Utjecaj mikrovalnog zagrijavanja i dodatka antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost ulja pistacije

Dominković, Irena

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:756093

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

Irena Dominković

UTJECAJ MIKROVALNOG ZAGRIJAVANJA I DODATKA ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA PISTACIJE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij prehrambenog inženjerstva
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na IX sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno – tehnološkog fakulteta održanoj 23.06. 2015.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Pomoć pri izradi: *Danijela Paulik*, kemijski tehničar

UTJECAJ MIKROVALNOG ZAGRIJAVANJA I DODATKA ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST ULJA PISTACIJE

Irena Dominković, 220/DI

Sažetak: Mikrovalno zagrijavanje je moderna i široko primjenjivanja metoda za pripremanje hrane. U ovom radu je istraživan utjecaj mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije, sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista. Uzorci ulja su zagrijavani u mikrovalnoj pećnici kod različite snage uređaja u vremenu 5 minuta. Također, uzorci su zagrijavani u mikrovalnoj pećnici kod konstantne snage 300 W u različitom vremenskom periodu. Rezultati testa prikazani su vrijednostima peroksidnog broja nakon mikrovalnog zagrijavanja. Primjenom veće snage uređaja i duljeg vremena trajanja mikrovalnog zagrijavanja dolazi do povećanja oksidacijskog kvarenja ispitivanog ulja. Dodatkom antioksidanasa i sinergista postignuta je veća otpornost ulja prema oksidaciji. Nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja dobivene su niže vrijednosti peroksidnog broja u odnosu na uzorak ulja bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak). Najbolju otpornost prema oksidacijskom kvarenju pokazao je dodatak eteričnog ulja rtanjskog čaja, u odnosu na dodatak drugih ispitivanih antioksidanasa.

Ključne riječi: ulje pistacije, oksidacijska stabilnost, mikrovalno zagrijavanje, antioksidansi, sinergisti

Rad sadrži: 63 stranice
7 slika
10 tablica
80 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

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

Datum obrane: 22.09.2015.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Graduate program study of Food Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. IX held on June 23, 2015.
Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, associate prof.
Technical assistance: *Danijela Paulik*, chemical technician

THE INFLUENCE OF MICROWAVE HEATING AND ANTIOXIDANTS ADDITION ON OXIDATION STABILITY OF PISTACHIO OIL

Irena Dominković, 220/DI

Summary: Microwave heating is a contemporary and widely applied method of food preparation. This essay discusses the influence of microwave heating on the oxidation of cold-pressed pistachio oil with and without the addition of antioxidants and synergists. Oils samples with and without the addition of antioxidants and synergists were heated in a microwave oven using different power settings at 5 minute intervals. Samples were also heated in microwave oven using constant power settings of 300 W at different time intervals. The test results are shown through peroxide value and measured after microwave heating. Higher power settings and prolonged microwave heating are causing more massive oxidative damage of the tested oil. The addition of antioxidants and synergists achieved greater resistance to oil oxidation. Microwave heating with duration of 25 minutes resulted with lower peroxide value comparing to the oil sample without added antioxidant (control sample). Best resistance to oxidation deterioration showed the addition of essential oil of winter savory, comparing to the addition of other antioxidants that were examined.

Key words: pistachio oil, oxidation stability, microwave heating, antioxidants, synergists

Thesis contains: 63 pages
7 figures
10 tables
80 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 22, 2015.

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

Zahvaljujem se svim profesorima na znanju koje su mi prenijeli tijekom studija. Posebno hvala mojem mentoru izv. prof. dr. sc. Moslavcu na predloženoj temi, stručnosti i savjetima za pisanje diplomskog rada te gospođi Danijeli Paulik, kemijskoj tehničarki, na pomoći tijekom izvršavanja eksperimentalnog dijela rada.

Najveća zahvala mojoj obitelji; mami, bratu i sestri, koji su bili uz mene kroz cijelo moje školovanje. Bez njihove potpore sve bi bilo puno teže, a naročito hvala mojoj mami koja mi je sve ovo omogućila.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 4

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA 5

2.1.1. Klasifikacija ulja prema načinu dobivanja 5

2.1.2. Sastav biljnih ulja 7

2.2. PODJELA I SVOJSTVA JESTIVIH BILJNIH ULJA 11

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA 15

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA 20

2.4.1. Antioksidansi 20

2.4.2. Sinergisti 24

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA 25

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA 28

2.7. MIKROVALNO ZAGRIJAVANJE 29

2.7.1. Oksidacijska promjena u biljnim uljima tijekom mikrovalnog zagrijavanja 31

3. EKSPERIMENTALNI DIO 32

3.1. ZADATAK 33

3.2. MATERIJALI I METODE 33

3.2.1. Materijali 33

3.2.2. Metode 35

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja 35

3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja 37

4. REZULTATI 39

5. RASPRAVA 45

6. ZAKLJUČCI 49

7. LITERATURA 52

1. UVOD

Oksidacijsko kvarenje je najčešći tip kvarenja biljnih ulja, a predstavlja proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masne kiseline. Zbog kvarenja biljnih ulja oksidacijskim procesima tijekom njihove primjene ili skladištenja dolazi do niza nepoželjnih reakcija (polimerizacija, hidroliza, izomerizacija i dr.) (Dimić, 2005). Oksidacijskim kvarenjem ulja nastaje neugodan miris oksidiranih ulja što se pripisuje primarnim i sekundarnim produktima oksidacije koji u malim količinama narušavaju senzorska svojstva ulja (Broadbent i Pike, 2003; Rovellini, 1997). Proces autooksidacije biljnih ulja može se odvijati sporije ili brže, ovisno o sastavu biljnih ulja (sastav masnih kiselina), uvjeta skladištenja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ovu reakciju oksidacije (Martin-Polvillo, 2004). Vrlo je važno poznavati stabilnost ili održivost biljnih ulja, kako bi se moglo unaprijed utvrditi vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije te za određivanje vremenskog roka upotrebe ulja. U praksi se najčešće primjenjuju metode za određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja temeljene na ubrzanoj oksidaciji ulja (Przybylski, 1993; Suja, 2004; Shahidi, 2005; Farhoosh, 2008).

Mikrovalno zagrijavanje primjenjuje se u različitim procesima prehrambene industrije pri čemu zagrijavanje materijala nastaje zbog pretvorbe energije elektromagnetskih valova u toplinu u materijalima koji posjeduju dielektrična svojstva. U materijalima koji imaju električne dipole (molekule), koje izložene djelovanju elektromagnetskog polja polariziraju, dolazi do trenja molekula i stvaranja topline (Lovrić, 2003). Temperatura uljne faze dvostruko se brže povećava tijekom mikrovalnog zagrijavanja u odnosu na temperaturu vode ili vodenog dijela hrane (Barringer, 1995). Tijekom mikrovalnog zagrijavanja u biljnim uljima dolazi do oksidacijskih promjena (Hassanein, 2003; Dostalova, 2005; Biswas, 2007; Erkan, 2009; Chiavaro, 2010), nastaju slobodni radikali u većoj količini, a pri visokim temperaturama moguća je i izomerizacija te formiranje trans izomera (Albi i sur., 1997). Stupanj oksidacije ulja djelovanjem mikrovalnog zagrijavanja ovisi o udjelu polinezasićenih masnih kiselina, a vrijednost slobodnih masnih kiselina se povećava (Yoshida, 1992; Sumnu, 2011). Smanjena je oksidacijska stabilnost ulja, a trigliceridi i digliceridi su skloni toplinskoj hidrolizi, osobito u prisutnosti vode. Mikrovalno zagrijavanje dovodi do povećane razgradnje nutritivnih spojeva kao što su vitamini, esencijalne masne kiseline i fenoli (Oomah i sur., 1998). Plodovi pistacije bogati su nutrijentima, mineralima i vitaminima koji pozitivno djeluju na organizam čovjeka. Pistacija je bogat izvor ulja u kojem dominiraju polinezasićene (linolna i linolenska kiselina) te mononezasićene masne kiseline (oleinska). Prilikom istraživanja kvarenja biljnih ulja

oksidacijskim procesima, dolazi se do rezultata koji naglašavaju da stabilnost i održivost biljnih ulja ovisi od vrste ulja odnosno sastava masnih kiselina te od vrste i udjela sastojaka koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje.

Cilj istraživanja ovog rada bio je ispitati utjecaj mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije, sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Masti i ulja su najbogatije energetske tvari, koje nas opskrbljuju velikom količinom energije i imaju vrlo važnu ulogu u građi živih stanica. Nalaze se u masnom tkivu i u masnim kapljicama ostalih stanica. Masti i ulja služe kao pričuvna energija neophodna svakom živom organizmu za njegov razvoj i održavanje, sudjeluju u izmjeni tvari u živom organizmu, zbog čega su vrlo važna skupina spojeva u ljudskoj prehrani. Široko su rasprostranjene u prirodi, i u biljnom i u životinjskom svijetu.

Masti, osim biološkog, imaju i veliko tehnološko značenje. Masti se koriste kao sirovina za proizvodnju: sapuna, margarina, raznih maziva, boja i lakova. Danas se za proizvodnju biljnih jestivih ulja (rafiniranih, nerafiniranih i hladno prešanih ulja) koriste razne uljarice i uljarske kulture.

2.1.1. Klasifikacija ulja prema načinu dobivanja

Jedna od prvih podjela jestivih biljnih ulja s obzirom na način dobivanja klasificirala se na:

a) **Sirovo biljno ulje**
b) **Djevičansko ulje**
c) **Rafinirano ulje**

a) Sirovo biljno ulje je ono ulje koje je dobiveno direktno nakon prešanja ili ekstrakcijom s organskim otapalom. Takvo je ulje najčešće mutno zbog sadržaja vode i manjih krutih čestica.

b) Djevičansko ulje prema definiciji je dobiveno isključivo mehaničkim postupcima, bistri se isključivo fizički (npr. filtracija) i nisu prošla proces rafiniranja. Sam proces filtracije se obično odvija preko tkanine, a ponekad se ulje bistri i procesom centrifugiranja (odvajanje taloga).

c) Rafinirano ulje nije nužno dobiveno „vrućim“ tipom ekstrakcije, postoje i rafinirana ulja dobivena iz kondicionirane sirovine prije prešanja. Rafinirana jestiva ulja dobivaju se procesom rafinacije sirovih biljnih ulja pri čemu rafinacija obuhvaća postupke deguminacije, neutralizacije, bijeljenja, vinterizacije i dezodorizacije.

Jestive masti i ulja pripadaju grupi spojeva koji imaju zajednički naziv LIPIDI, netopljivi su u vodi, a topljivi su u organskim otapalima (npr. heksan).

Lipidi (grč. *lípos* „mast“) su organske tvari zajedničke kemijske građe koje podrazumijevaju masti i ulja, voskove, fosfolipide i steroide.

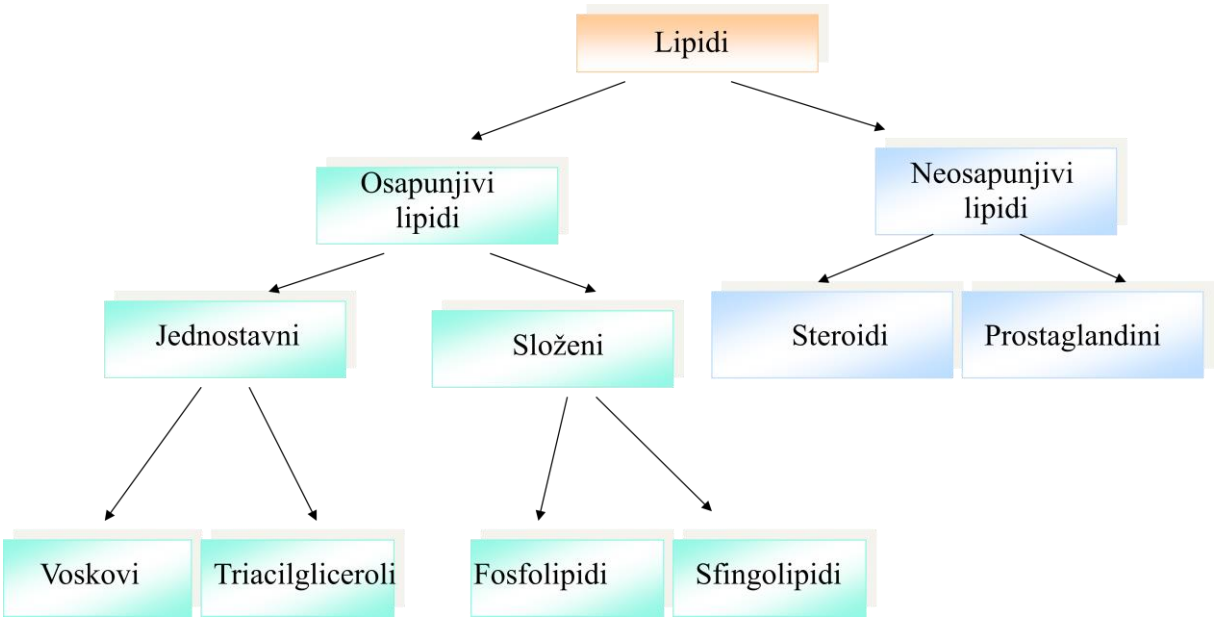
Tri su glavne uloge lipida:

1. Skladištenje energije
2. Izgradnja bioloških membrana
3. Prijenos signala među stanicama

Lipidi imaju mnogobrojne funkcije, služe kao energetsko „skladište“ poput klasičnih masti i ulja. Ulaze u sastav staničnih membrana svih živih bića (fosfolipidi, ceramidi, steroli, sfingolipidi) i time štite stanicu i cijeli organizam od nepovoljnih utjecaja. Sudjeluju u brojnim procesima za prijenos signala među stanicama (hormoni i lokalni hormoni) te potiču razne fiziološke procese (vitamini, masne kiseline, prostaglandini i leukotrieni, steroli). Lipide možemo podijeliti (prema Deuel-u, 1951. g. i prema W.R. Bloor-u) u tri grupe:

1. **Jednostavni lipidi**: masti, voskovi
2. **Složeni lipidi**: fosfolipidi (lecitini, kefalini), glikolipidi, aminolipidi, sulfolipidi
3. **Derivati lipida**: masne kiseline, masni alkoholi, aldehidi, ketoni, steroli (zoosteroli, fitosteroli), ugljikovodici, vitamini A, D, E, K itd.

Na **slici 1** prikazana je blok shema klasifikacije lipida.



Slika 1 Klasifikacija lipida (http://www.sraspopovic.com/Masti.ppt)

Jednostavnim lipidima pripadaju masti i ulja (triacilgliceroli masnih kiselina). Najčešće se javljaju u prirodi, ali uvijek uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa. U jednostavne lipide spadaju i voskovi koji su esteri viših masnih alkohola i viših masnih kiselina.

Složene lipide najčešće nalazimo kao pratitelje jednostavnih lipida, ali i kao glavne lipidne sastojke u nekim dijelovima organizma. U grupu složenih lipida ubrajaju se npr. fosfolipidi, građeni od molekule glicerola na koju su vezane dvije masne kiseline na prve dvije hidroksilne skupine i fosfat na trećoj, a na fosfat se veže neka organska skupina.

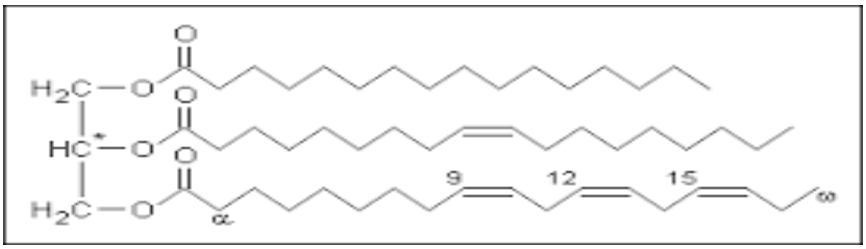
Derivati lipida u stvari nisu esteri i mogu biti potpuno drugog kemijskog sastava. Glavna im je karakteristika da u prirodi dolaze u mastima kao njihovi pratitelji te da su lipidnih svojstava. U ovu grupu lipida se ubrajaju: masne kiseline (produkt cijepanja neutralnih lipida ili kao sirovina za sintezu istih), steroli (stalni pratitelji neutralnih masti), lipokromi, nositelji mirisa (aldehidi, ketoni, alkoholi i ugljikovodici), vitamini (A, D ,E i K). Također, obuhvaćaju prirodne prooksidanse i antioksidanse kojima pripada posebna uloga u mastima u kojima se nalaze.

2.1.2. Sastav biljnih ulja

Ulja (masti) su u vodi netopljive tvari biljnog i životinjskog podrijetla, trigliceridi – esteri masnih kiselina i alkohola glicerola koji sadrži manje količine (1-2 %) negliceridnih komponenata koje se ne saponificiraju s alkalijama. Na osnovu toga možemo reći da u sastav biljnih ulja ulaze:

a) **Trigliceridi (triacilgliceroli)**
b) **Masne kiseline**
c) **Negliceridni sastojci**

a) Trigliceridi (triacilgliceroli) su esteri glicerola i masnih kiselina. Ime su dobili po tome što se tri masne kiseline vežu na tri hidroksilne skupine alkohola glicerola. Zbog svoje dominantne mase u molekulama triglicerida i zbog toga što predstavljaju reaktivni dio molekule masne kiseline imaju veliki utjecaj na svojstva triglicerida. Trigliceridi su glavni sastojak životinjskih i biljnih masti i ulja. Animalne masti u svome sastavu imaju više zasićenih masnih kiselina (npr. palmitinska, stearinska i dr.) te su zato pri sobnoj temperaturi u krutom ili polukrutom agregatnom stanju, dok biljna ulja imaju veću količinu nezasićenih masnih kiselina (npr. oleinska, linolna, linolenska i dr.) pa su zato pri sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju.



Slika 2 Struktura triglicerida

b) Masne kiseline su dugačke molekule koje na jednom kraju imaju karboksilnu skupinu (- COOH), a na drugom kraju metilnu skupinu (-CH_3). S obzirom na to svojstva triglicerida ovise o molekulama masnih kisleina pri čemu je odlučujuća duljina njihovih lanaca i broj dvostrukih veza. Masne kiseline sadržavaju samo jednu karboksilnu skupinu (-COOH) pa ih zato nazivamo monokarboksilnim kiselinama. Dobiju se hidrolizom masti i ulja. Sve prirodne masne kiseline imaju paran broj ugljikovih atoma povezanih u nerazgranati lanac. Međusobno se razlikuju: po broju C- atoma u molekuli, nezasićenosti C- atoma te po broju i položaju dvostrukih veza. Molekula masne kiseline **(R-COOH)** se sastoji iz dva različita dijela:

- ugljikovodikova grupa (R)
- karboksilna grupa (COOH)

Masne kiseline se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine, a to su:

- zasićene
- nezasićene (mononezasićene, polinezasićene)

Zasićene masne kiseline se nazivaju tako jer ne sadrže dvostruke (kovalentne) veze ili druge funkcionalne grupe u molekularnom lancu. Pojam „zasićen“ se odnosi na vodik koji se u maksimalnom mogućem broju veže na ugljikove atome u lancu (osim kod karboksilne skupine –COOH), drugim riječima, zato što je ugljik 4-valentan, na svakom atomu ugljika vežu se druga dva atoma ugljika i po dva atoma vodika, osim na drugom kraju lanca masne kiseline gdje je metilna grupa (taj kraj lanca se naziva omega – ω), gdje se vežu tri atoma vodika (CH_3-).

Zasićene masne kiseline tvore ravne lance molekule, a kao rezultat toga mogu se zgusnuto skladištiti u organizmu, dozvoljavajući veću količinu energije po jedinici volumena. Masno tkivo čovjeka i životinja sadrži velike količine dugolančanih zasićenih masnih kiselina. Skraćeni opisni naziv masnih kiselina sadrži samo broj atoma ugljika i broj dvostrukih veza u

njima (npr. C18:0 ili 18:0 – stearinska kiselina sadrži 18 atoma ugljika i 0 dvostrukih veza između atoma ugljika, dok C18:1 – oleinska kiselina sadrži 18 atoma ugljika i jednu dvostruku vezu te je ona mononezasićena masna kiselina).

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

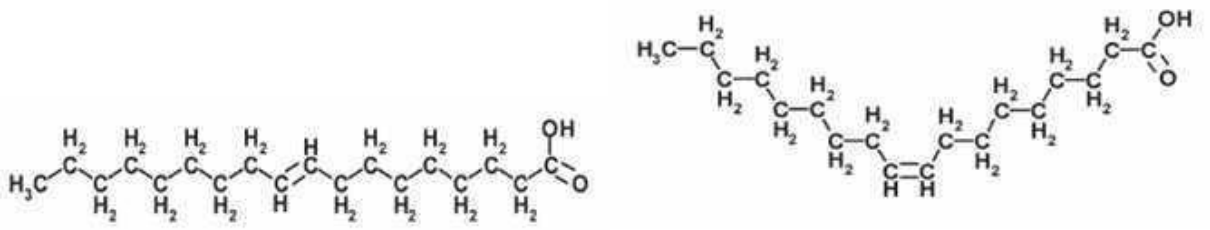
Maslačna kiselina (butanska):	**$CH_3(CH_2)_2COOH$ ili C4:0**
Kapronska kiselina (heksanska):	**$CH_3(CH_2)_4COOH$ ili C6:0**
Kaprilna kiselina (oktanska):	**$CH_3(CH_2)_6COOH$ ili C8:0**
Kaprinska kiselina (dekadska):	**$CH_3(CH_2)_8COOH$ ili C10:0**
Laurinska kiselina (dodekadska):	**$CH_3(CH_2)_{10}COOH$ ili C12:0**
Miristinska kiselina (tetradekadska):	**$CH_3(CH_2)_{12}COOH$ ili C14:0**
Palmitinska kiselina (heksadekadska):	**$CH_3(CH_2)_{14}COOH$ ili C16:0**
Stearinska kiselina (oktadekadska)	**$CH_3(CH_2)_{16}COOH$ ili C18:0**
Arahidinska kiselina (eikosanoidna):	**$CH_3(CH_2)_{18}COOH$ ili C20:0**
Behenilska kiselina (dokosanoidna):	**$CH_3(CH_2)_{20}COOH$ ili C22:0**

Nezasićene masne kiseline su kiseline sličnog oblika kao zasićene, osim što postoji jedna ili više alkenskih funkcijskih skupina unutar lanca gdje svaki alken zamjenjuje jednostruku ugljičnu vezu ”-CH_2-CH_2-” u dijelu lanca s dvostrukom vezom ”-CH=CH-” (jedan je atom ugljika dvostruko povezan s drugim atomom). Takve dvostruke veze mogu biti formirane u *cis* i *trans* konfiguraciju.

Cis konfiguracija znači da su dva atoma vodika na istoj strani dvostruke veze. Krutost dvostruke veze zadržava svoje oblikovanje, a „*cis*“ forma izomera uzrokuje da se lanac presavija i ograničava oblikovnu slobodu masne kiseline. Što je više dvostrukih veza u *cis* obliku, to je manja savitljivost lanca. Ukoliko lanac ima više *cis* veza, postaje izrazito zakrivljen u svim mogućim oblicima. Oleinska kiselina, koja ima jednu dvostruku vezu ima manji pregib u lancu od linolne kiseline s dvije dvostruke veze, dok linolenska kiselina, koja ima tri dvostruke veze je posve savinuta u obliku kuke. Posljedica svega ovoga je da u ograničenom okruženju, kao kada su masne kiseline dio fosfolipida u lipidnoj dvostrukoj ovojnici ili triglicerida u kapljici lipida, „*cis*“ veza ograničava sposobnost masne kiseline da se uskladišti u manjem prostoru te na taj način utječe na točku vrelišta membrane ili masnoće.

Trans konfiguracija je konfiguracija koja ima suprotne karakteristike od *cis* konfiguracije. To znači da su dva susjedna atoma vodika vezana na suprotnim stranama dvostruke veze. Rezultat toga je da ne oblikuje lanac koji je ispresavijan, nego je oblik sličan ravnom lancu

kao što je kod zasićenih masnih kiselina. U prirodi se nezasićene masne kiseline pojavljuju smao u „*cis*“ formi. „*Trans*“ oblik isključivo nastaje utjecajem čovjeka i njegove namjere da prerađuje masnoće (npr. hidrogenacijom). Razlike u geometriji između *„cis“* i *„trans“* oblika nezasićenih masnih kiselina, te između zasićenih i nezasićenih masnih kiselina igraju vrlo značajnu ulogu u biološkim procesima (u ljudskom tijelu) i u izgradnji bioloških struktura (izgradnja stanične membrane). Dok kod zasićenih masnih kiselina ne postoje dvostruke veze, dotle je položaj dvostruke veze kod nezasićenih masnih kiselina bitan za svojstva istih. Zbog toga govorimo o početku i kraju lanca tih kiselina. Početak je mjesto gdje se nalazi karboksilna skupina (-COOH), dok je kraj mjesto na lancu gdje se nalaze vezana tri atoma vodika na atomu ugljika (CH_{3-}). Kraj lanca se naziva omega (ω), te prema mjestu dvostruke veze od tog kraja govorimo o ω-3, ω-6 ili ω-9 masnim kiselinama.



elaidinska kiselina oleinska kiselina

Slika 3 *Cis* i *trans* izomeri C18:1 nezasićene masne kiseline s jednom dvostrukom vezom (oleinska i elaidinska masna kiselina)

c) Negliceridni sastojci

U prirodnim uljima negliceridnih sastojaka ima najčešće od 1 do 2%, uz izuzetak sojino ulje i pamukovo ulje gdje je udio od 2 do 4%. Određeni broj negliceridnih sastojaka je vrlo poželjan u uljima (liposolubilni vitamini, karoteni), neki su neutralni (steroli), a neki su vrlo nepoželjni jer smanjuju kvalitetu ulja i moraju se maksimalno ukloniti tijekom pojedinih faza rafinacije ulja (voskovi, tragovi metala, fosfolipidi).

2.2. PODJELA I SVOJSTVA JESTIVIH BILJNIH ULJA

Ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji, jestiva biljna ulja se razvrstavaju u sljedeće skupine (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN41/2012):

a) **Rafinirana ulja**

b) **Hladno prešana ulja**

c) **Nerafinirana ulja**

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

Propisanim u Prilogu 1. Pravilnika NN 41/2012 ili pod nazivom »ulje« nadopunjeno nazivom biljne vrste koja nije iz Priloga 1. ovoga Pravilnika za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne vrste sirovih biljnih ulja;

»biljno ulje« za ulje dobiveno postupkom rafinacije jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja.

Hladno prešana ulja su proizvodi dobiveni iz odgovarajućih sirovina, prešanjem na temperaturi do 50˚C. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Nerafinirana ulja su proizvodi dobiveni iz odgovarajućih sirovina, mehaničkim postupcima, npr. prešanjem, uz upotrebu topline. Može se provesti i postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem. Podjela ulja prema porijeklu sirovine može biti na ulja iz mesnatog dijela ploda i na ulja iz sjemena. Postoji i podjela koja se bazira na većinskom udjelu masnih kiselina, te prema podrijetlu sjemena.

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda:

- maslinovo ulje, palmino ulje, avokado...

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...),

- ulja palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje...),

- ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo ulje, sezamovo ulje, ulje šafranike, ulje kukuruzne klice, bučino ulje, repičino ulje...),

- ulja linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, *Camelina sativa*...)

3. Ulja prema porijeklu biljke:

- ulja iz leguminoza (kikiriki, soja...),

- ulja krstašica (repica, slačica-senf) (Bockisch, 1998)

Suncokretovo ulje

Suncokret (*Helianhtus annuus, L.*), je jedna od najstarijih uljarica u Sjevernoj Americi, pripada porodici *Compositae,* rod *Helianthus.* Suncokretovo ulje je svjetle boje, laganog okusa te sadrži više vitamina E od bilo kojeg drugog biljnog ulja. Predstavlja bogat izvor višestruko nezasićenih masnih kiselina (linolna kiselina) kao i mononezasićenih masnih kiselina (oleinska kiselina). Udio zasićenih masnih kiselina je nizak (**Tablica 2**). Zbog visoke razine polinezasićenih masnih kiselina ovo je ulje podložnije oksidaciji tijekom prženja i pečenja (Anjum i sur., 2006). Suncokretovo ulje sadrži visoki udio linolne i oleinske kiseline. Udio zasićenih masnih kiselina (uglavnom palmitinska kiselina i stearinska kiselina) ne iznosi više od 15%. U usporedbi s drugim uljima ima nizak sadržaj palmitinske kiseline za koju se vjeruje da povećava razinu LDL kolesterola u krvi (Grompone, 2005).

Tablica 2 Prosječni sastav masnih kiselina suncokretovog ulja (Grompone, 2005)

Masna kiselina	Oznaka (C:nezasi. Veze)	Udio (%)
Palmitinska	**16:0**	**5 – 8**
Stearinska	**18:0**	**2,5 – 7,0**
Oleinska	**18:1**	**13 – 14**
Linolna	**18:2**	**40 – 74**
Linolenska	**18:3**	**<0,3**

Suncokretovo ulje se najčešće proizvodi prešanjem (10% zaostale ljuske) i naknadnom ekstrakcijom pogače s organskim otapalom (heksan), nakon čega se tako dobiveno sirovo ulje podvrgava rafinaciji. Inače, hladno prešano suncokretovo ulje trenutno je cijenjena kategorija biljnog ulja. Proizvodnja sirovog ulja se najčešće provodi u dvije faze. Prva faza se sastoji od mehaničkog prešanja (ekspeleri). Nastala pogača sadrži 15 – 20% ulja, iz koje se ulje ekstrahira pomoću organskog otapala (najčešće heksan ili ekstrakcijski benzin). Na rok trajanja ulja utječu kvaliteta sirovine i uvjeti proizvodnje (prešanje, ekstrakcija s otapalom,

ekstrakcija superkritičnim fluidom), rafinacija, dodatak antioksidansa, vrsta ambalaže (materijal ambalaže, pakiranje u inertnoj atmosferi). Ostali čimbenici koji utječu na oksidacijsku stabilnost ulja su posebni uvjeti skladištenja: temperatura, vrijeme i svjetlost (Grompone, 2005).

Ulje uljane repice

Uljana repica je kultura koja se zbog visokog sadržaja ulja (42 – 46%) i bjelančevina (20%) svrstava među najznačajnije uljarice (Kiš i sur., 2008). Nutricionisti ističu da repičino ulje ima najbolji omjer poželjnih masnih kiselina, najniži udio zasićenih masnih kiselina (7%), relativno visok udio mononezasićenih kiselina (60%, uglavnom oleinske kiseline, C18:1) i visok udio polinezasićenih kiselina (22% linolne kiseline i 11% α-linolenske) (Škrtić i sur., 2006). Visok sadržaj oleinske kiseline i nizak sadržaj zasićenih masnih kiselina je vrlo važna karakteristika ulja uljane repice, koja zajedno s linolnom i linolenskom kiselinom daje ovom ulju jedinstvenu nutritivnu vrijednost za prevenciju kardiovaskularnih oboljenja, kao i posebno mjesto u ljudskoj prehrani. Upotreba ulja uljane repice zavisi od odnosa pojedinih masnih kiselina, odnosno sadržaja nepoželjne eruka kiseline (**Tablica 3).** Sorte uljane repice sa sadržajem eruka kiseline u ulju nižim od 2% pripadaju tzv. ”0” tipu. Daljnjim oplemenjivanjem ove kulture dobivene su tzv. ”00” sorte koje karakterizira smanjen sadržaj glukozinolata u sjemenu, koji nakon prešanja zaostaje u pogači i toksični su za hranidbu domaćih životinja. Zadnjih godina u Europi je započeo uzgoj tzv. ”000” sorte sa još povoljnijim karakteristikama ulja (Jovičić i sur., 2011).

Aktualne su dvije osnovne sorte koje se razlikuju prema udjelu eruka kiseline:

- uljana repica s niskim udjelom eruka kiseline (LEAR – Low Eruic Acid Rapeseed)
- uljana repica sa visokim udjelom eruka kiseline (HEAR – High Eruic Acid Rapeseed)

(Dimić, 2005).

Tablica 3 Prosječni sastav masnih kiselina ulja uljane repice (Dimić, 2005)

Sastav masnih kiselina (% m/m)	CANOLA (LEAR)	HEAR
Miristinska	0,1	-
Palmitinska	3,5	4,0
Stearinska	1,5	1,0
Arahinska	0,6	1,0
Behenska	0,6	0,8
Ukupno zasićene	6,0	6,9
Palmitooleinska	0,2	0,3
Oleinska	60,1	15
Eikosenska	0,4	10,0
Eruka	0,2	45,1
Ukupno mononezasićene	61,9	71,0
Linolna	20,1	14,1
Linolenska	9,6	9,1
Ukupno polinezasićene	29,7	23,2

Ulje pistacije

Pistacija (*Pistachia vera L.*) je jedna od najvažnijih vrsta orašastih plodova u svijetu. Pistacija se najviše uzgaja u zemljama Srednjeg Istoka (Iran, Sirija), u dijelovima Mediterana (Italija, Grčka, Turska), u SAD-u, te u Kini. Proizvodnja talijanske (9 170 t) pistacije je vrlo niska u odnosu na druge zemlje (npr. Sirija – 446 647 t, SAD – 236 775 t, Turska – 128 000 t), međutim manju proizvodnju kompenzira sa vrlo visokom kvalitetom pistacije. Najveći dio proizvodnje dolazi iz južnog dijela Italije, grada Bronta (80%) (Arena i sur., 2013).

Plodovi pistacije su bogat izvor nutrijenata (proteina, prehrambenih vlakana...), minerala (mangana, fosfora, magnezija), vitamina (vitamini B6, tiamin, folata, vitamin A). Konzumacija jezgre pistacije dobro djeluje na organizam čovjeka tako što između ostaloga pomaže u regulaciji lošeg LDL kolesterola, regulaciji težine, kontroli dijabetesa i dr.. Plodovi pistacije su bogati uljem te sadrže lipide u količini od 40 do 63 % (Arena i sur., 2013). Udio ulja u plodovima pistacije ovisi i o vanjskim faktorima kao što su: klima, zemljopisni položaj, kvaliteta tla na kojoj se uzgaja (Chahed i sur., 2008). Triacilgliceroli (TGS) predstvaljaju glavne acilglicerole u ulju pistacije (više od 90% od ukupne količine glicerolipida) (Chahed i sur., 2008). Triacilgliceroli u ulju pistacije bogati su polinezasićenim masnim kisleinama (linolna i linolenska kiselina), esencijalnim za ljudski organizam, te mononezasićenim masnim kiselinama (oleinska kiselina) (Arena i sur., 2013). Oksidacija lipida je glavni uzrok kvarenja dehidrirane hrane. Visok sadržaj lipida te prisutnost lipida s visokim stupnjem nezasićenosti utječe na stupanj oksidacije lipida i stabilnost tijekom skladištenja. Nezasićene masne

kiseline su podložnije oksidaciji pri čemu dolazi do pojave nepoželjnih mirisa i okusa. Odgovarajući uvjeti skladištenja i upotreba modificirane atmosfere poboljšavaju stabilnost tijekom skladištenja. U mediteranskiim zemljama, nakon berbe, plodovi pistacije su podvrgnuti procesu sušenja na suncu, što je najčešća metoda koja se koristi za sniženje vlažnosti. Najčešće upotrebljavana metoda za dokazivanje masnih kiselina u ulju od plodova pistacije je plinska kromatografija (*Pistachia vera L.*).

Tablica 4 Prosječni sastav masnih kiselina ulja pistacije

Masna kiselina	Oznaka (C:nezas. veze)	Udjel (%)
Palmitinska	**C16:0**	**16**
Margarisnka	**C17:1**	**15**
Stearinska	**C18:0**	**18**
Oleinska	**C18:1**	**16**
Linolna	**C18:2**	**14**
Linolenska	**C18:3**	**12**
Gadoleinska	**C20:1**	**18**

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja su proizvodi koji lako podliježu nepoželjnim kemijskim reakcijama, enzimskim i mikrobiološkim procesima koji uzrokuju kvarenje ulja. Na proces kvarenja ulja i način na koji će se kvarenje odvijati utječu uvjeti čuvanja, vrsta i kvaliteta ulja. Tijekom kvarenja ulja nastaju hlapljivi spojevi koji narušavaju organoleptička svojstva i nutritivnu vrijednost ulja što uzrokuje neugodan miris i okus. Gubitkom biološki aktivnih tvari (esencijalne masne kiseline, provitamini, vitamini i drugi sastojci), stvaranjem štetnih tvari poput peroksida i raznih polimera, ulja postaju neupotrebljiva za prehranu.

Vrste kvarenja ulja i masti su:

1) Enzimski i mikrobiološki procesi – hidrolitička razgradnja, β-ketooksidacija
2) Kemijski procesi – autooksidacija, termooksidacija, fotooksidacija, reverzija (Oštrid-Matijašević i Turkulov, 1980)

1) Enzimski i mikrobiološki procesi

Enzimski i mikrobiološki procesi kvarenja biljnih ulja mogu se podijeliti na hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju. Kako bi došlo do procesa kvarenja potrebna je prisutnost enzima, mikroorganizama te optimalni uvjeti kao što je odgovarajuća količina vode, pH i optimalna temperatura. Za sirovinu je karakteristično enzimsko kvarenje jer se disanjem

sjemena oslobađa toplina što povećava temperaturu i aktivnost enzima, dok je mikrobiološko kvarenja karakteristično za proizvode koji sadrže ulje i mast.

Hidrolitička razgradnja (hidroliza masti)

Ova vrsta kvarenja pojavljuje se u mastima i uljima, u sirovini te u proizvodima poput margarina, maslaca, mesnim i mliječnim proizvodima. U prisustvu odgovarajuće količine vode i lipolitičkih enzima (lipaza) dolazi do hidrolize masti. Povišena temperatura (>50˚C) kao i niža temperatura (<-10˚C) znatno usporavaju hidrolitičke promjene. To je reakcija kod koje dolazi do oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida uslijed razgradnje esterske veze. Mjerilo stupnja nastalih nepoželjnih promjena u mastima i uljima je porast kiselosti, a odražava se povećanjem udjela slobodnih masnih kiselina (SMK).

β-ketooksidacija

Kod β-ketooksidacije mikroorganizmi (bakterije: *Bacillus mesentericus i Bacillus subtilis;* plijesni: *Aspergillus* i *Penicillium*), u prisustvu kisika iz zraka, napadaju zasićene masne kiseline, točnije metilensku skupinu u β-položaju prema karboksilnoj skupini. Kao posljedica ovakvog djelovanja mikroorganizama je stvaranje β-keto kiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije. Biljna ulja kod kojih je došlo do β-ketooksidacije imaju izrazito naglašen neugodan miris i okus poznat kao užeglost. Kod ove vrste kvarenja masti i ulja karakteristično je da prevladava u mastima u čijem su sastavu zastupljene zasićene masne kiseline srednjeg i kraćeg lanca. Djelovanjem nekih vrsta mikroorganizama moguće je stvaranje pigmenata (žuti, crveni, plavo-zeleni) koji dovode do obojenja masti.

2) Kemijski procesi

Autooksidacija

Do pojave autooksidacije masti i ulja dolazi djelovanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline masti. To je lančana reakcija stvaranja slobodnih radikala koja se odvija u više faza. U prvoj fazi kisik iz zraka napada nezasićene masne kiseline masti i pri tome se stvaraju slobodni radikali. U drugoj fazi se iz slobodnih radikala stvaraju hidroperoksidi (ROOH) i slobodni radikali peroksida (ROO·) vezivanjem O_2 na slobodne radikale masnih kiselina (R·).

Hidroperoksidi, primarni produkti oksidacije, su labilni pa se dalje razgrađuju (posebno pod utjecajem temperature) na slobodne radikale (RO·, ROO· i dr.) i razgradne produkte oksidacije. Ovi nastali produkti oksidacije, poznati kao sekundarni produkti oksidacije, su karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni), masne kiseline, alkoholi i dr., od kojih neki daju neugodan miris užeglosti, karakterističan za oksidiranu mast.

Autooksidacija je lančana reakcija koja se odvija u tri faze:

a) Indukcija – početak reakcije
b) Propagacija – tijek reakcije
c) Terminacija – završetak reakcije

a) Indukcija

Indukcija je početna faza autooksidacije. Počinje na $–CH_2$ skupinama koje se nalaze u α-položaju u odnosu na dvostruku vezu u lancu nezasićene masne kiseline. Na metilnim skupinama dolazi do homolitičkog cijepanja odnosno izdvajanja vodika i nastanka alkil radikala masne kiseline. Čimbenici koji mogu utjecati na nastanak početnog radikala ove lanačane reakcije su tragovi metala, utjecaj svjetlosti, radijacije i dr. (prooksidansi). Početak procesa autooksidacije ulja odnosi se na pojavu početnog slobodnog lipidnog radikala (R·) pod pretpostavkom da kisik iz zraka pri direktnom djelovanju na masnu kiselinu daje radikale po sljedećoj reakciji:

$$\mathbf{RH + O_2 \rightarrow R\cdot + HOO\cdot}$$

(masna kiselina) (slobodni radikal)

b) Propagacija

U drugoj fazi autooksidacije, fazi propagacije, dolazi do stvaranja slobodnih radikala peroksida i hidroperoksida. Hidroperoksidi su katalizatori (ubrzavaju reakciju) autooksidacije ulja. Slobodni radikali masnih kiselina (R·) nastali u fazi indukcije reagiraju s kisikom stvarajući peroksi-radikale (ROO·), koji oduzimaju vodik iz molekula masnih kiselina i oslobađaju nove radikale masnih kiselina (R·) te nastaju hidroperoksidi (ROOH). Nastali hidroperoksidi su nestabilni i raspadaju se na dva nova radikala RO· i HO·. Svaki od novonastalih radikala (RO· i HO·) oduzima vodik iz molekule masnih kiselina i tako ponovno nastaju novi radikali (R·), koji dalje pokreću novi niz reakcija.

$$R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$$

$$ROO\cdot + RH \rightarrow R\cdot + ROOH$$

$$ROOH \rightarrow RO\cdot + HO\cdot$$

$$RO\cdot + RH \rightarrow R\cdot + ROH$$

$$HO\cdot + RH \rightarrow R\cdot + HOH$$

Razgradnjom hidroperoksida nastaju sekundarni produkti oksidacije (aldehidi, ketoni, alkoholi, kiseline i dr. spojevi) koji ulju daju neugodan, užegnut miris i okus i u vrlo malim količinama (Shahidi, 1997).

c) Terminacija

Završna faza autooksidacijskog kvarenja ulja je terminacija, faza u kojoj nastali slobodni radikali mogu reagirati i međusobno, stvarajući pritom polimere koji su inaktivnu, tj. stabilni (R-R, ROOR). Na taj način se usporavaju i završavaju reakcije autooksidacije ulja.

$$R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$$

$$ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$$

$$RO\cdot + RO\cdot \rightarrow ROOR$$

$$RO\cdot + R\cdot \rightarrow ROR$$

Termooksidacija

Tijekom zagrijavanja ulja iznad 150 ˚C uz prisutnost vodene pare i zraka dolazi do termooksidacijskih promjena. Pri tome nastaju cikličke masne kiseline, dimeri, polimeri, oksipolimeri i dr. spojevi. Povećanjem stupnja polimerizacije povećava se relativna gustoća, indeks refrakcije i viskoznost ulja, a dolazi i do promjene boje ulja. Zagrijavanjem nastaje više produkata termooksidacije ukoliko je u sastavu masti i ulja prisutan veći dio nezasićenih masnih kiselina. Tijekom prženja, koje je uobičajena metoda pripreme hrane, dolazi do formiranja senzorskih karakteristika hrane, tj. formiranja arome po pečenom, smeđe boje i odgovarajuće teksture proizvoda. Termooksidacijske promjene ovise o vrsti ulja, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Nutritivna vrijednost ulja mijenja se prilikom dubokog prženja jer dolazi do gubitka polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Ulje se termički i oksidacijski degradira, formiraju se hlapljive i nehlapljive tvari koje mijenjaju senzorska, funkcionalna i nutritivna svojstva ulja. Kemijske reakcije koje se odvijaju tijekom prženja su : hidroliza, oksidacija i polimerizacija.

Hidroliza

Hidroliza nastaje djelovanjem vode uz prisustvo mineralnih kiselina kao katalizatora, pri čemu dolazi do razgradnje sastojaka ulja na slobodne masne kiseline i glicerol. Nastaje i djelovanjem same vode na višim temperaturama kroz duži vremenski period, a prisustvo bakterija ubrzava proces razgradnje. Dolazi do hidrolize triglicerida i nastaju mono- i digliceridi, a na kraju slobodne masne kiseline i glicerol. Intenzitet hidrolize ovisi o temperaturi ulja, kontaktnoj površini između ulja i vodene faze, količini vode i pare. Voda hidrolizira brže nego para, a produkti nastali hidrolizom smanjuju stabilnost biljnih ulja.

Oksidacijsko kvarenje (užeglost)

Oksidacija je jedan od najznačajnijih procesa koji se odvija u hrani i koji dovodi do pogoršanja njene kvalitete, odnosno do njenog kvarenja. Porastom temperature, djelovanjem svjetlosti, prisustva tragova metala i pigmenata ubrzavaju se reakcije oksidacije. Kako bi se reakcije oksidacije usporile i spriječile u mnoge prehrambene proizvode se dodaju antioksidansi – specifični aditivi koji inhibiraju reakcije oksidacije. Proces oksidacije se odvija na kompletnom esteru i to na dijelu masnokiselinskog ostatka (R) u prisutnosti zraka, vezanjem kisika na dvostruke veze u lancu masnih kiselina triacilglicerola (tj. masti i ulja). U početnoj fazi oksidacije nastaju peroksidi i/ili hidroperoksidi (spojevi bez mirisa i okusa). U aktivnoj fazi oksidacije molekula se cijepa pa nastaju aldehidi i ketoni koji su nosioci neugodnog mirisa i okusa. Zagrijavanjem ulja s visokim udjelom oleinske kiseline nastaju spojevi heptanal, oktanal, nonanal i 2-dekenal koji daju aromu po voću i plastici.

Polimerizacija

Polimerizacija je kemijska reakcija u kojoj se velik broj monomera povezuje kovalentnim vezama u polimere. Tijekom polimerizacije dolazi do niza različitih kemijskih reakcija, prilikom čega nastaju tvari s visokom molekulskom masom i polarnošću. Viskoznost ulja raste povećanjem polimernih produkata ulja nakon prženja. Kod ulja koje sadrži antioksidanse ne dolazi do velike promjene peroksidnog broja tijekom prženja. Također dolazi do smanjenja jodnog broja. Smenjenje jodnog broja za 5% je znak da se ulje više ne može koristiti za prženje. Na termičku degradaciju ulja utječu mnogi čimbenici : nezasićenost masnih kiselina, temperatura ulja, prisutnost kisika, prisutnost tragova metala, priroda hrane.

Fotooksidacija

Fotooksidacija ulja je proces koji se odvija drugačije od proces autooksidacije, jer aktivni oblik kisika pomoću nekog prooksidansa npr. klorofila direktno reagira s dvostrukom vezom i daje hidroperokside u trans obliku. Dodatna zaštita se ostvaruje primjenom tamne ambalaže koja je nepropusna za svjetlost (Oštrid-Matijašević, Turkulov, 1980).

Reverzija

Reverzija je vrsta kvarenja karakteristična za određena ulja kao što su sojino i repičino ulje. Nakon kratkog vremena skladištenja ulje dobija neugodan miris i okus na sirovinu, travu, ribu i dr. koji je izraženiji kada se ulje zagrijava. Neugodan miris i okus uzrokuju razgranati produkti linolenske kiseline i nekih negliceridnih sastojaka koji se stvaraju tijekom procesa autooksidacije ulja. Reverzija se usporava djelomičnom hidrogenacijom ulja ili dodatkom aditiva (Oštrid-Matijašević, Turkulov, 1980).

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost masti i ulja može se definirati kao vrijeme za koje se masti i ulja mogu sačuvati od oksidacijskih promjena. Važniji čimbenici koji utječu na stabilnost ulja su: sastav ulja, kvaliteta ulja, uvjeti čuvanja, vrsta ambalaže i dr. U ulja se često dodaju aditivi u malim količinama radi održavanja stabilnosti ulja. Za ulja i masti najznačajniji aditivi spadaju u skupinu antioksidanasa upravo zbog podložnosti masti i ulja oksidacijskim promjenama.

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su skupina različitih reducirajućih spojeva koji igraju važnu ulogu zaštite od štetnog djelovanja slobodnih radikala, sprječavaju proces oksidacijskog kvarenja ulja i produžuju stabilnost ulja. Dva su izvora antioksidanasa: prvi je naš organizam, koji je sposoban proizvesti antioksidanse uz pomoć vitamina i minerala, a drugi, vanjski izvor antioksidanasa, hrana (Yanishlieva i Marinova, 2001). Budući da je autooksidacija autokatalitički proces važno je dodati antioksidans što je moguće prije u ulje nakon proizvodnje. S obzirom na koju od navedenih faza djeluju antioksidansi se mogu podijeliti na primarne i sekundarne, te prema tome jesu li prirodni ili sintetski. Djelovanje nekog antioksidansa može se izraziti pomoću stabilizacijskog (zaštitnog) faktora (PF) koji pokazuje koliko se puta poveća održivost ulja dodatkom antioksidansa.

Zaštitni faktor (PF) = IP_x/IP_k

IP_x – indukcijski period uzorka ulja sa dodatkom antioksidansa (h)

IP_k – indukcijski period uzorka ulja bez dodanog antioksidansa (h)

Vrijeme indukcije, odnosno indukcijski period je broj sati koji je potreban da ulje dostigne peroksidni broj od 5 $mmolO_2/kg$ (Yanishilieva i Marinova, 2001).

Mehanizam djelovanja

Antioksidansi sprječavaju oksidaciju ulja kroz dvije reakcije. Prva reakcija je inaktivacija slobodnih radikala gdje antioksidans daje vodik koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO·) ili radikal masne kiseline (R·). Druga reakcija je hvatanje slobodnih radikala gdje se slobodni radikal antioksidansa (A·) veže na slobodni radikal (R· i ROO·). Antioksidansi vežu slobodne radikale i tako usporavaju proces autooksidacije ulja. Antioksidansi se moraju dodati ulju niskog peroksidnog broja (< 1). Ukoliko se antioksidans doda u ulje u kojem je oksidacija već počela, neće doći do sprječavanja procesa oksidacije jer su već stvoreni hidroperoksidi koji djeluju kao katalizatori autooksidacije. Koliko će antioksidans dugo djelovati ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji u kojoj je dodan, vrsti ulja i uvjetima čuvanja (Bandoniene i sur., 2000).

1) Inaktivacija slobodnih radikala

AH + ROO· → A· + ROOH ili AH + R· → RH + A·

2) Hvatanje slobodnih radikala

A· + ROO· → ROOA ili A· + R· → RA

AH = amini ili fenoli (antioksidans)

A = polinezasićeni spojevi kao što je β- karoten

Neki antioksidansi mogu spriječiti dva ili više niza ponavljanja propagacije jer produkti koji se prvi formiraju iz antioksidansa još uvijek imaju antioksidacijsku aktivnost (Gunstone, 2004).

Vrste antioksidansa

Prema podrijetlu antioksidansi se mogu podijeliti na: **primarne i sekundarne**, te prema tome jesu li **prirodni ili sintetski**.

Prirodni antioksidansi, osim sa zdravstvenog stajališta, imaju prednost u tome što su topljivi u uljima i vodi, što olakšava njihovu primjenu u prehrambenim proizvodima (Mandić, 2007). U primarne antioksidanse se ubrajaju: fenoli, galati, hidrokvinoni, BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), tokoferoli, flavonoidi, askorbati, ekstrakti biljaka i začina, antioksidansi nastali procesiranjem (Eskin i Przybylski, 2001). Sekundarni antioskidansi uklanjaju metalne ione (pretežno željezo i bakar). Metalni ioni potpomažu fazu indukcije u procesu autooksidacije. U sekundarne antioksidanse ubrajaju se limunska kiselina, etilendiamin tetra-octena kisleina (EDTA), fosforna kiselina i određene amino kiseline. Oni se često koriste zajedno s primarnim antioksidansima (Gunstone, 2004).

a) Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi su jeftiniji od prirodnih, lako su dostupni i primjenjivi, ali je generalno prihvaćeno da prirodni antioksidansi imaju snažnije, efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje nego sintetski. Koriste se za stabilizaciju masti, ulja i hrane koja sadrži lipide. U hrvatskoj je upotreba aditiva, antioksidanasa regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 81/2008. Umjetni antioksidansi fenolnog tipa su u para supstituciji (*p*-), koja se preferira zbog njihove manje toksičnosti, dok su prirodni fenolni sastojci uglavnom u orto supstituciji (*o*-). Sintetski fenolni antioksidasni su uvijek supstituirani s alkil skupinama kako bi poboljšali njihovu topljivost u mastima i uljima te reducirali njihovu toksičnost (Shahidi, 2005).

Butil hidroksianisol (BHA – E320) – Inhibira oksidacijske promjene na mastima i uljima, uzrokovane djelovanjem kisika na masne kiseline. Često se upotrebljava u kombinaciji s galatima (E310, E311, E312), TBHQ (E319) i BHT (E321), jer se njihovi učinci međusobno pojačavaju. Proizvodi se kemijskom sintezom iz *p*-metoksifenola i izobutilena, dobre je topljivosti u mastima te stabilan u prženim i pečenim proizvodima. Pokazuje bolju učinkovitost u životinjskim mastima nego u biljnim uljima. Djeluje sinergistički sa butiliranim hidroksitoluenom i propil galatom.

Butil hidroksitoluen (E-321) – Inhibira oksidacijske promjene na mastima i uljima, uzrokovane djelovanjem kisika na lance masnih kiselina. Često se koristi u kombinaciji s

galatima (E310, E311, E312), TBHQ (E319) i BHA (E320), jer se njihovi učinci međusobno pojačavaju. Proizvodi se kemijskom sintezom iz *p*-krezola i izobutilena uz sumpornu kiselinu kao katalizator. Usporava oksidaciju životinjskih masti, nije topljiv u propilen glikolu koji se najčešće koristi kao otapalo za antioksidanse. Djeluje sinergistički sa BHA, ali ne i sa propil galatom, a može se koristiti do maksimalne koncentracije do 200 ppm.

Propil galat (PG-E310) – je propilni ester galne kiseline koja je prirodni biljni fenolni spoj. Esteri galne kiseline najčešće se primjenjuju za stabilizaciju biljnih i životinjskih masti jer sprječavaju njihovu oksidaciju. Često se kombiniraju s TBHQ (E319), BHA (E320) i BHT (E321), jer se njihovi učinci međusobno pojačavaju. Manje je topljiv od BHA i BHT. Obično ne podnosi kuhanje, jer se razgrađuje na 148 ˚C, ipak, učinkovit je kada se koristi sa BHA i može se koristiti do maksimalno 100 ppm.

Tercijarni butilhidrokinon (TBHQ-E319) – Proizvodi se kemijskom sintezom, često se kombinira s BHA (E320). Učinkovito stabilizira nezasićena biljna ulja i mnoge masti životinjskog podrijetla. Najčešće se koristi kod transporta i skladištenja ulja, a tijekom dezodorizacije se kompletno uklanja. Vrlo je učinkovit u biljnim uljima, dobre je topljivosti i stabilan je na visokim temperaturama.

b) Prirodni antioksidansi

Od prirodnih antioksidanasa najpoznatiji su ***tokoferoli***. Sprječavaju autooksidaciju ulja – vezanje kisika iz zraka na nezasićene veze u lancu masne kiseline. Količina tokoferola kod iste vrste ulja može imati znatna odstupanja, što najčešće ovisi o kakvoći sjemenke, načinu prerade i čuvanja ulja. Tokoferoli lako oksidiraju i prelaze u tokokinone pa je značajno da se odgovarajućim tehnološkim postupcima onemoguće oksidacijski procesi. *Vitamin E* je kemijski spoj kojeg nazivamo α-tokoferol. U prirodi postoji 8 tokoferola (alfa, beta, gama, delta, epsilon, eta i zeta), a od svih navedenih najbolje vitaminsko djelovanje ima α-tokoferol (najveća nutritivna i biološka vrijednost). Tokoferoli i tokotrienoli su najpoznatiji i najčešće korišteni prirodni antioksidansi koji su široko rasprostranjeni samo u biljnim proizvodima. Nalaze se u većim količinama u pšeničnim klicama, sojinom zrnu, biljnim uljima, oraščićima, šparogama, lisnatom povrću, špinatu, cjelovitim žitaricama i žumanjku jajeta. Tokoferoli i tokotrienoli se dijele na izomerne oblike α, β, γ i δ, ovisno o njihovoj strukturi. Tokotrienoli u odnosu na tokoferole imaju jače antioksidacijsko djelovanje. Antioksidacijska

aktivnost tokoferola ovisi o temperaturi i to redoslijedom δ- > γ- > β- > α- tokoferol (Shahidi i Zhong, 2005).

Vitamin C odnosno askorbinska kiselina djeluje kao sinergist sa tokoferolom te funkcionira i kao antioksidans kada se oksidacija odvija u lipidnoj domeni. Vitamin C je topljiv u vodi, ali se može koristiti kao askorbil palmitat u lipid topljivom obliku (Gunstone, 2004).

Lecitin je prirodni fosfolipid (fosfatidilkolin), ima veliku površinsku aktivnost, a komercijalno se proizvodi iz soje (suncokreta, žumanjka jajeta). Vrlo je higroskopan i osjetljiv na hidrolitička i oksidacijska kvarenja. Lecitin u kombinaciji s drugim antioksidansima djeluje kao sinergist. Najbolja je kombinacija lecitina sa askorbil palmitatom i tokoferolom (Rade i sur., 2001).

Ekstrakt zelenog čaja – U zelenom čaju su prisutni polifenoli koji su građeni uglavnom od katehina koji ima antioksidacijska svojstva. Najvažniji katehini zelenog čaja su (-)-epigalokatehin-3-galat (EGCG), (-)-epigalokatehin (EGC), (-)-epikatehin-3-galat (ECG), (-)-epikatehin (EC), (+)-galokatehin i (+)-katehin.

Ekstrakt ružmarina sadrži visoki udio spojeva koji imaju djelovanje antioksidanasa i niski udio esencijalnog ulja i klorofila. Ružmarin je iz tog razloga najbolji izvor antioksidanasa, posebno onaj proizveden iz organskog uzgoja. Organski proizveden ružmarin sadrži određen spojeve koji pokazuju snažnu antioksidacijsku aktivnost kao što je karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina (Gunstone, 2004). Ekstrakt ružmarina pokazuje bolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α-tokoferol, askorbil palmitat i limunsku kiselinu, a s njima u kombinaciji (limunska kiselina), naročito sa askorbil palmitatom pokazuje povećanje aktioksidacijskog utjecaja.

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijske tvari koje same nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali produžuju trajnost i djelotvornost primarnih antioksidanasa. Sinergizam je moguć kod tvari koje imaju različit mehanizam djelovanja i takav sustav ima znatno jače antioksidacijsko djelovanje nego što bi antioksidansi imali pojedinačno. Sinergisti se još nazivaju i sekundarnim antioksidansima, jer nemaju mogućnost izravnog prevođenja slobodnih radikala u stabilne molekule nego djeluju posredno i tako usporavaju oksidaciju. Sinergisti se najčešće dodaju na kraju procesa dezodorizacije. Ova skupina kemijskih tvari obuhvaća sulfite, askorbinsku kiselinu, eritorbinsku kiselinu, polifosfate, vinsku kiselinu, limunsku kiselinu, lecitin, nitrate,

aminokiseline, cink, selen, flavonoide te karotenoide (Eskin i Pryzbylski, 2001).

Mehanizam djelovanja sinergista

Sinergisti vežu tragove metala, inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje. Vodikov atom daju antioksidansu i na taj način regeneriraju i produžavaju vrijeme njegovog trajanja. Sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida tako što se sinergist veže sa radikalom antioksidansa i na taj način zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Koprivnjak, 2006).

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE BILJNIH ULJA

Za određivanje oksidacije masti i ulja potrebno je primjeniti više metoda koje zajedno daju vrijednost primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja. Razlikujemo 3 vrste metoda:

a) **Organoleptičke (senzorske) metode**
b) **Kemijske metode**
c) **Fizikalne metode**

a) Senzorske metode

Senzorsko ocjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti temelji se na određivanju pojave neprijatnog, užeglog mirisa i okusa ulja koji su uzrokovani nastankom sekundarnih produkata oksidacije pri čemu daju neugodan, užegnut miris i okus čak i u vrlo malim koncentracijama (oko 10^{-6} ppm). Organoleptičko (senzorsko) ocjenjivanje biljnih ulja vrlo je važan pokazatelj oksidacijskog stanja ulja u svim laboratorijima gdje se provode analize ulja (Oštrid-Matijašević i Turkulov, 1980; Warner, 1996).

b) Kemijske metode

Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj označava razinu primarne oksidacije masnih kiselina i on pokazuje količinu hidroperoksida kao primarnih produkata autooksidacije masti i ulja, izražene u mmolO_2/kg. Vrijednost peroksidnog broja je usko povezana s načinom čuvanja ulja. Oksidacija masti i ulja je jedna od osnovnih reakcija koja utječe na njihovu zdravstvenu ispravnost, jer produkti reakcije oksidacije utječu na zdravlje potrošača. Kao glavni početni produkti autooksidacije,

peroksidi se mogu odrediti na osnovi sposobnosti da iz KJ u ledenoj octenoj kiselini oslobađaju jod. Peroksidni broj masti ili ulja mjerilo je sadržaja reaktivnog kisika u masti, a izražava se u milimolima peroksida ili milimolima kisika na 1 kg masti ili ulja.

Peroksidi, tj. hidroperoksidi su primarni produkti oksidacije ulja. Peroksidnim brojem dobiva se uvid u sadržaj hidroperoksida (Gunstone, 2004.). Za određivanje peroksidnog broja, osim jodometrijske metode, može se koristiti i kolorimetrijska metoda koja se temelji na oksidaciji željeza (II) u željezo (III) i mjerenjem intenziteta nastalog obojenja. Za biljna, rafinirana ulja smatra se da su dobre kvalitete ako peroksidni broj ne prelazi 5 mmolO_2/kg, dok je za hladno prešena i nerafinirana jestiva ulja dozvoljen peroksidni broj do 7 mmolO_2/kg (NN 41/12). Na kraju procesa dezodorizacije peroksidni broj rafiniranih ulja treba biti 0 mmolO_2/kg kako bi se ulje moglo što duže čuvati i skladištiti (Gunstone, 2004.).

Ansidinski broj (Abr)

Ansidinski broj biljnih ulja određuje se standardnom metodom (ISO 6885). Određivanje ansidinskog broja temelji se na reakciji p- ansidina sa višim nezasićenim aldehidima (2,4-dienil i 2-enal) u kiselom mediju (octenoj kiselini), pri čemu nastaju Shiff-ove baze. Ansidinski broj pokazuje količinu sekundarnih produkata oksidacije (Dimić i Turkulov, 2000; Rade i sur., 2001). Određivanje ansidinskog broja često se koristi za ispitivanje kvalitete sirovih i jestivih ulja te omogućuje potpuniju procjenu ulja (Shahidi, 2005). Ulje dobre kvalitete trebalo bi imati ansidinski broj manji od 10 (Dimić i Turkulov, 2000).

Tiobarbiturni broj (TB)

Test tiobarbiturne kiseline mjeri količinu malonaldehida, sekundarnog produkta oksidacije ulja, nastalog tijekom oksidacije lipida. Tiobarbiturna kiselina reagira sa nastalim malonaldehidom koji se formirao tijekom oksidacijskog cijepanja višestruko nezasićenih masnih kiselina. Prilikom te reakcije stvara se crvena boja, čiji se intenzitet očitava na 532 nm ili žuta boja čiji se intenzitet očitava na 450 nm. Na taj se način određuje tiobarbiturni broj (Pike, 1998; Rade i sur., 2001).

Totox broj

Peroksidni broj (Pbr) u kombinaciji sa ansidinskim brojem (Abr) koristi se za određivanje ukupne oksidacijske vrijednosti (OV) biljnih ulja ili Totox broj (ISO 6885:2006). Rezultat Totox broja izračunava se prema sljedećem izrazu:

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

Totox broj ili oksidacijska vrijednost ulja smatra se vrlo korisnim pokazateljem kvalitete i oksidacijske stabilnosti ulja, jer se preko ansidinskog broja dobije podatak o oksidacijskoj prošlosti ulja, a preko peroksidnog broja dobije se podatak o trenutnom oksidacijskom stanju ulja. U **Tablici 5** prikazane su kemijske metode i ispitivani parametar za ocjenjivanje stupnja oksidacije ulja.

Tablica 5 Kemijske metode i ispitivani parametar za ocjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti (Dimić i Turkulov, 2000)

Kemijske metode	Ispitivani parametar
Peroksidni broj (Pbr)	**Peroksidi**
TBK test (broj)	**Malonaldehid**
Karbonilni broj	**Svi spojevi s karbonilnom grupom**
Ansidinski broj (Abr)	**Nehlapljivi karbonilni spojevi**
Kreis test	**Epoksialdehidi i acetali**
Oksidacijska vrijednost (OV) ili Toxov broj	**OV=2Pbr + Abr, ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije**

c) Fizikalne metode

Tablica 6 Fizikalne metode i ispitivani parametar za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti (Dimić i Turkulov, 2000)

Fizikalne metode	Ispitivani parametar
UV spektrofotometrija	**Konjugirani dieni/trieni**
IR spektrofotometrija	**Primarni i sekundarni produkti oksidacije**
NMR	**Hidroperoksidi i alkoholi**
Flourescencija	**Karbonilni spojevi (malonaldehid) i keton**
Plinska kromatografija	**Hlapljivi spojevi**
HPLC	**Malonaldehid i sekundarni produkti**
Indeks refrakcije	**Primarni i sekundarni produkti oksidacije**
Polarografija	**Hidroperoksidi**
Kulometrija	**Hidroperoksidi**
Kromatografija u koloni	**Polimeri, polarni spojevi**

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja može se definirati kao vrijeme za koje se ulja mogu sačuvati od autooksidacije. Metode koje se koriste za određivanje održivosti ulja temelje se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem temperature i zraka. Kao održivost ulja uzima se vrijeme (u satima) koje je potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja (Pbr). U **Tablici 7** prikazane su analitičke metode za određivanje održivosti ulja i masti.

Tablica 7 Analitičke metode za određivanje održivosti ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

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

Oven test (Schaal Oven test)

Oven test je analitička metoda kojom se ispituje održivost biljnih ulja. Uzorci ulja se zagrijavaju u termostatu ili u sušioniku pri konstantnoj temperaturi 60˚C ili 63˚C u određenom vremenskom periodu. U tom periodu prati se porast peroksidnog broja ili senzorske promjene ulja u određenim vremenskim razmacima (za jestiva ulja test traje najčešće 4 dana). Rezultati Oven testa prikazuju se kao:

- vrijednost perokdisnog broja (Pbr) nakon određenog vremena držanja uzorka (u danima) pri temperaturi od 63˚C (jestiva ulja oko 4 dana),
- broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja (Pbr),
- vrijeme u danima za koje se pojavi užeglost i utvrdi senzorskim analizama (Dimić i Turkulov, 2000).

AOM test (Active Oxygen Method) ili Swift test

AOM test ili Swift test se provodi tako što se uzorci ulja zagrijavaju na 98˚C te kroz njih prolazi struja zraka u Swift uređaju. Uzorci ulja se uzimaju u određenim vremenskim razmacima te im se određuje peroksidni broj (Pbr). Održivost ulja se određuje do peroksidnog broja 5 mmolO_2/kg, jer je to granica pri kojoj je rafinirano ulje još uvijek ispravno (Dimić i Turkulov, 2000).

Rancimat test

Rancimat test je analitička metoda kojom se održivost ulja određuje primjenom Rancimat uređaja u kojem dolazi do ubrzane oksidacije ulja pri konstantnoj povišenoj temperaturi (100, 110, 120 ˚C) uz konstantan dovod zraka. Hlapljivi spojevi koji nastaju tijekom oksidacije ulja pri povišenoj temperaturi, najčešće kratkolančane hlapljive organske kiseline, uvode se u deioniziranu vodu te se mjeri porast vodljivosti i na taj način se prati tijek oksidacije ulja. Vrijeme indukcije, odnosno indukcijski period (IP) koji se određuje na ovaj način, označava se kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka. Prisutnost tih hlapljivih kiselina određuje se konduktometrijski s automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena. Indukcijski period je početna faza autooksidacije ulja u kojoj je količina produkata tako mala da ne djeluje na organoleptička svojstva niti na prehrambenu vrijednost ulja te pokazuje otpornost ulja prema oksidaciji. Ukoliko je vrijeme idnukcije duže to znači da ulje ima bolju održivost ili oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986).

2.7. MIKROVALNO ZAGRIJAVANJE

Zagrijavanje i sušenje pomoću mikrovalova bitno se razlikuje od konvencionalnih metoda zagrijavanja (konvekcija, kondukcija, radijacija). Konvencionalne metode ovise o polaganom kretanju topline od površine materijala do njegove unutrašnjosti, definiranom razlikom temperatura zagrijanog okolnog prostora i hladnog materijala. Zagrijavanje mikrovalnom energijom je volumetrijsko, pri čemu elektromagnetsko polje zagrijava cijeli materijal istodobno. Do zagrijavanja dolazi gotovo trenutačno i može biti vrlo brzo. Ovakav način zagrijavanja rezultira prednostima u odnosu na ostale metode. Prednosti mikrovalnog zagrijavanja u odnosu na druge metode su:

- jednoliko zagrijavanje materijala (izbjegnut veliki temperaturni gradijent),

- djelotvorna ušteda energije (energija reagira direktno s materijalom, ne troši se za zagrijavanje okolnog zraka uređaja,

- bolja i brža kontrola zagrijavanja (trenutačno paljenje i gašenje grijanja te mogućnost promjene stupnja zagrijavanja kontroliranjem izlazne snage),

- selektivno zagrijavanje (elektromagnetsko polje reagira s vlagom, a ne s materijalom pa se direktno zagrijava i uklanja samo vlaga, dok se nosač i materijal zagrijavaju primarnom kondukcijom; ne zagrijava se ništa drugo),

- može se poboljšati kvaliteta produkta (kako se ne razvijaju visoke temperature površine materijala, prigrijavanjem površine i oštećenja materijala su izbjegnute pa je manje otpada),

- rezultira željenim kemijskim i fizikalnim učincima; mnoge reakcije ubrzane unutarnjim zagrijavanjem.

Prijenos topline ovisi o stupnju pobuđenosti molekula u mediju i frekvenciji polja kojem je taj medij izložen.

Mikrovalno (dielektrično) zagrijavanje je pojam koji se koristi ukoliko se primjenjuju relativno male frekvencije na materijal smješten između dvije elektrode kroz koje prolazi električna struja. Elektromagnetsko zračenje se sastoji od spektra valova, koji se mogu rasčlaniti na pojedinačne spektre u ovisnosti o valnoj duljini i frekvenciji. U prehrambenoj industriji pod mikrovalovima podrazumijeva se dio spektra elektromagnetskog zračenja koji obuhvaća frekvencije od 433 do 22 120 MHz (Lovrić, 2003). Dielektrična svojstva materijala imaju važnu ulogu pri obradi mikrovalovima, a to su relativna sposobnost materijala da zadržava energiju, a relativni gubitak dielektričnosti je sposobnost materijala da troši, tj. gubi energiju.

Mikrovalovi su elektromagnetski valovi visoke frekvencije slični onima koje proizvode radio ili televizija. Voda, masti i ulja apsorbiraju mikrovalove, oni daju energiju molekulama u ovim tvarima i uzrokuju trenje koje proizvodi toplinu. Za razliku od tradicionalnih metoda kuhanja kod kojih se toplina prenosi na hranu, kod kuhanja mikrovalovima toplina se stvara u hrani i širi prema van. U mikrovalnoj pećnici hrana se zagrijava pomoću mikrovalova koji se usmjeravaju u namirnicu. Prilikom prolaza mikrovalova kroz namirnicu dolazi do usmjeravanja i trenja molekula vode koje se nalaze u namirnici. Trenje molekula vode uzrokuje zagrijavanje namirnice. Vrijeme kuhanja je zbog prodiranja mikrovalova kroz namirnicu kraće, a iskoristivost energije je potpuna, jer se toplina stvara u namirnici.

Dielektrično zagrijavanje rezultira iz kretanja dipolarnih molekula i njihovog nastojanja da se orjentiraju prme abrzo promjenjivom električnom polju što uzrokuje nastanak topline trenja. Mikrovalovi se apsorbiraju od strane dielektričnog materijala, pri čemu dio svoje kinetičke energije predaju materijalu. Ta energija se pretvara u toplinu i zagrijava materijal. Takva svojstva imaju materijali koji sadrže elementarne električne dipole (molekule) koje izložene djelovanju elektromagnetskog polja polariziraju. Mikrovalovi posjeduju manju moć prodiranja u materijal uz znatno veći intenzitet zagrijavanja (Lovrić, 2003.).

2.7.1. Oksidacijska promjena u biljnim uljima tijekom mikrovalnog zagrijavanja

Prilikom mikrovalnog zagrijavanja biljnih ulja dolazi do nastajanja slobodnih radikala u većoj mjeri, a pri visokim temperaturama moguća je izomerizacija te formiranje trans izomera (Albi i sur., 1997.). Mikrovalovi zagrijavaju namirnicu tako što prodiru unutar materijala. Jačina oksidacije ulja ovisi o udjelu polinezasićenih masnih kiselina, a udio slobodnih masnih kiselina u ulju zagrijanom mikrovalovima se povećava (Sumnu, 2011.). Oksidacijska stabilnost ulja je smanjena, a trigliceridi i digliceridi su skloni toplinskoj hidrolizi, naročito u prisutnosti vode. Mikrovalno zagrijavanje dovodi do povećane razgradnje nutritivnih spojeva kao što su vitamini, esencijalne masne kiseline i fenoli (Oomah i sur., 1998.). Ispitivana je oksidacijska stabilnost biljnih ulja i svinjske masti tijekom mikrovalnog zagrijavanja kod snage uređaja od 500 W. Svinjska mast i biljna ulja su samo umjereno oksidirali tijekom kratkog mikrovalnog zagrijavanja (20 minuta), a intenzivnija oksidacija je zapažena nakon 40 minuta zagrijavanja.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak istraživanja ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije, sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista. Ulje pistacije (kontrolni uzorak), uzorci ulja sa dodanim antioksidansima i sinergistima su zagrijavani u mikrovalnoj pećnici kod različite snage (180 W, 300 W i 450 W) u vremenu 5 minuta. Također, uzorci su zagrijavani u mikrovalnoj pećnici, kod snage 300 W, u različitim vremenima trajanja 5; 10; 15; 20 i 25 minuta. Rezultati ispitivanja prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja ulja tijekom mikrovalnog zagrijavanja.

3.2. MATERIJALI I METODE

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti utjecajem mikrovalnog zagrijavanja koristilo se hladno prešano ulje pistacije, sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista u određenim udjelima. Određivanje početnih kemijskih karakteristika (osnovni parametri kvalitete SMK, Pbr, voda i netopljive nečistoće) ispitivanog ulja pistacije provedeno je primjenom standardnih metoda.

3.2.1. Materijali

Ulje pistacije

Ulje pistacije, hladno prešano ulje, dobiveno od blago prženih jezgri pistacije, proizvedeno u Francuskoj i SAD-u, a punjeno u Njemačkoj (Deluxe, 250 mL), uvoznik Lidl Hrvatska d.o.o.

Antioksidansi

Ekstrakt zelenog čaja

Ekstrakt zelenog čaja *(Camelia sinensis L.*), prirodni ekstakt, dobiven iz listova zelenog čaja, proizvođač firma Naturex, Francuska, vodeća svjetska organizacija u proizvodnji prirodnih sastojaka za prehrambenu industriju.

Ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less CS

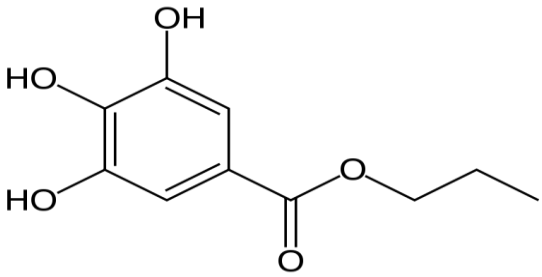
Ekstrakt ružmarina tip Oxy'Less CS (*Rosmarinus officinalis L.*), prirodni ekstrakt, dobiven iz listova ružmarina. Proizvođač firma Naturex, Francuska, vodeća svjetska organizacija u proizvodnji prirodnih sastojaka za prehrambenu industriju.

Ekstrakt nara

Ekstrakt nara (*Punica granatum L.*), prirodni ekstrakt, maltodekstrin, dobiven iz voća nara. Proizvođač firma Naturex, Francuska, vodeća svjetka organizacija u proizvodnji prirodnih sastojaka za prehrambenu industriju.

Propil galat

Propil galat (E310), sintetski antioksidans. Propil galat je propilni ester galne kiseline koja je prirodni biljni fenolni spoj. Često se kombiniraju s TBHQ (E319), BHA (E320) i BHT (E321) jer se njihovi antioksidacijski učinci međusobno pojačavaju.



Slika 4 Propil galat (www.lamba.hr/proizvodi/konzervansi/propil-galat-2)

Eterično ulje rtanjskog čaja

Eterično ulje rtanjskog čaja (*Satureja montana L.*), biljka iz porodice *Lamiaceae*, dobiva se iz listova biljke vrijesak ili planinski čubar. Koristi se u vidu čaja i praha, koji se koristi kao začin za jela.

Sinergisti

Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina (Acidum ascorbicum- Vitamin C), vitamin topljiv u vodi, proizvođač Kemig d.o.o., Zagreb, Hrvatska.

Limunska kiselina

Limunska kiselina monohidrat ($C_6H_8O_7$), bijela je kristalna tvar topljiva kisela okusa, lako topljiva u vodi. Proizvođač T.T.T d.o.o., Sveta nedjelja, Hrvatska.

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

Slobodne masne kiseline (SMK)

Biljna ulja pokazuju određenu kiselost koja nastaje kao rezultat hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima (lipaza), a izražava se kao udjel (%) slobodnih masnih kiselina (SMK). Nastale slobodne masne kiseline u biljnim uljima određene su standardnom metodom (ISO: 660:1996) koja se temelji na principu titracije s otopinom natrij-hidroksida c (NaOH)= 0,1 mol/L. Rezultat se izražava kao udjel (%) slobodnih masnih kiselina izračunat kao oleinska kiselina prema sljedećoj jednadžbi:

$$SMK\ (\%\ oleinske\ kiseline) = V*c*M/\ 10*m$$

V = utrošak otopine natrij-hidroksida za titraciju uzorka (ml)

c = koncentracija otopine natrij-hidroksida za titraciju (c(NaOH) = 0,1 mol/L)

M = molekularna masa oleinske kiseline (M = 282 g/mol)

m = masa uzorka ispitivanog ulja (g)

Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj (Pbr) je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja. Određivanje peroksidnog broja je jedna od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije biljnih ulja. Peroksidni broj (Pbr) ispitivanih biljnih ulja određen je standardnom metodom (ISO: 3960:1998). Rezultat je izražen kao mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja ($mmolO_2/kg$). Vrijednost peroksidnog broja (Pbr) izračunava se prema sljedećoj jednadžbi:

$$Pbr\ (mmolO_2/kg) = (V_1-V_0)*5/\ m$$

V_1 = volumen otopine natrij-tiosulfata ($c(Na_2S_2O_3)$ = 0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka ulja (mL)

V_0 = volumen otopine natrij-tiosulfata ($c(Na_2S_2O_3)$ = 0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

m = masa uzorka ulja (g)

Određivanje vlage u ulju

Količina vlage (vode) i isparljivih (hlapljivih) tvari je važan pokazatelj kvalitete sirovih i rafiniranih biljnih ulja. Zbog prisustva vlage u ulju, pri određenim uvjetima, može doći do hidrolitičkih promjena što rezultira porastom kiselosti ulja, tj. povećava se udio slobodnih masnih kiselina čime se pogoršava kvaliteta ulja. Također, veća količina vlage u ulju može dovesti do zamućenja ulja što dovodi do smanjenja estetske vrijednosti 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 sljedećoj formuli:

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

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).

Udio netopljivih nečistoća u ulju

Netopljive nečistoće u ulju predstavljaju uglavnom mehaničke nečistoće (krute, čvrste čestice iz sjemenki). Također, mogu se naći u uljima i mastima razni ugljikohidrati, tvari s dušikom, smole, Ca-sapuni, oksidirane masne kiseline, laktoni masnih kiselina, hidroksi-masne kiseline i njihovi gliceridi. Za ove spojeve karakteristično je da se ne otapaju u organskim otapalima kao što se otapaju trigliceridi (ulja i masti).

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). Dopuštena maksimalna vrijednost netopljivih nečistoća je 0,1%.

Netopljive nečistoće u uzorcima biljnih ulja su određivane primjenom standardne metode prema normi HRN EN ISO 663:1992. Metoda se zasniva 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 se izražava kao % netopljive nečistoće, a računa se prema sljedećoj formuli:

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

gdje je:

m_0 – masa uzorka (g);

m_1 – masa osušenog filter-lijevka (g);

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

3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Priprema uzorka i mikrovalno zagrijavanje

Priprema uzorka biljnog ulja sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista za analizu utjecaja mikrovalnog zagrijavanja na oksidacijsku stabilnost provedena je tako da se u čašice od 150 ml izvaže određena količina antioksidansa (EX NARA prethodno otopiti u malo vode). Na njih se doda 30 g ulja, zagrijava uz konstantno miješanje na temperaturi 70˚C – 80 ˚C i održava se temperatura 30 minuta. Nakon toga ohladi se na sobnoj temperaturi. Tijekom ispitivanja korištena je mikrovalna pećnica firme Samsung Electronics T.D.S.. Kada se izvadi uzorak ulja iz pećnice izmjeri se temperatura tretiranog ulja, izdvoji se oko 1 g ulja u tikvicu za određivanje peroksidnog broja kao pokazatelj stupnja oksidacije ulja. Temperatura tretiranog ulja se mjeri digitalnim termometrom Elektro Digital – Thermometer (LLG – 6900165).

Utjecaj vremena tretiranja mikrovalovima na stabilnost ulja

Uzorke ulja staviti u čašice i zagrijavati u mikrovalnoj pećnici kod snage 300 W pri različitom vremenu trajanja zagrijavanje (5, 10, 15, 20, 25 minuta). uzorak ulja se nakon 5 minuta tretiranja kod ove snage izvadi iz mikrovalne pećnice i uzme se uzorak za određivanje peroksidnog broja (Pbr), vraća se u pećnicu te zagrijava narednih 5 minuta i tako do ukupnog vremena tretiranja 25 minuta. Oksidacijska stabilnost uzoraka ulja, sa i bez dodatka antioksidanasa i sinergista, prikazuje se kao vrijednost peroksidnog broja određivana svakih 5 minuta tijekom kontinuiranog zagrijavanja uzorka ulja u trajanju 25 minuta, kod konstantne snage uređaja (300 W).

Utjecaj snage tretiranja mikrovalovima na stabilnost ulja

Uzorke pripremiti u čašu od 250 mL i izvagati antioksidans, dodati 30 g ulja i zagrijavati uz konstantno miješanje (70- 80˚C, 30 min.). Tako pripremljene uzorke razvagati 3 puta u čašice od 150 ml. Prvu seriju staviti u mikrovalnu pećnicu na 180 W, 5 minuta, izmjeriti temperaturu i uzorkovati za određivanje peroksidnog broja (Pbr). Isti postupak ponoviti i kod snage uređaja od 300 W i 450 W.

4. REZULTATI

Tablica 8. Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja pistacije (Pravilnik, NN 41/12)

UZORAK	Ulje pistacije
Pbr (mmol O_2/kg)	1,50
SMK (% oleinske kiseline)	0,33
Voda (%)	0,026
NN (%)	0,52

SMK – slobodne masne kiseline, izražene kao % oleinske kiseline

Pbr – peroksidni broj, mmolO_2/kg

NN – netopljive nečistoće, (%)

Tablica 9. Utjecaj vremena i temperature mikrovalnog zagrijavanja, kod snage 300 W, na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije, sa i bez dodanog antioksidansa i sinergista

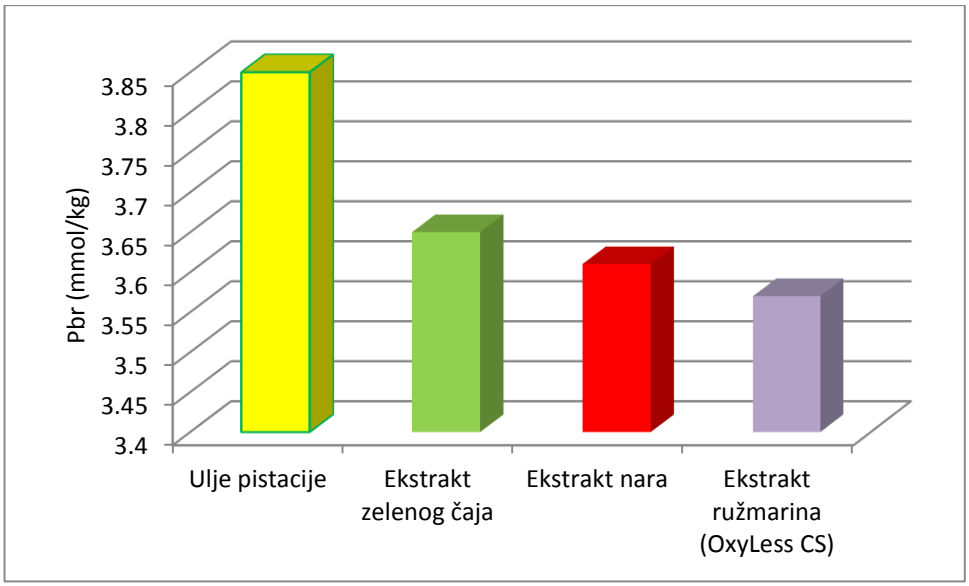
Uzorci	Udio antioksidansa (%)		Vrijeme mikrovalnog zagrijavanja (min)				
			5	10	15	20	25
Ulje pistacije (čisto)		T (˚C)	87	112	119	124	125
		Pbr (mmol O_2/kg)	2,08	2,58	2,80	3,10	3,85
Ekstrakt zelenog čaja	0,1%	T (˚C)	89	110	119	122	124
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,80	2,15	2,25	2,81	3,65
Ekstrakt ružmarina (Oxy Less CS)	0,1%	T (˚C)	84	110	119	125	124
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,66	1,73	2,27	2,65	3,57
Ekstrakt nara	0,1%	T (˚C)	86	108	119	122	126
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,90	2,23	2,43	2,97	3,61
PG	0,01%	T (˚C)	86	107	117	123	131
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,56	2,00	2,21	2,77	2,94
RT	0,05%	T (˚C)	80	102	118	123	122
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,73	2,06	2,21	2,46	2,91
Oxy Less CS + LK	0,1%+ 0,01%	T (˚C)	88	108	118	124	129
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,66	1,74	2,25	2,52	2,94
Oxy Less CS + ASK	0,1%+ 0,01%	T (˚C)	83	108	117	124	121
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,80	1,88	2,04	2,50	2,90

PG – propil galat,

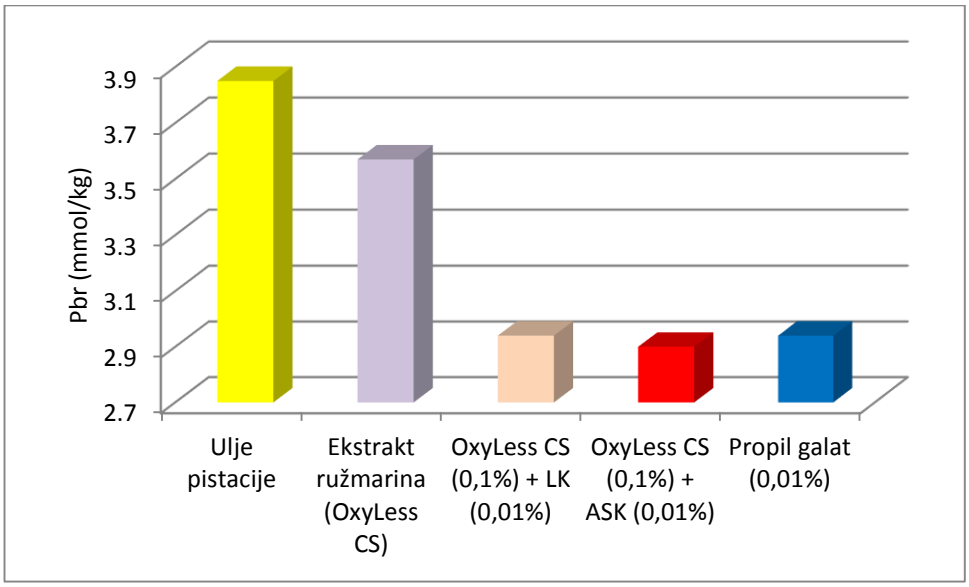
RT – eterično ulje rtanjskog čaja,

LK – limunska kiselina,

ASK – askorbinska kiselina



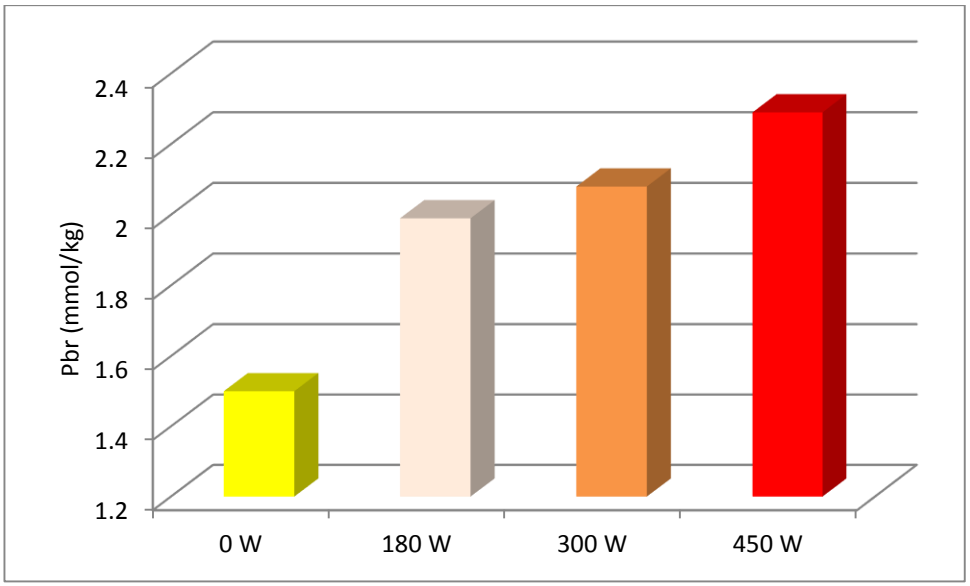
Slika 5. Utjecaj dodatka prirodnog antioksidansa (0,1%) i mikrovalnog zagrijavanja (25 min, 300 W) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije



Slika 6. Utjecaj dodatka ekstrakta ružmarina (0,1%), propil galata (0,01%) i sinergista (limunska kiselina i askorbinska kiselina) te mikrovalnog zagrijavanja (25 min, 300 W) na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije

Tablica 10. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavnja, kod 5 min tretiranja, na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije, sa i bez dodanog antioksidansa i sinergista

Uzorci	Udio antioksidansa (%)		Snaga mikrovalnog zagrijavanja (W)		
			180	300	450
Ulje pistacije (čisto)		T (˚C)	57	90	112
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,99	2,08	2,29
Ekstrakt zelenog čaja	0,1%	T (˚C)	63	91	118
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,70	1,82	2,16
Ekstrakt ružmarina (Oxy Less CS)	0,1%	T (˚C)	61	87	124
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,64	1,65	1,85
Ekstrakt nara	0,1%	T (˚C)	61	88	117
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,85	1,98	2,14
PG	0,01%	T (˚C)	56	89	107
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,46	1,51	2,01
RT	0,05%	T (˚C)	58	85	104
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,64	1,67	2,06
Oxy Less CS + LK	0,1%+ 0,01%	T (˚C)	59	86	108
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,63	1,72	1,82
Oxy Less CS + ASK	0,1%+ 0,01%	T (˚C)	62	84	116
		Pbr (mmol O_2/kg)	1,69	1,77	2,05



Slika 7. Utjecaj snage mikrovalnog zagrijavanja kod 5 min tretiranja na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja pistacije

5. RASPRAVA

Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja pistacije (peroksidni broj – Pbr i slobodne masne kiseline – SMK) prikazani su u **Tablici 8**. Izračunate vrijednosti ovih parametara kvalitete ukazuju na to da je ulje pistacije dobre kvalitete jer su svi parametri u skladu sa Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/12).

Rezultati ispitivanja utjecaja mikrovalnog zagrijavanja (vrijeme zagrijavanja i snaga uređaja) te dodatka antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnost (održivost) hladno prešanog ulja pistacije prikazani su u **Tablicama 9** i **10** te na **Slikama 5 - 7**.

U **Tablici 9** prikazan je utjecaj vremena i temperature mikrovalnog zagrijavanja (5, 10, 15, 20 i 25 minuta), kod snage uređaja 300 W, te dodatka antioksidanasa i sinergista na oskidacijsku stabilnost ulja pistacije. Analizom utvrđena vrijednost peroksidnog broja (Pbr) ulja pistacije prije testa od 1,50 ($mmolO_2$ /kg) ukazuje na to da je ulje dobre kvalitete i da nije došlo do većeg oksidacijskog kvarenja. Mikrovalnim zagrijavanjem ovog ulja u trajanju 5 minuta, kod snage uređaja 300 W, došlo je do porasta Pbr na 2,08 ($mmolO_2$ /kg). Daljnjim porastom vremena tretiranja ulja pistacije mikrovalnim zagrijavanjem tijekom 10, 15, 20 i 25 minuta, došlo je do postepenog porasta vrijednosti Pbr. Nekon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja ulja postignuta je vrijednost Pbr 3,85 ($mmolO_2$ /kg). Ovako dobivena niska vrijednost Pbr nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja kod 300 W, govori nam da je ulje pistacije dosta stabilno i otporno prema oksidacijskom kvarenju. Dodatkom pojedinog ispitivanog antioksidansa u ulje pistacije dodatno je postignuta još veća stabilizacija ulja, dakle veća je otpornost prema oksidaciji. Nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja dobivene su niže vrijednosti Pbr u odnosu na uzorak ulja bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak ulja).

Korištenjem prirodnih antioksidanasa (ekstrakta ružmarina tipa Oxy Less CS, ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta nara) udjela 0,1%, snižava se vrijednost Pbr tijekom 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja ulja pistacije. Dodatkom ekstrakta zelenog čaja u ulje pistacije dobiven je Pbr 3,65 ($mmolO_2$/kg) nakon 25 minuta zagrijavanja mikrovalovima. Ekstrakt nara još više povećava stabilnost ulja pistacije, nakon 25 minuta zagrijavanja mikrovalovima, a vrijednost Pbr je 3,61 ($mmolO_2$ /kg). Dodatkom ekstrakta ružmarina (tip Oxy Less CS) u ulje pistacije još se efikasnije postiže zaštita ulja od oksidacije, Pbr je 3,57 ($mmolO_2$ /kg), dakle ostvarema je veća razina zaštite ovog ulja od oksidacijskog kvarenja uzrokovanog mikrovalnim zagrijavanjem u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta nara iste koncentracije (**Tablica 9 i Slika 5**).

Primjenom sintetskog antioksidansa propil galata (PG), udjela 0,01%, u ulje pistacije još je više povećana otpornost ulja prema oksidacijskom kvarenju tijekom 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja. Nakon 25 minuta tretiranja mikrovalovima dobivena je niža vrijednost Pbr (2,94 mmolO_2 /kg) ulja u odnosu na kontrolni uzorak ulja (**Tablica 9**).

Zapaža se da se primjenom propil galata (sintetskog antoksidansa) postigla veća razina zaštite ulja pistacije, tijekom 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja, nego primjenom prirodnih antioksidanasa (ekstrakta zelenog čaja, nara i ružmarina koncentracije 0,1%). Stoga se željela povećati antioksidacijska aktivnost ekstrakta ružmarina dodatkom i pojedinog sinergista (askorbinska kiselina i limunska kiselina, udjela 0,01%). Na **Slici 6** prikazani su rezultati ispitivanja, gdje je vidljivo da se dodatkom sinergista askorbinske kiseline uspjela dobiti niža vrijednost Pbr (2,90 mmolO_2 /kg) nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja ulja pistacije u odnosu na primjenu propil galata. Znači postignuta je veća efikasnost zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja kombinacijom ekstrakta ružmarina i aksorbinske kiseline u odnosu na propil galat čija se primjena danas želi izostaviti zbog zdravstvenih problema. Međutim, dodatkom sinergista limunske kiseline, zajedno sa ekstraktom ružmarina, postiže se ista efikasnost zaštite ulja pistacije od oksidacije zbog kvarenja kao i sa propil galatom.

Korištenjem eteričnog ulja rtanjskog čaja (0,05%) postignuta je najbolja razina zaštite ulja pistacija od oksidacijskog kvarenja izazvanog mikrovalnim zagrijavanjem tijekom 25 minuta tretiranja kod snage uređaja 300 W. Nakon 25 minuta mikrovalnog zagrijavanja dobivena je najniža vrijednost Pbr 2,91 (mmolO_2 /kg), tj. postignuta je ista razina zaštite ulja kao i zajedničkim dodatkom ekstrakta ružmarina (0,1%) i askorbinske kiesline (0,01%).

U **Tablici 10** vidljivi su rezultati ispitivanja utjecaja snage uređaja (150 W, 300 W i 450 W) kod mikrovalnog zagrijavanja, tijekom 5 minuta tretiranja, na oskidacijsku stabilnost ulja pistacije, sa i bez dodatka antioksidansa i sinergista. Mikrovalnim zagrijavanjem ulja pistacije kod snage 180 W, nakon 5 minuta tretiranja, postignuta je vrijednost Pbr 1,99 (mmolO_2 /kg). Daljnjim porastom snage mikrovalne pećnice na 300 W povećava se Pbr na 2,08 (mmolO_2 /kg), a zagrijavanjem ulja kod najveće ispitivane snage 450 W dobiven je Pbr 2,29 (mmolO_2 /kg) (**Slika 7**). Iz navedenog zaključujemo da porast snage uređaja tijekom 5 minuta mikrovalnog zagrijavanja utječe na promjenu oksidacijske stabilnosti ulja pistacije, koje postaje sve nestabilnije. Porastom snage uređaja povećeva se i temperatura ulja koja utječe na vrijednost Pbr, tj. na formiranje primarnih produkata oksidacijskog kvarenja ulja

(hidroperoksidi). Ista pojava porasta vrijednosti Pbr s porastom snage mikrovalne pećnice i zagrijavanjem tijekom 5 minuta zapažena je i kod uzoraka ulja pistacije sa dodatkom pojedinog ispitivanog antioksidansa i sinergista. Ako se promatra oksidacijska stabilnost ovog ulja sa dodatkom antioksidansa, kod korištene snage uređaja 450 W, vidljivo je da se dodatkom ekstrakta ružmarina tipa Oxy Less CS (0,1%) postiže veća stabilnost, održivost, tj. zaštita ulja od oksidacijskog kvarenja (niži je Pbr 1,85 mmolO_2 /kg) u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja (Pbr 2,16 mmolO_2 /kg) i ekstrakta nara (Pbr 2,14 mmolO_2 /kg). Korištenjem sintetskog antioksidansa propil galata (PG), udjela 0,01%, dobivena je veća efikasnost zaštite ulja od oksidacije (Pbr 2,01 mmolO_2 /kg) u odnosu na ekstrakt zelenog čaja i ekstrakt nara. Međutim, primjenom kombinacije ekstrakta ružmarina (0,1%) i sinergista limunske kiseline (0,01%) kod ulja pistacije postignuta je dodatno veća stabilnost ulja od oksidacijskog kvarenja (Pbr 1,82 mmolO_2 /kg) u odnosu na čisti ekstrakt ružmarina. Dodatkom sinergista askorbinske kiseline nije postignuta veća razina zaštite ulja u odnosu na PG (**Tablica 10**).

Dodatkom eteričnog ulja rtanjskog čaja (0,05%) u ulje pistacije ostvarena je veća zaštita ulja od oksidacije (Pbr 2,06 mmolO_2 /kg) nakon 5 minuta tretiranja mikrovalovima, kod snage 450 W, u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta nara (0,1%).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata ispitivanja utjecaja mikrovalnog zagrijavanja te dodatka antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnosti ili održivosti hladno prešanog ulja pistacije mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Vrijeme mikrovalnog zagrijavanja (5-25 min), kod konstantne snage uređaja 300 W, utječe na promjenu održivosti hladno prešanog ulja pistacije.

2. Porastom vremena tretiranja ulja mikrovalovima smanjuje se oksidacijska stabilnost ulja što rezultira porastom peroksidnog broja.

3. Dodatkom pojedinog ispitivanog antioksidansa u ulje pistacije postiže se veća stabilnost ovog ulja prema oksidacijskom kvarenju tijekom mikrovalnog zagrijavanja, kod snage uređaja 300 W u vremenu tretiranja 5-25 min.

4. Korištenjem prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (Oxy Less CS), udjela 0,1%, postiže se veća razina zaštite ulja pistacije prema oksidacijskom kvarenju (niža vrijednost Pbr) u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja i nara u uvjetima mikrovalnog zagrijavanja (300 W, 5-25 min).

5. Dodatkom sintetskog antioksidansa propil galata, udjela 0,01%, ostvarena je veća razina zaštite ulja pistacije, tijekom 25 min mikrovalnog zagrijavanja (kod snage 300 W), nego primjena ekstrakta ružmarina, zelenog čaja i nara.

6. Kombinacijom sinergista askorbinske kiseline (0,01%) sa ekstraktom ružmarina (0,1%) ostvarena je veća zaštita ulja pistacije od oksidacije tijekom 25 min mikrovalnog zagrijavanja u odnosu na primjenu propil galata.

7. Dodatkom eteričnog ulja rtanjskog čaja (0,05%) zapažena je najbolja efikasnost zaštite ulja pistacije od oksidacijskog kvarenja izazvanog mikrovalnim zagrijavanjem tijekom 25 min tretiranja kod snage uređaja 300 W. Postignuta je ista razina zaštite ulja kao i kod kombinacije ekstrakta ružmarina (0,1%) sa askorbinskom kiselinom (0,01%).

8. Primjenom veće snage mikrovalnog zagrijavanja dolazi do većeg oksidacijskog kvarenja ulja pistacije, smanjuje se stabilnost ili održivost ulja.

9. Porastom snage uređaja sa 150 W na 300 W i 450 W, tijekom 5 min mikrovalnog zagrijavanja, dolazi do porasta temperature ulja i vrijednosti peroksidnog broja.

10. Prilikom mikrovalnog zagrijavanja (450 W, 5 min) i dodatka ekstrakta ružmarina (0,1%) te kombinacijom ekstrakta ružmarina (0,1%) sa sinergistom limunskom kiselinom (0,01%) postiže se veća stabilnost ulja pistacije u odnosu na primjenu drugih ispitivanih antioksidanasa.

7. LITERATURA

Abramović, H., Abram, H. Effect of added rosemary extract on oxidative stability of *Camelina sativa* oil. Acta agriculturae Slovenica 87 (2): 225-261, 2006.

Albi, T., Lanzon, A., Leon, M., Perez- Camino, M.C. Microwave and conventional heating effects on thermoxidative degradation of edible fats. Journal *of Agricultural Food Chemistry*. V.45, n.10, 3795-3798, 1997.

Andrikopoulus, N.K., Salta, F.N., Mylona, A.,Chiou, A., Boskou, G.: Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science ond Technology International* 13 (6): 413-421, 2007

Anjum F. Anwar F, Jamil A, Iqbal M: Microwave roasting effects on the physico-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil. Journal of the American Oil Chemist' Society. 83:777-784, 2006.

Arena, E., Ballistreri G., Fallico B.: Effect of postharvest storage temperatures on the quality parameters of pisachio nuts. Czech J. Food Sci., 31: 467-473, 2013.

Aslan, M., Orhan, I. & Sener, B.:Comparison of the seed oils of *Pistacia vera L*. of different origins with respect to fatty acids. *International Journal of Food Science and Technology,* 37, 333-335. 2002.

Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P., P.R. and Gruzdiene: Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapesseed oil. Food Res. Int., 33, 2000.

Barringer , S.A.: Experimental and predictive heating rates of microwave food systems. Dissertation Abstracts International B, 55: 4188, 1995.

Biswas, A., Adhvaryu, A., Stevenson, D.G., Sharma, B.K.,Willet, J.L., Erhan, S.Z.,: Microwave irradiation effects on the structure, viscosity, thermal properties and lubricity of soybean oil. Industrial Crops and Products 25,: 1-7, 2007.

Bockisch, M., Fats and oils handbook. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.

Briante, R., Patumi, M., Terenzian, S., Bismunto, E., Febbraio, F., Nucci, R. Olea europaea L. leaf extract and derivatives: Antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (17): 4934-4940, 2002.

Broadbent, C.J., Pike, O.A. Oil stability indeks correlated with sensory determination of oxidative stability in canola oil*. Journal of the American Oil Chemists Society* 80: 59-63, 2003.

Caggiula, AW., Mustad, VA. Effect of dietary fat and fatty acids on coronary artery disease risk and total and lipoprotein cholesterol concentrations. Epidemiologic studies, Am.J.Clin.Nutr., 65 (suppl), 1597S-1610S, 1997.

Chiavaro, E., Rodriguez-Estrada, M.T., Vittadini, E., Pellegrini, n.,: Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. LWT-Food Science and technology 43: 1104-1112, 2010.

Chahed, T., Bellila A., Dhifi, W., Hamrouni, I., M'hamdi, B., Kchouk, M.E. and Marzpuk, B.. Pistachio (*Pistacia vera*) seed oil composition: geographic situatio and variety effects. Grasas Y Aceites, 59 (1), Enero- Marzo, 51-56, 2008.

Delaš I: Zaboravljene vrijednosti- bučino ulje. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam. 5(1-2):38-42, 2010.

Deuel, H.J., jun. The lipids, vol.1. New York: Interscience Publishers Inc, 1951.

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

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

Dostalova J., Hanzlik P., eblova Z., & Pokorny J. Oxidative changes of vegetable oils during microwave heating. Czech Journal of Food Science, 23, 230-239, 2005.

Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E.,: A kinetic study of oxidation development in sunflower oil under microwave heating: Effect of natural antioxidants. Food research international 42: 1171-1177, 2009.

Eskin, N.A.M., Przybylski , R. Antioxidants and shelf life of foods. In Eskin N.A.M., Robinson D.S.: Food Shelf Life Stability. CRS press, NY, Washington, 2001.

Farag, R.S., Mahmoud, E.A., Basuny, A.M. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. International Journal od Food Science and Technology 42(1): 107-115, 2007.

Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., Sarabi, M. Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. European Journal of Lipid Science and Tehnology 110 (6): 587-592, 2008.

Gray JI: Measurement of Lipid Oxidation: a Review. J.Am.Oil Chem.Soc., 55, 1978.

Gohari Ardabili A, Farhoorsh R, Haddad Khodaparast MH: Chemical composition and physicochemical properties of pumpkin seeds (Cucurbita pepo L. var. Styriaka) grown in Iran. Journal of Agricultural Science and Technology. 13:1053-1063, 2011.

Grompone MA: Sunflower oil. Ubailey's Industrial Oil and Fat Products (6nd edition). Fereidon Shahidi, Canada, 2005.

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

Hassanein, M.M., El-Shami, S.M., El-Mallah, M.H.,: Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. Grasas y Aceites 54: 343-349, 2003.

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

Huang, CJ., Lee,HJ., Chung- Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih., 28, 175, 1990.

Hui, YH.,: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Fifth Edition Vol. 2., Edible Oil and Fat Products: Oils and Oilseeds. USA, 1996.

Jovičić D, Marjanović-Jeromela A, Vujaković M, Marinković R, Sakač Z, Nikolić Z, Milošević B: Uticaj različitih doza NPK đubriva na kvalitet semena uljane repice. Semenarstvo. 48:125-130, 2011.

Karlović, Đ., Andrid, Kontrola kvalitete semena uljarica. Tehnološki fakultet, Novi Sad, Savezni zavod za standardizaiju, Beograd, 1996.

Kiatsrichart, S., Brewer, M.S., Cadwallader, K.R., Artz, W.E. Pan-frying stability of NuSun oil, amid-oleic sunflower oil. J.Am. Oil Chem. Soc., 80, 2003.

Kiš D, Jurić T, Guberac V, Voća N, Rozman V, Plašćak I: Fizikalna svojstva sjemena nekih hibrida uljane repice. Sjemenarstvo. 25:1, 2008.

Koprivnjak, O. Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola. Poreč 2006.

www.lamba.hr/proizvodi/konzervansi/propil-galat-2

Landeka I, Teparić R, Perica T, Đikić, Rogić D: Effects of Dietary Lipids on Lipoprotein Profile. Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology ND Nutrition 5 (3-4): 114- 126, 2010.

Laubli,. MW., Bruttal, PA. Determination of the Oxidative Stability of Fats and Olis: Comparison between the Active Oxygen method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat Method. J.Am.Oil Chem. Soc., 63, 1986.

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

Madhavi,. D.L. Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives Food Mandić, ML. Znanost o prehrani. Osijek, 47-48, 2007.

Marcone, M. Analytical Techniques in Food Biochemistry. In Food Biochemistry and Food Procesing. Blackwell Publishing, USA, 2006.

Marjanović-Jeromela, A. Marinković, R., Vasid, D.M., Škorid, D.Sadržaj ulja u semenu uljane repice, Brassica napus L. u: 43. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Budva, Zbornik radova, str. 117-122, 2002.

Martin-Polvillo, M., Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, M.C. Oxidative stability of sunflowers oils differing in unsaturatiom degree during long-term storage at room temperature. *Journale of the American oil Chemists Society* 81: 577-583, 2004-

Matthaus, B.W. Determination of the Oxidative Stability of Vegetable oils ba Rancimat and Conductivity and Chemiluminescence Measurements. Journal of the American Oil Chemists Society 73 (8): 1039-1043, 1996.

Merill, L.I., Pike, O.A., Ogden, L.V. Oxidative Stability of Conventional and High-oleic Vegetable oils with Added Antioxidants. Journal of the American Oil Chemists Society 85: 771-776, 2008.

McMurry, J.Organic Chemistry, Seventh Edition- Cornell University. 2008.

Miyashita, k., Takagi, T.Study on the Oxidative Rate and Prooxidant Activity of Free Fatty Acids. J.Am.Oil Chem.Soc., 63, 1986.

Nenadis, N., Moutafidou, A., Gerasopoulos, D., Tsimidou, M.Z. Quality characteristic of olive leaf- olive oil preparations. European Journal of Lipid Science and Technology 112 (12): 1337-1344. 2010.

Neđeral Nakid S., Rade D., Škevin D., Štrucelj D., Mokrovčak Ž., Bartolid M. Chemical characteristic of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo L. European* Journal Lipid Science and Technology 108, 936.943, 2006.

NN 22/10. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Pravilnik o jestivim uljima i mastima.

Novak, J.S., Sapers, G.m., and juneja, V.K., Microbial Safety of Minimally Processed Foods, CRC Press, 2002.

Nyam K.L., Tan C.P., Lai O. M., Long K., Che Man Y. B. Physicochemical properties and biactive compounds of selected seed oils. Food Science and Technology, 42, 1396-1403, 2009.

O'Brien R.D. Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications, CRC Press, Washington, 2004.

Oomah, B.D., Liang L., Godfrey D. & Mazza G. Microwave heating of grapeseed: effect on oil quality. Journalof Agricultural and Food Chemistry, 46, 4017-4021, 1998.

Oštrid-Matijašević, B., Turkulov, J. Tehnologija ulja i masti. Novi Sad, 1980.

Pan, Y., Zhang, X., Wang, H., Liang, Y., Zhu, J., Li, H., Zhang, z., Wu, Q. Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in Peanut oil. Food Chemistry 105,: 1518-1524, 2007.

Pike, O.A., Fat characterization. In Food Analysis. Ed. By S:S: Nielsen. Gaithersbury, Maryland: Aspen Publishers, Inc. Pp 221-225, 1998.

Przybylski, R., Malcolmson, L.J., Eskin, N.A.M., Durance-Tod, S., Mickle, J., Carr, R.,: Stability of Low Linolenic Acid Canola Oil to Accelerated Storage at 60 ˚C. Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie 26 (3): 205-209, 1993.

Rac, M. Ulja i Masti. Beograd, 1964.

Rade, D., Morkovčak, Z., Štrucelj, D. Priručnik ze vježbe iz kemije i tehnologije lipida. Zagreb, 2001.

Reiner, Z., Način života i kronične bolesti. Promjena načina života – ključni čimbenik u liječenju hiperlipidemije. Medicus, Vol 9., 2000.

Rovellini, P., Cortesi, N., Fedeli, E.,: Ossidazioni dei lipidi. Nota 1. Rivista Italiana delle Sostanze Grasse 74, 181-189, 1997.

Shahidi, F., Zhong, Y. Antioxidants: Regulatory status. In F. Shahidi: 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. F. Shahidi, AOCS Press, Champaing, Illinois, 1997.

Shahidi, F., Quality Assurance of Fats and Oils. In F. Shahidi: Bailey's Industrial Oils and Fats Products. Newfoundland, Canada, 2005.

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

Sumnu, G., A review on microwave baking of foods. Int. J. Food Sci. Technol., 36: 117-127, 2011.

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

Škrtić Z, Kralik G, Gajčević Z, : Obogaćivanje jaja s PUFA n-3. Krmiva. 48:95-103, 2006.

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

Tyagi, V.K., Vasishtha, A.K. Changes in the Characteristic and Composition of Oils During Deep-Fat Fryng. J. Am.Oil Chem. Soc., 73, 1996.

Vidyasagar, K., Ayra, S.S., Premevalli, K.S., Parihar, D.B., Nath, H.J. Food Sci. Technol., 11, 73, 1974.

Vieira, T.M.F.S. & Regitano-d Arce, M.A.B. Ultraviolet spectrofotometric evaluation of corn oil oxidative stability during microwave heating and oven test. *Journal and Aqricultural and Food Chemistry,* 47, 2203-2206, 1999.

Warner, K., Flavors and sensory evauation Ch. 5. In Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 5th ed., Vol.1, Y.H. Hui (Ed), p. 105. John Wiley i sons, New York, 1996.

Warner, K. Chemistry of Frying Oils: In Akoh, C.C., Min, D.B.: Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Boitechnology, Marcel Dekker, Inc, 2002.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M. Stabilization of edible oils with nature antioxidants. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 103, 2001.

Yoshida, H., Tatsumi, M. & Kajimoto G. Influence of fatty acids on the tocopherol stability in vegetable oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists Society,* 69, 119-125, 1992.