciju (0,1 mol/L);

M – molekularna masa oleinske kiseline (282 g/mol);

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje anisidinskog broja (Abr)

Određivanje anisidinskog broja našlo je široku primjenu kod ispitivanja kvalitete sirovih i jestivih ulja, jer omogučuje potpuniju procjenu kvalitete. Iako zakonski propisi kvalitete za anisidinski broj nemaju ograničenja, smatra se da bi kod ulja dobre kvalitete anisidinski broj trebao biti manji od 10.

Anisidinski broj (Abr) omogućuje direktno određivanje sadržaja nehlapljivih karbonilnih spojeva, tj. sekundarnih produkata oksidacije, koji su prisutni u ulju, a nastali su razgradnjom primarnih produkata oksidacije. Određivanje ove vrijednosti se zasniva na reakciji para-anisidina s višim nezasićenim aldehidima (2, 4-dienal i 2-enal) pri čemu nastaju Schiffove baze koje apsorbiraju u UV području na valnoj duljini od 330 do 350 nm. Povećanje apsorbancije otopine ulja na 350 nm, uslijed reakcije s para-anisidinom, je mjerilo količine prisutnih karbonila. Vrijednost ove apsorbancije povećana 100 puta daje anisidinski broj.

Uzorak ulja za ispitivanje se otopi u odgovarajućem otapalu, doda se reagens p-anisidina u kiseloj sredini i nakon 10 minuta se mjeri apsorbancija na valnoj duljini od 350 nm. Povećanje apsorbancije u odnosu na slijepu probu, koja se priprema na isti način i pri istim uvjetima, ali bez uzorka, daje podatak o vrijednosti anisidinskog broja. U praksi se anisidinski broj izražava na osnovu 1 g uzorka za ispitivanje u 100 mL otopine.

Anisidinski broj u uzorcima biljnih ulja je određivan primjenom standardne metode prema normi ISO 6885 pod nazivom Određivanje anisidinskog broja (ISO, 2006.)

Anisidinski broj, izražen kao 100 puta apsorbancija 1 % otopine na 350 nm računa se po formuli **(16)**:

- za spektrofotometar sa jednim snopom

$$\text{Abr} = \frac{100 \cdot 0{,}01025}{m} \cdot \left[1{,}2 \cdot \left(A_1 - A_2 - A_0\right)\right] \quad \textbf{(16)}$$

gdje je:

m – masa uzorka (g);

A_0 – apsorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji nije reagirao;

A_1 – absorbancija otopine uzorka za ispitivanje koji je reagirao;

A_2 – apsorbancija slijepe probe.

Određivanje totox broja

Totox brojem određujemo količinu primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja, tako što se zbroje vrijednosti peroksidnog i anisisidinskog broja. Totox broj izračunava se prema formuli **(17)**:

$$\text{OV (totox broj)} = 2\ \text{Pbr} + \text{Abr} \qquad \textbf{(17)}$$

gdje je:

Pbr – peroksidni broj;

Abr – anisidinski broj.

3.2.2.4. Određivanje karakteristika za identifikaciju ulja

Određivanje jodnog broja

Jodni broj ukazuje na nezasićenost masti ili ulja, odnosno ukazuje na prisustvo nezasićenih veza masnih kiselina u molekuli triacilglicerola. Jodni broj je količina joda u gramima koja se veže na 100 g ulja ili masti (g / 100g). Princip metode određivanja jodnog broja zasniva se na vezanju joda na dvostruke veze masne kiseline, te iz njegove vrijednosti dobivamo uvid u stupanj nezasićenosti ulja ili masti. Veća vrijednost jodnog broja predstavlja prisutnost više nezasićenih masnih kiselina. Na ulje se djeluje smjesom halogena, a nakon adicije se višak halogena određuje titracijom s natrij tiosulfatom.

Uzorak ulja se otopi u kloroformu, a zatim se otopini doda otopina jodnog monobromida, promućka, zatvori staklenim čepom i ostavi u tamnom prostoru pola sata. Zatim se otopini doda KI i prethodno prokuhana i ohlađena destilirana voda i vrši se titracija s otopinom natrij tiosulfata do pojave svijetlo žute boje, nakon čega se uzorku dodaje otopina škroba i titrira se do nestanka plave boje. Slijepa proba radi se na isti način, ali bez uzorka ulja.

Jodni broj računa se prema formuli **(18)**:

$$\text{Jodni broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 0{,}01269}{c} \cdot 100 \qquad (g/100g) \qquad \textbf{(18)}$$

gdje je:

V_0 – volumen utrošene 0,1 M otopine natrij-tiosulfata za titraciju slijepe probe (mL);

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

c – masa ispitivanog uzorka (g).

Određivanje saponifikacijskog broja

Saponifikacijski broj označava broj mg KOH koji je potreban za potpunu saponifikaciju slobodnih i esterski vezanih masnih kiselina u 1 g masti. Vrijednost saponifikacijskog broja je karakteristična konstanta za pojedina ulja ili masti i ovisi o molekulskim masama masnih kiselina koje ulaze u sastav masti. Vrijednost saponifikacijkog broja je veća ukoliko je molekulska masa manja i obrnuto. Na sadržaj saponifikacijskog broja utječe i sadržaj neosopunjivih tvari, odnosno dodanih stranih primjesa.

Saponifikacija masti i ulja vrši se pomoću alkoholne otopine KOH, poznatog molariteta, a višak nevezanih hidroksida se retitrira otopinom klorovodične kiseline poznatog molariteta.

Saponifikacijski broj računa se prema formuli **(19)**:

$$\text{Saponifikacijski broj} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot 28{,}1}{m} \qquad \textbf{(19)}$$

gdje je:

V_0 – volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za titraciju slijepu probu (mL);

V_1 – volumen 0,5 M otopine HCl utrošeni za tiraciju uzorka (mL);

m – masa uzorka (g).

1 ml 0,5 m otopine HCl ekvivalentan je 28,1 mg KOH.

3.2.2.5. Određivanje antioksidacijske stabilnosti prirodnih antioksidanasa

DPPH test

DPPH test je najčešće korištena in vitro metoda za efikasno određivanje antioksidacijske aktvnosti, koja je bazirana na razmjeni H-atoma ili elektrona između molekula antioksidansa iz biljnog eteričnog ulja i DPPH radikala u otopini (Ahn i sur., 2004.). DPPH radikal

pod utjecajem reducirajućih reagenasa mijenja boju od ljubičaste do žute. Postotak promjene boje se prati spektrofotometrijski na valnoj duljini od 517 nm (Stanojević i sur., 2009).

Antioksidacijska aktivnost računa se prema formuli **(20)**:

$$\% \text{ RSC} = 100 - \frac{A_u \cdot 100}{A_S} \qquad \textbf{(20)}$$

gdje je:

A_u – apsorbancija uzorka

A_s – apsorbancija sljepe probe

Za ispitivana eterična ulja određena je IC_{50} vrijednost (koncentracija eteričnog ulja potrebna za neutraliziranje 50 % početne koncentracije DPPH radikala).

3.2.2.6. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Priprema uzorka za analizu

Prije početka ispitivanja oksidacijske stabilnosti određeni su osnovni parametri kvalitete ulja. U staklene čašice se izvaže po 30 g uzorka i dodaju se antioksidansi u točno određenim koncentracijama, te se promješaju staklenim štapićem. Uzorci se zagrijavaju na temperaturu 70 °C do 80 °C i održavaju se na toj temperaturi uz miješanje 30 minuta, kako bi nastala homogena smjesa s antioksidansima, a zatim se uzorci ohlade na sobnu temperaturu. Uzorci u čašama prekriju se satnim stakalcem i stavljaju u sušionik (Binder) čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa i bez dodanih antioksidanasa **(Slika 14)**.



Slika 14 Pripremljeni uzorci ulja sa i bez dodanih antioksidanasa

UZORCI:

1. ČISTO ULJE KOŠTICE MARELICE
2. ULJE + 0,1 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)
3. ULJE + 0,2 % Oxyless CS (ekstrakt ružmarina)
4. ULJE + 0,1 % ektrakt zelenog čaja
5. ULJE + 0,2 % ektrakt zelenog čaja
6. ULJE + 0,1 % ekstrakt nara
7. ULJE + 0,2 % ekstrakt nara
8. ULJE + 0,05 % eterično ulje majčine dušice
9. ULJE + 0,05 % eterično ulje origana
10. ULJE + 0,05 % eterično ulje bosiljka
11. ULJE + 0,05 % eterično ulje rtanjskog čaja

Oven test

Pripremljeni uzorci ulja se zagrijavaju u termostatu (Binder) pri temperaturi 63 °C uz praćenje peroksidnog broja kroz četiri dana **(Slika 15)**. Uzokovanje ulja provodi se svakih 24 sata kako bi se odredio peroskidni broj. Prethodno homogenizirani uzorci se uzorkuju u pripremljene čašice, odlije se 3 do 5 g ulja, a uzorci s uljem se vrate u termostat. Kada se temperatura uzorkovanih ulja spusti na sobnu temperaturu određuje se peroksidni broj.

Rezultati Oven testa prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O_2/kg) nakon određenog vremena stajanja u termostatu pri temperaturi 63 °C odnosno nakon četiri dana trajanja testa. Ustanovljeno je da vrijednost jednog dana održivosti biljnog ulja sa Oven testom odgovara stvarnoj održivosti ulja od 6 do 12 dana pri sobnoj temperaturi.



Slika 15 Termostat (Binder)

4. REZULTATI

Tablica 7 Utjecaj veličine otvora glave preše i temperature glave preše, kod prešanja sjemenki iz koštica marelice, na iskorištenje ulja i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja.

Uzorak	Masa polazne sirovine (kg)	Volumen sirovog ulja (mL)	Volumen ulja (centrifugiranje 4500 °/min, 5 min) (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Masa dobivene pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Stupanj djelovanja preše (%)	Pbr ($mmolO_2/kg$)	SMK (%)	Voda (%)	NN (%)
N = 8 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	150	125	33	267,06	18,61	52,22	0,0	0,370	0,076	0,35
N = 6 mm F = 20 Hz T = 80 °C	0,5	211	175	38	298,90	13,89	64,34	0,0	0,365	0,056	0,35
N = 6 mm F = 20 Hz T = 100 °C	0,5	227	210	37,5	300,76	12,41	68,14	0,0	0,375	0,079	0,26

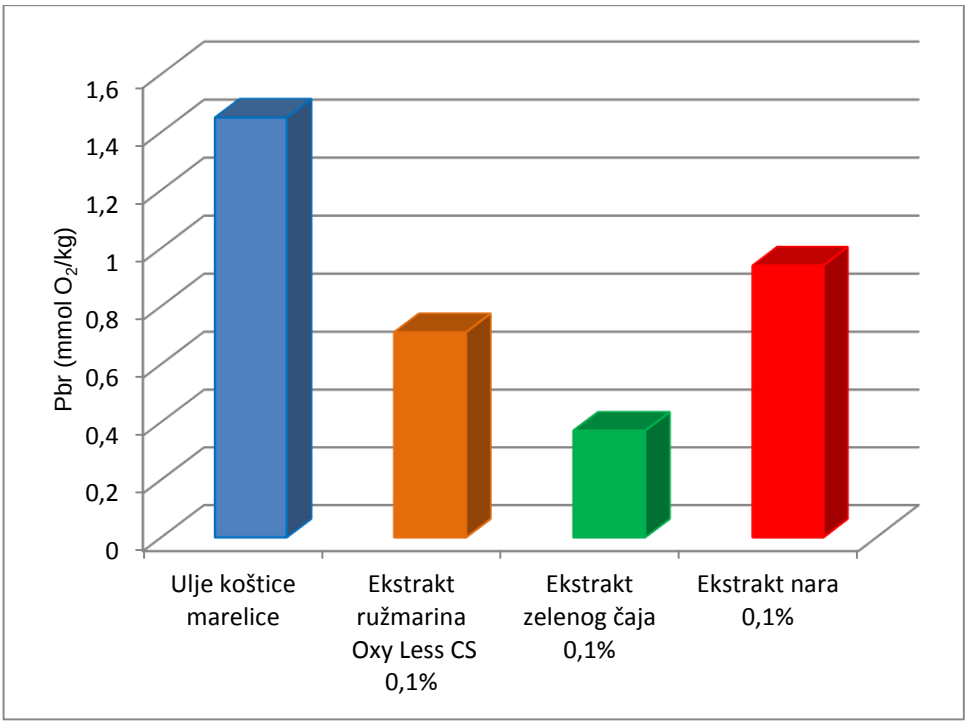
N – veličina otvora glave preše, definira promjer pogače (mm); F – frekventni regulator, regulira brzinu pužnice preše (Hz); T – temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C); Pbr – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; NN – netopljive nečistoće.

Tablica 8 Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja koštica marelice

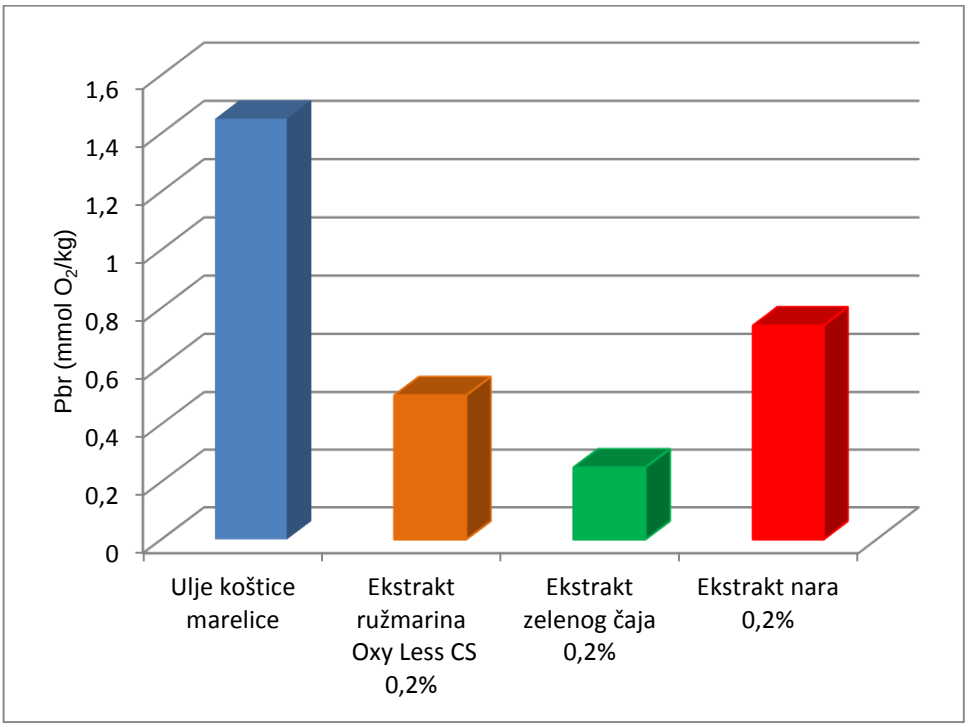
PARAMETARI KVALITETE	
Peroksidni broj (Pbr), mmol O_2/kg	0
Slobodne masne kiseline (SMK), %	0,37
Anisidinski broj	3,15
Totox broj	3,15
Jodni broj, gJ_2/100 g	114,00
Saponifikacijski broj, mg KOH/g ulja	204,00
Voda, %	0,071
Netopljive nečistoće, %	0,32

Tablica 9 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja iz koštice marelice, sa i bez dodanog antioksidansa, praćena tijekom četiri dana.

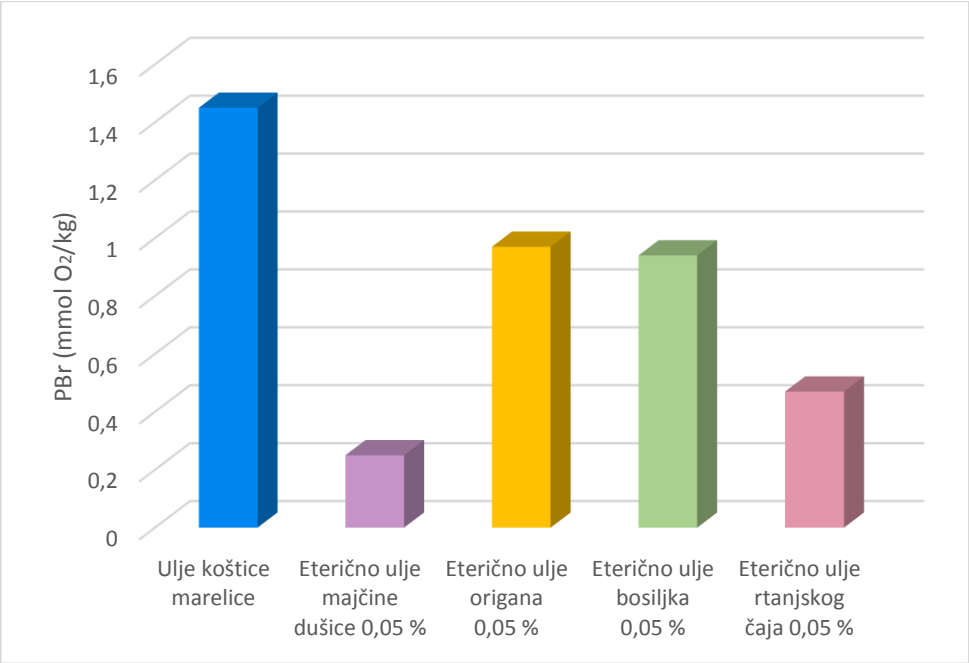
Uzorak	Udio antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2/kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Ulje koštice marelice	-	0,0	0,24	0,48	0,98	1,45
Ekstrakt ružmarina (Oxy Less CS)	0,1		0	0,24	0,49	0,71
	0,2		0	0	0,24	0,50
Ekstrakt zelenog čaja	0,1		0	0,25	0,25	0,37
	0,2		0	0	0,12	0,25
Ekstrakt nara	0,1		0	0,36	0,53	0,94
	0,2		0	0,24	0,48	0,74
Eterično ulje majčine dušice	0,05		0	0,12	0,25	0,25
Eterično ulje origana	0,05		0	0,24	0,47	0,97
Eterično ulje bosiljka	0,05		0	0,24	0,47	0,94
Eterično ulje rtanjskog čaja	0,05		0	0	0,12	0,47



Slika 16 Utjecaj dodatka antioksidansa (0,1 %) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja iz koštice marelice nakon četiri dana Oven testa



Slika 17 Utjecaj dodatka antioksidansa (0,2 %) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja iz koštice marelice nakon četiri dana Oven testa



Slika 18 Utjecaj dodatka antioksidansa (0,05 %) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja iz koštice marelice nakon četiri dana Oven testa

5. RASPRAVA

5.1. UTJECAJ PARAMETARA PREŠANJA NA ISKORIŠTENJE I PARAMETRE KVALITETE ULJA

U eksperimentalnom dijelu rada, prije procesa hladnog prešanja, određen je udio ulja u sjemenkama koštice marelice, standardnom metodom u dva ponavljanja, a izračunat je prema izrazu **(9)**, te izražen kao srednja vrijednost koja je iznosila 38,95 %. Također, nakon procesa hladnog prešanja, standardnom metodom prema izrazu **(13)** izračunat je udio vlage u ulju i dobivena je vrijednost 5,43 %.

U **Tablici 7** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja nastavka (koji regulira veličinu otvora glave preše) i temperature zagrijavanja glave preše, kod prešanja sjemenki iz koštica marelice, na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja.

Prešanjem sjemenki iz koštica marelice kod procesnih parametara N = 8 mm (nastavak za regulaciju promjera izlaza pogače), F = 20 Hz (frekvencija elektromotora tj. brzina pužnice) i T = 80 °C (temperatura zagrijavanja glave preše kod izlaza pogače) dobiven je volumen sirovog ulja 150 mL, temperatura sirovog ulja 33 °C. Nakon centrifugiranja dobivenog sirovog ulja (4500 ^{o}/min, tijekom 5 minuta) dobiveno je 125 mL hladno prešanog ulja koštice marelice (finalni proizvod). Udio ulja zaostalog u dobivenoj pogači je 18,61 %, a stupanj djelovanja preše 52,22 % izračunat prema izrazu **(11)**.

Primjenom nastavka za izlaz pogače manjeg promjera N = 6 mm, uz konstantne parametre F = 20 Hz, T = 80 °C, prešanjem je dobiven veći volumen sirovog ulja (211 mL), viša temperatura sirovog ulja 38 °C. Razlog porasta temperature sirovog ulja je taj što se primjenom nastavka manjeg promjera (6 mm) u sustavu preše postigao veći radni tlak koji dovodi do zagrijavanja mase i većeg iskorištenja ulja tijekom prešanja sjemenki koštica marelice. Centrifugiranjem ove količine sirovog ulja dobiven je veći volumen hladno prešanog ulja marelice (175 mL), manji udio ulja u pogači (13,89 %), te veći stupanj djelovanja preše (64,34 %) u odnosu na korištenje nastavka promjera 8 mm.

Kod sljedećeg ispitivanja povećana je temperatura zagrijavanja glave preše sa 80 °C na 100 °C, uz konstantne parametre N = 6 mm, F = 20 Hz, što je prešanjem dovelo do još većeg porasta volumena dobivenog sirovog ulja (227 mL), temperatura ulja je 37,5 °C. Nakon uklanjanja krutih čestica iz sirovog ulja centrifugiranjem, dobivena je veća količina hladno prešanog ulja (210 mL) u odnosu na prethodno ispitivanje. U ovako dobivenom nusproduktu

pogači je određen najmanji udio zaostalog ulja u iznosu 12,41 % pri čemu je izračunat najveći stupanj djelovanja preše (68,14 %), što je i očekivano.

Hladno prešano ulje marelice, proizvedeno ispitivanjem utjecaja procesnih parametara prešanja, pomiješano je te su određeni osnovni parametri kvalitete ulja prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN br. 41/12). Rezultati ovih analiza prikazani su u **Tablici 8**. Određeni parametri kvalitete ulja marelice pokazali su da je ulje odlične kvalitete, ispitani parametri ulja su u skladu s Pravilnikom, osim udjela netopljivih nečistoća koji je malo veći, što zahtjeva efikasnije centrifugiranje sirovog ulja. Također, na uzorku proizvedenog hladno prešanog ulja iz koštica marelice dobivenog kod ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja, ispitivane su kemijske karakteristike ulja (jodni broj i saponifikacijski broj) potrebne za njegovu identifikaciju. Vrijednost jodnog broja izračunata je iz izraza **(18)** i dobiveno je 114,00 (g I_2 /100g). Vrijednost saponifikacijskog broja izračunata je iz izraza **(19)**, te je dobiven iznos 204,00 (mg KOH/g ulja).

5.2. UTJECAJ DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA

U **Tablici 9** i na **Slikama 16 – 18** prikazana je oksidacijska stabilnost (održivost) proizvedenog hladno prešanog ulja koštice marelice, sa i bez dodanog prirodnog antioksidansa, određena Oven testom (63 °C) tijekom četiri dana, praćenjem Pbr svakih 24 sata. Iz rezultata u tablici, vidljivo je da je kod svih ispitanih uzoraka ulja, tijekom četiri dana testiranja, došlo do postupnog porasta vrijednosti Pbr. Primjenom Oven testa utvrđeno je da ulje koštice marelice ima odličnu otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Nakon četiri dana testiranja dobivena je niska vrijednost Pbr 1,45 (mmol O_2/kg) izračunata izrazom **(12)**. Dodatkom pojedinačnog ispitivanog prirodnog antioksidansa u ulje koštice marelice zapaženo je da svi dovode do određenog porasta stabilnosti ulja, tj. povećavaju otpornost ulja prema oksidacijskom kvarenju.

Korištenjem ekstrakta ružmarina Oxy Less CS, u udjelima 0,1 % i 0,2 % za stabilizaciju ulja marelice, došlo je do značajnog porasta održivosti ulja, tj. porasta otpornosti ulja prema oksidacijskom kvarenju. Nakon četiri dana testiranja dobivena je vrijednost Pbr 0,71 (mmol O_2/kg) dodatkom 0,1 % ekstrakta ružmarina i 0,50 (mmol O_2/kg) dodatkom 0,2 %. Ekstraktom zelenog čaja (0,1 % i 0,2 %) postignuta je još veća zaštita ulja marelice od oksidacijskog

kvarenja, jer nakon četiri dana testiranja Pbr iznosi 0,37 (mmol O_2/kg) kod 0,1 % i 0,25 (mmol O_2/kg) kod dodatka 0,2 % (**Slika 16** i **17**). Dodatkom ekstrakta nara (0,1 %) u ulje koštice marelice nije postignuta značajna zaštita ulja od oksidacije, Pbr je 0,94 (mmol O_2/kg) nakon četiri dana testiranja. Međutim, dodatkom 0,2 % ovog ekstrakta dolazi do produženja održivosti ulja za 50 % te je Pbr nakon četiri dana testiranja iznosio 0,74 (mmol O_2/kg) (**Slika 16** i **17**).

Primjenom eteričnog ulja majčine dušice, origana, bosiljka i rtanjskog čaja u udjelu 0,05 % došlo je do porasta stabilnosti ulja marelice. Eterično ulje majčine dušice je značajno povećalo otpornost ovog ulja prema oksidacijskom kvarenju i Pbr nakon četiri dana testiranja je 0,25 (mmol O_2/kg). Dobru efikasnost zaštite ulja marelice od oksidacije dalo je i eterično ulje rtanjskog čaja (0,05 %), gdje je Pbr 0,47 (mmol O_2/kg) nakon četiri dana testiranja (**Slika 18**). Eterična ulja origana i bosiljka pružila su podjednak porast stabilnosti ulja marelice te je Pbr 0,97 i 0,94 (mmol O_2/kg) nakon četiri dana testiranja.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi ispitivanja utjecaja procesnih parametara prešanja sjemenki koštica marelice na iskorištenje i osnovne parametre kvalitete proizvedenog ulja, te ispitivanja oksidacijske stabilnosti hladno prešanog ulja marelice, sa i bez dodatka prirodnog antioksidansa, doneseni su sljedeći zaključci:

1. Procesni parametri prešanja sjemenki marelice utječu na iskorištenje ulja.
2. Korištenjem nastavka za regulaciju izlaza pogače manjeg promjera (6 mm) došlo je do porasta količine proizvedenog sirovog ulja i hladno prešanog ulja marelice, smanjenja udjela zaostalog ulja u pogači, te porasta stupnja djelovanja pužne preše.
3. Porastom temperature zagrijavanja glave preše sa 80 °C na 100 °C tijekom prešanja sjemenki marelice došlo je do većeg iskorištenja ulja (sirovog i hladno prešanog), smanjenja ulja zaostalog u pogači, te većeg stupnja djelovanja preše.
4. Proizvedeno hladno prešano ulje marelice je odlične kvalitete, ispitani parametri su u skladu s Pravilnikom, osim udjela netopljivih nečistoća koji je malo povećan.
5. Oksidacijska stabilnost proizvedenog hladno prešanog ulja koštice marelice je odlična, nakon četiri dana Oven testa dobivena je niska vrijednost Pbr 1,45 ($mmolO_2/kg$).
6. Dodatkom ispitivanih prirodnih antioksidanasa u ulje marelice došlo je do porasta stabilnosti ulja.
7. Ekstrakt zelenog čaja (0,1 % i 0,2 %) značajno i najbolje je povećao stabilnost ulja marelice prema oksidacijskom kvarenju.
8. Zadovoljavajući učinak zaštite ulja marelice od oksidacije pružio je i ekstrakt ružmarina Oxy Less CS, kod obje koncentracije, u odnosu na primjenu ekstrakta nara.
9. Dodatak eteričnog ulja majčine dušice (0,05 %) značajno je produžio stabilnost ulja marelice u odnosu na primjenu eteričnog ulja rtanjskog čaja, origana i bosiljka.

7. LITERATURA

Ahn H , Kim J, Jo C, Kim M, Byun M: *Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity*. Food Chemistry 88, 2004.

Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis P, PR and Gruzdiene: *Preliminary screening of antioxidant stability in canola oil.* Journal of the American Oil Chemists Society 80, 2000.

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

Bolarinwa IF, Orfila C, Morgan MRA: *Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially-available in the UK.* Food Chemistry 152, 2014.

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

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

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

Dragović - Uzelac V, Bursać Kovačević D, Levaj B, Pedisić S, Mezak M, Tomljenović A: *Polyphenols and Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables Common in the Croatian Diet.* University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, 2009.

Dragović-Uzelac V, Levaj B, Mrkić V, Bursać D, Boras M: *The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region.* Food Chemistry 102, 2007.

ElektroMotor – Šimon: Preša za ulje, [15.09.2014] http://www.elektromotor-simon.com/proizvodi/masine_za_preradu/presa_za_ulje/

Erdogan-Orhan I, Kartal M: *Insights into research on phytochemistry and biological activities of Prunus armeniaca L. (apricot).* Food Research International 44, 2010.

Eskin NAM, Przybylski R: *Antioxidants and shelf life of foods.* In Eskin NAM, Robinson DS*: Food Shelf Life Stability.* CRS press, NY, Washington, 2001.

Espin JC, Soler – Rivas, Wicher HJ: *Characterization of total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2 – diphenyl – 1 – picrylhydrazyl radical.* Journal od Agricultural food Chemistry, 2000.

Frohne D, Pfander HJ: *Poisonous plants — A handbook for doctors, pharmacists, toxicologists, biologists, and veterinarians* (pp. 338), (2nd Edition). London: Manson Publishing Ltd. 2005.

Gatti E, Defilippi BG, Predieri S, Infante R: *Apricot (Prunus armeniaca L.) quality and breeding perspectives.* Journal of Food Agriculture and Environment 7, 2009.

Generalić E: "Methyl." Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar. KTF-Split, 2014. [20.07.2014] http://www.glossary.periodni.com/rjecnik.php?page=2&hr=methyl

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

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

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

Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje količine netopljivih nečistoća.* HRN EN ISO 663:1992.

Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti.* HRN EN ISO 660:1996.

Hrvatski zavod za norme: *Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje peroksidnog broja, Jodometrijsko određivanje točke završetka*. HRN EN ISO 6885:2007.

Janković J: Voćarstvo. Po stablu i 150 kilograma kvalitetne marelice, 2009. [23.09.2014] http://www.agroklub.com/vocarstvo/po-stablu-i-150-kilograma-kvalitetne-marelice/1568/

Jašić M: *Kemija hrane - Lipidi.* Tehnološki fakultet, Tuzla, 2009. [20.07.2014.] http://www.tehnologijahrane.com/hemijahrane/lipidi

Jia XY, Zhang QA, Zhang ZQ, Wang Y, Yuan JF, Wang HY, Zhao D: *Hepatoprotective effects of almond oil against carbon tetrachloride induced*. Food Chem. 125, 2011.

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

Laubli MW, Bruttal PA: *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. 63, 1986.

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

Martin-Polvillo M, Marquez – Ruiz G, Dobarganes MC: *Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long – term storage at room temperature.* Journal of the American Oil Chemists Society 81, 2004.

Merill LI, Pike OA, Ogden LV, Dunn ML: *Oxidative Stability of Conventional and High – Oleic Vegetable Oils With Added Antioxidants*. J. Am. Oil Chem. Soc. 85, 2008.

Miljković I: *Suvremeno voćarstvo*. Znanje, Zagreb, 1991.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*, Narodne novine 41/12, 2012.

O'Brien RD: *Fats and Oils: Formulating and Processing for Application*. CRC Press, Washington, 2004.

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

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

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

Sabliov CM, Fronczek C, Astete CE, Khachaturyan 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, 2009.

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

Shahidi F: *Natural antioxidants: an overview. In Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications*. Ed. Shahidi F, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1997.

Silem A, Günter HO, Einfeldt J, Boualia A: *The occurrence of mass transport processes during the leaching of amygdalin from bitter apricot kernels: detoxification and flavour improvement*. International Journal of Food Science and Technology 41, 2006.

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

Stanojević LjP, Zdravković AS, Stanković MZ, Cakić MD, Nikolić VD, Ilić DP: *Antioksidativna aktivnost vodeno-etanolnih ekstrakata iz lista koprive (Urtica dioica L.).* Savremene tehnologije 2, 2013.

Subhashinee SK, Wijeratne, Mamdouh M, Abou-Zaid, Fereidoon S: *Antioxidant Polyphenols in Almond and Its Coproducts.* J. Agric. Food Chem. 54, 2006.

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

Tuncel G, Nout MJR, Brimer L: *Degradation of cyanogenic glycosides of bitter apricot seeds (Prunus armeniaca) by endogenous and added enzymes as affected by heat treatments and particle size.* Food Chemistry 63, 1998.

Turan S, Topcu A, Karabulut I, Vural H, Hayaloglu AA: *Fatty acid, triacylglycerol, phytosterol, and tocopherol variations in kernel oil of malatya apricots from Turkey*. J. Agric. Food Chem. 55, 2007.

Vidyasagar K, Arya SS, Premevalli KS, Parihar DB, Nath H: Journal of Science and Technology 11, 73, 1974.

Vučetin N: *Neobavezne informacije na komercijalnoj ambalaži*. Info pak, 2004.

Wijerante SKS, Amarowicz R, Shahidi F: *Antioxidant Activity of almonds and Their By – products in Food Model Systems.* J. Am. Oil Chem. Soc. 83, 2006.

Yanishlieva NV, Marinova EM: *Stabilisation of edible oils with natural antioxidants.* European Journal of Lipid Science and Technology 103, 2001.

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

Zhang J, Gu HD, Zhang L, Tian ZJ, Zhang ZQ, Shi XC, Mab WH: *Protective effects of apricot kernel oil on myocardium against ischemia – reperfusion injury in rats*. Food and Chemical Toxicology 49, 2011.

Zhang QA, Zhang ZQ, Yue XF, Fan XH, Li T, Chen SF: *Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder*. Food Chem. 116, 2009.

Zöllner H, Giebelmann R: *Cyanogenic glycosides in food — Cultural historical remarks.* Deutsche Lebensmittel-Rundschau 103, 2007.