Utjecaj dodataka mješavine antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost repičinog ulja

Bigić, Tamara

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:412480

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

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

Tamara Bigić

UTJECAJ DODATKA MJEŠAVINE ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST REPIČINOG ULJA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, svibanj, 2014.

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Tihomiru Moslavcu na pomoći prilikom odabira teme te stručnom usmjeravanju pri izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem se i tehničarki Danieli Paulik na praktičnoj pomoći tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Posebno zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je omogućila studiranje, pružila podršku i razumijevanje tijekom studiranja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na 6. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 25. ožujka 2014.
Mentor: izv. prof. dr. sc. Tihomir Moslavac
Pomoć pri izradi: kemijski tehničar Daniela Paulik

UTJECAJ DODATKA MEJŠAVINE ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST REPIČINOG ULJA

Tamara Bigić, 151-DI

Sažetak:

Oksidacija lipida je jedan od glavnih problema tijekom proizvodnje, prerade i primjene jestivih biljnih ulja, koja uzrokuje promjenu kemijskih, senzorskih i nutritivnih svojstava.
U ovom radu istraživan je utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta nara, ekstrakta ružmarina – StabilEnhance OSR) u udjelima 0,2% i 0,4% te sintetskog antioksidansa oktil galata u udjelu 0,01% na stabilnost repičinog ulja i na mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50:50). Ispitivan je i utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa (0,2% i 0,4%) na promjenu oksidacijske stabilnosti repičinog ulja. Određivanje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja te utjecaj antioksidanasa, provedeno je testom ubrzane oksidacije ulja Schaal oven testom (63 °C).
Rezultat oksidacije ulja izražen je peroksidnim brojem tijekom četiri dana testa. Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja efikasnije se štiti repičino ulje od oksidacijskog kvarenja u odnosu na ekstrakt nara i sintetski antioksidans oktil galat. Dodatkom ekstrakta nara ne postiže se zaštita repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja. Mješavina ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta ružmarina (50:50), udjela 0,2 % i 0,4%, pokazuje veću efikasnost zaštite repičinog ulja.

Ključne riječi: Repičino ulje, oksidacijska stabilnost, prirodni antioksidansi, sintetski antioksidansi

Rad sadrži: 50 stranica
6 slika
11 tablica
44 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: Svibanj, 2014.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

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

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Technology of Oils and Fats
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no.6 held on March 25, 2014.
Mentor: Tihomir Moslavac, PhD, associate prof.
Technical assistance: Daniela paulik, Chemical Technical

THE IMPACT OF ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STABILITY OF RAPESEED OIL

Tamara Bigić, 151-DI

Summary:

Lipid oxidation is one of the main problems during the production, processing and using of edible oil which causing a major change in the chemical, sensory and nutritional properties.
In this study the effect of the addition of natural antioxidants (green tea extract, pomegranate extract, rosemary extract – StabilEnhance OSR) proportions of 0,2% and 0,4%, and effect of synthetic antioxidant octyl gallate proportions of 0,01% on oxidative stability of rapeseed oil and oil mixture of rapeseed oil and sunflower oil (50:50). The impact of the addition of a mixture of natural antioxidants (0.2% and 0.4%) to change the oxidation stability of rapeseed oil was also investigated. Determination of the oxidation stability of rapeseed oil, and the effect of addition of antioxidants conducted accelerated oxidation test oil Schaal oven test (63 °C).
Result of oxidation of the oil is expressed by peroxide value during the four days of the test. Natural antioxidant green tea extract effectively protect investigated rapeseed oil against oxidative deterioration compared to pomegranate extract and synthetic antioxidant octyl gallate. The addition of pomegranate extract achieves the protection of rapeseed oil from oxidative deterioration. A mixture of green tea extract and rosemary extract (50:50), of 0.2% and 0.4%, showing a higher protection efficiency of rapeseed oil.

Key words: Rapeseed oil, oxidative stability, natural antioxidants, synthetic antioxidants

Thesis contains: 50 pages
6 figures
11 tables
44 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: May, 2014.

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

Sadržaj

1. UVOD ... **1**

2. TEORIJSKI DIO ... **4**

2.1. BILJNA ULJA ... **5**

2.2. VRSTE I SVOJSTVA BILJNIH ULJA ... **10**

2.2.1. Ulje uljane repice ... 10

2.2.2. Suncokretovo ulje ... 13

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA ... **16**

2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi ... 17

2.3.2. Kemijski procesi ... 18

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA ... **21**

2.4.1. Antioksidansi ... 21

2.4.2. Sinergisti ... 25

2.5. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJE ULJA ... **25**

2.5.1. Kemijski pokazatelji stupnja oksidacije ulja i masti ... 28

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA ... **29**

2.6.1. Oven test ili Schaal – Oven test ... 29

2.6.2. AOM (Active Oxygen Method) test ili Swift test ... 30

2.6.3. Rancimat test ... 30

3. EKSPERIMENTALNI DIO ... **31**

3.1. ZADATAK ... **32**

3.2. MATERIJALI I METODE ... **32**

3.2.1. Materijali ... 32

3.2.2. Metode rada ... 33

3.2.2.1. Priprema uzorka ... 33

3.2.2.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK) ... 34

3.2.2.3. Određivanje peroksidnog broja (Pbr) ... 35

3.2.2.4. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja – Oven test ... 35

4. REZULTATI ... **36**

5. RASPRAVA ... **43**

6. ZAKLJUČCI ... **46**

7. LITERATURA ... **48**

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet
SMK	Slobodne masne kiseline
EMK	Esencijalne masne kiseline
Pbr	Peroksidni broj
Abr	Anisidinski broj
RH	Masne kiseline
R·, RO·	Slobodni radikali
ROO·	Radikal peroksida
ROOH	Hidroperoksid
HOO·	Radikal vodikovog peroksida
R – R, ROOR	Polimeri
AH	Antioksidansi
BHA	Butil hidroksianisol
BHT	Butil hidroksitoluen
PG	Propil galat
OG	Oktil galat
IP	Indukcijski period
LEAR	Ulje repice s niskim udjelom eruka kiselina (Low Erucic Acid Rapesseed)
HEAR	Ulje repice s visokim udjelom eruka kiselina (High Erucic Acid Rapesseed)
TBHQ	Tercijarni butilhidrokinon
TB	Totox broj

1. UVOD

Biljna ulja su neizostavan dio prehrane, uz ugljikohidrate i proteine glavni su sastojci hrane i važan izvor energije. Doprinose kvaliteti i održivosti proizvoda, kaloričnoj vrijednosti i željenom okusu i mirisu. Zbog toga je najznačajnije svojstvo biljnih ulja oksidacijska stabilnost odnosno održivost.

Kvarenje biljnih ulja ima veliki ekonomski i biološko-nutritivni značaj, jer su ograničenog roka trajanja i vrlo brzo podliježu promjenama. Najčešći proces kvarenja je oksidacija biljnih ulja i masti čije posljedice dovode do užeglosti prehrambenih proizvoda odnosno stvaranja razgradnih produkata koji daju neprijatan miris, okus i štetni su za zdravlje (slobodni radikali i peroksidi).

Oksidacijsko kvarenje je osnovni proces koji dovodi do kvarenja i užeglosti prehrambenih proizvoda tijekom proizvodnje, prerade i skladištenja hrane čime se dobije neprihvatljiv prehrambeni proizvod za potrošača. Stoga se mora voditi briga o kvaliteti ulja i masti, postupcima prerade i uvjetima skladištenja. Najčešći tip kvarenja biljnih ulja je oksidacijsko kvarenje koje predstavlja proces oksidacije ugljikovog lanca masne kiseline što rezultira promjenom organoleptičkih svojstava ulja i nastankom štetnih i nepoželjnih tvari (peroksidi, β-ketoni, aldehidi, ketoni i dr.), te gubitak dijela bioloških aktivnih stvari (vitamini, provitamini, EMK i dr.). Prema tome ovo je kvarenje potrebno spriječiti ili usporiti.

Poznavanje oksidacijske stabilnosti (održivost) biljnih ulja je bitno za definiranje roka upotrebe ulja zato što ono predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od degradacijskih procesa autooksidacije. Stupanj oksidacije biljnih ulja određuje se pomoću brojnih analitičkih metoda i raznih testova kao što su: Rancimat test, Swift test, test održivosti pri 98 °C i Oven test (testovi ubrzane oksidacije ulja).

Održivost biljnih ulja se može poboljšati dodatkom antioksidanasa. Danas se za poboljšanje oksidacijske stabilnosti ulja koriste mnogobrojni prirodni i sintetski antioksidansi pri čemu se više preferiraju prirodni antioksidansi. Ustanovljeno je da slobodne masne kiseline također mogu djelovati prooksidacijski, odnosno ubrzati oksidaciju ulja i time smanjiti oksidacijsku stabilnost ulja.

Zadatak ovog rada je bilo ispitivanje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja te mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50 : 50) primjenom Oven testa. Također se pratio utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa: ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta nara, ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) udjela 0,2% i 0,4% i sintetskog antioksidansa OG udjela 0,01% te mješavine prirodnih antioksidanasa (ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt nara, ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt ružmarina, ekstrakt nara + ekstrakt ružmarina) udjela 0,2% i 0,4% na

produženje stabilnosti čistog repičinog ulja i mješavine ulja. Za ovo ispitivanje koristilo se rafinirano repičino ulje i rafinirano suncokretovo ulje iz trgovine.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. BILJNA ULJA

Na temelju agregatnog stanja pri sobnoj temperaturi te prema odnosu zasićenih i nezasićenih masnih kiselina razlikujemo ulja i masti (Mandić, 2003). Jestiva ulja i masti su u vodi netopljive tvari biljnog ili životinjskog podrijetla koje sadrže pretežno estere alkohola glicerola i masnih kiselina, tzv. triacilgliceroli ili trigliceridi. Pripadaju skupini spojeva lipida gdje se nalazi veliki broj kemijskih spojeva sličnih po sastavu, a zajedničko im je da se dobro otapaju u organskim otapalima (dietileter, heksan i dr.).

Biljna ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina i na sobnoj temperaturi su u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti (Mandić, 2003).

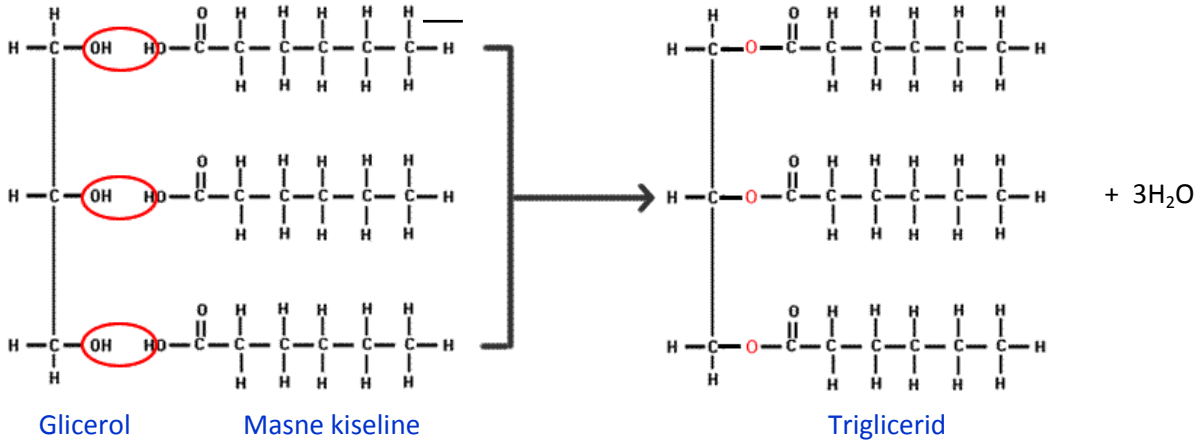
Prirodne lipide prema strukturi i sastavu biljnih ulja dijelimo na:

- **Jednostavni lipidi**: ulja (masti), voskovi
- **Složeni lipidi**: fosfolipidi, glikolipidi, sulfolipidi i dr.
- **Derivati lipida**: masne kiseline, masni alkoholi, aldehidi, steroli i dr.

Jednostavni lipidi se često nazivaju neutralne masti (triacilgliceroli i poligliceridi) i voskovi (Rac, 1964). Triacilgliceroli masnih kiselina se mogu pronaći u prirodi uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih skupina, a voskovi su esteri viših masnih kiselina i viših masnih alkohola.

Osnovni sastojci biljnih ulja su trigliceridi (triacilgliceroli) uz koje dolazi i manji udio drugih negliceridnih sastojaka na koje se odnosi 1 – 2%. Negliceridne tvari se ne mogu osapuniti pa se nazivaju i neosapunjive tvari, a to su: liposolubilni vitamini (A, D, E ,K), karotenoidi, steroli, fosfolipidi, voskovi, pigmenti, glikozidi, masni alkoholi, tragovi metala i dr. Vrlo poželjni negliceridni sastojci su liposolubilni vitamini i karoteni, dok su nepoželjni voskovi, tragovi metala i fosfatidi, jer smanjuju kvalitetu ulja te se moraju u što većoj mjeri ukloniti tijekom procesa rafinacije ulja.

Trigliceridi su esteri trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina koje mogu biti zasićene, jednostruko i višestruko nezasićene. Većina triglicerida, koji su prisutni u prirodi, u svom sastavu sadrži dvije ili više različitih masnih kiselina.



Slika 1 Prikaz nastanka triglicerida

Trigliceridi nastaju esterifikacijom trovalentnog alkohola glicerola i masnih kiselina. Masne kiseline zauzimaju najveći udio (94 – 96%) u molekuli triglicerida zbog čega znatno utječu na fizikalna i kemijska svojstva triglicerida (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980).

Podjela masnih kiselina se zasniva na:

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

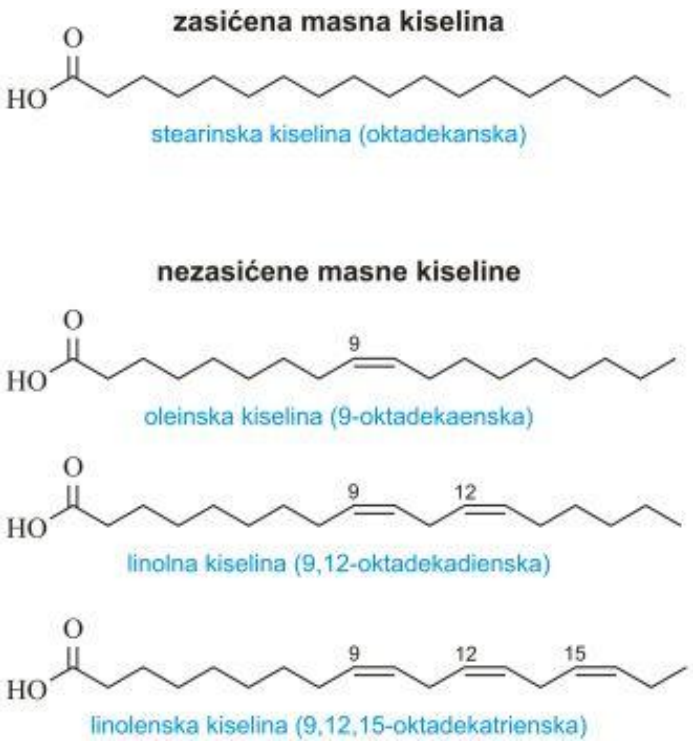
S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikuju se:

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

Prema stupnju nezasićenosti masne kiseline se dijele na:

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

Zasićene masne kiseline (ZMK) imaju maksimalan broj vodikovih atoma vezan za ugljikovodikov lanac. Ugljikovi atomi u masnoj kiselini su povezani jednostrukim vezama (C – C) odnosno svaki C atom je zasićen u lancu molekule, nemaju dvostrukih veza između ugljikovih atoma. Opća formula zasićenih masnih kiselina je CH_3 - $(CH_2)_n$ – COOH. Slabo su reaktivne za reakcije na lancu. Dominiraju u mastima koje su na sobnoj temperaturi u krutom stanju (masti animalnog porijekla).



Slika 2 Prikaz strukture zasićenih i nezasićenih masnih kiselina

Najvažnije zasićene masne kiseline u prirodnim uljima i mastima prikazane su u **Tablici 1**.

Tablica 1 Zasićene masne kiseline

Broj ugljikovih atoma	Naziv masne kiseline (uobičajeni naziv)
4	Maslačna
6	Kapronska
8	Kaprilna
10	Kaprinska
12	Laurinska
14	Miristinska
16	Palmitinska
18	Stearinska
20	Arahinska
22	Behenska
24	Lignocerinska

Točka topljenja masnih kiselina raste s povećanjem broja C atoma u molekuli. U biljnim i animalnim mastima su najzastupljenije: laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska masna kiselina. Zasićene masne kiseline s neparnim brojem ugljikovih atoma dolaze samo u tragovima u prirodnim mastima.

Nezasićene masne kiseline (NMK) u molekuli imaju jednu ili više dvostrukih veza (- CH = CH -). Ovisno o broju dvostrukih veza, nezasićene masne kiseline dijele se na mononezasićene (imaju jednu dvostruku vezu) i polinezasićene (imaju više dvostrukih veza).

Mononezasićene masne kiseline se nalaze u plodu masline, avokadu, kikirikiju i drugim uljaricama i uljarskim kulturama te njihovim uljima. Najzastupljenija mononezasićena masna kiselina (jednostruko nezasićena) u biljnim uljima je oleinska kiselina koja se nalazi, između ostalog, u maslinovom ulju, ulju repice i visokooleinskom suncokretovom ulju (Rade i Škevin, 2004.).

Polinezasićene masne kiseline imaju dvije ili više nezasićenih dvostrukih veza u svojoj molekuli. Najvažnije polinezasićene masne kiseline su:

- linolna (sadrži dvije dvostruke veze),
- linolenska (sadrži tri dvostruke veze),
- arahidonska (sadrži četiri dvostruke veze).

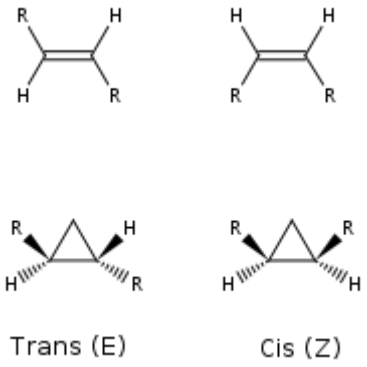
U biljnim i animalnim mastima se najviše pronalaze masne kiseline s 18 C atoma i jednom, dvije ili tri dvostruke veze. Reaktivnost masnih kiselina ovisi o broju i položaju dvostrukih veza zato je važno poznavanje stupnja nezasićenosti i položaja dvostrukih veza u molekuli masnih kiselina za reakcije koje se mogu desiti.

Dvostruke veze mogu biti:

- izolirane - dvostruke veze su razdvojene s jednom ili više metilenskih (- CH_2) skupina,
- konjugirane - dvostruke veze se nalaze u susjednom položaju.

Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, cis i trans obliku.

U prirodi se nezasićene masne kiseline pojavljuju samo u *cis* konfiguraciji. Tijekom hidrogeniranja ulja odvija se adicija molekula vodika na nezasićene veze masnih kiselina uz katalizator pri čemu dolazi do njihovog zasićenja i pretvorbe u krute biljne masnoće. Tako se mijenja prirodna cis struktura masnih kiselina. Učinak svega ovoga je da cis veza ograničava sposobnost skladištenja masne kiseline u manjem prostoru i tako utječe na točku vrelišta masti.



Slika 3 Strukturni prikaz cis - i trans - nezasićene masne kiseline

Trans konfiguracija znači da su dva susjedna atoma vodika vezana na suprotnim stranama dvostruke veze. Oblik lanca je sličan ravnom lancu kao što je u zasićenim masnim kiselinama.

Nezasićene masne kiseline se u prirodi pojavljuju samo u cis obliku. Trans oblik nastaje utjecajem čovjeka i njegove namjere da prerađuje masti (npr. hidrogenacija). Kemijski procesi (osim prešanja) mijenjaju prirodnu cis strukturu masnih kiselina u trans strukturu koja je neprirodna i ljudski organizam je ne može iskoristiti.

Razlike između cis i trans oblika nezasićenih masnih kiselina te između zasićenih i nezasićenih masnih kiselina igraju značajnu ulogu u biološkim procesima (kao što su u ljudskom tijelu) i u izgradnji bioloških struktura (u izgradnji stanične membrane).

Većina masnih kiselina se može u organizmu sintetizirati iz drugih sastojaka hrane (npr. ugljikohidrata), dok se **esencijalne masne kiseline** (linolna i linolenska kiselina) mogu dobiti jedino kroz hranu. Esencijalne masne kiseline pripadaju skupini polinezasićenih masnih kiselina s 18, 20 i 22 ugljikova atoma te sadrže od dvije do šest dvostrukih veza. Ovisno o tome na kojem se ugljikovom atomu nalazi prva dvostruka veza (trećem ili šestom), gledajući od terminalnog metilnog kraja ugljikovog lanca, razlikujemo omega – 3 (ω – 3) i omega – 6 (ω – 6) masne kiseline.

2.2. VRSTE I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

Za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava se više od 20 vrsta biljaka, ali samo 12 biljnih vrsta ima veći ekonomski značaj u svijetu.

Osnovna podjela prema porijeklu sirovine može biti:

- iz mesnatog dijela ploda
- iz sjemena

Ulja i masti proizvedeni iz mesnatog dijela ploda su maslinovo ulje, palmino ulje, avokado ulje itd.

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),
- ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo ulje, sezamovo ulje, ulje šafranike, ulje kukuruzne klice, bučino ulje, repičino ulje, rižino ulje),
- ulja linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, Camelina sativa)

Također postoji i podjela na osnovu većeg udjela masnih kiselina te na osnovu porijekla sjemena.

Ulje prema porijeklu biljke:

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

2.2.1. Ulje uljane repice

Uljana repica, *Brassica napus* L. se uz maslinu ubraja među najstarije uljne kulture. Danas se repica ubraja među pet najvažnijih uljarica u svijetu. Uzgoj repice je moguć u gotovo svim klimatskim područjima, mada se repica smatra uljaricom sjevernih krajeva, jer je otporna na mrazeve. Posljednjih godina interes za proizvodnju uljane repice u Europi je u porastu, zbog korištenja repičinog ulja u proizvodnji „ekološkog goriva“, tzv. biodizela.

Plod repice je mahuna u kojoj broj sjemena varira od 10 do 40, ovisno o vrsti i klimatskim uvjetima. Udio jezgre u sjemenu je 82%, a ljuske oko 18%. Selekcijom su nastale različite sorte repice, koje se mogu dobro prilagoditi različitim klimatskim uvjetima i uzgajati kao jare (ljetne) i ozime (zimske) kulture.

Udio ulja u sjemenu repice u prosjeku se kreće od 39,90% do 46,19%, a proteina od 17,5% do 22,93%. Kod repičinog ulja važno je voditi računa o količini antinutritivnih tvari u sjemenu repice (glukozinolati) i o sastavu masnih kiselina (naročito karakteristične eruka kiseline).

Sjeme repice sadrži i nepoželjne tvari, specifičnu skupinu sumpornih spojeva pod nazivom glukozinolati. Glukozinolati su šećerni anionski tioesteri, koji se lako hidroliziraju pomoću enzima mirozinaze stvarajući čitav niz različitih spojeva kao što su: izotiocijanati, nitrili, tiocijanati i dr. Dobiveni spojevi, zbog svoje veće ili manje toksičnosti, mogu dati gorak okus sačmi i pogači uljane repice koje se koriste u hranidbi životinja.

Ulje klasičnih starih sorti repice sa preko 40% eruka kiselina koristilo se u prehrani i u tehničke svrhe, ali je utvrđeno štetno djelovanje eruka kiseline na zdravlje zbog čega je repičino ulje s visokim udjelom eruka kiseline isključeno iz prehrane.

Kako bi se uklonila nepoželjna svojstva repice, selekcijom su stvorene sorte koje daju ulje s niskim udjelom eruka kiseline, tzv. zero (nula) „0“ sorte. Kanadski istraživači su ovim sortama dali naziv *Canola*, a u Njemačkoj se ove sorte uzgajaju pod nazivom *Sinola*. Ulje ovih sorti repice sadrže maksimum 2% eruka kiseline. Nove sorte s nižim udjelom eruka kiseline i niskim udjelom glukozinolata nose oznake „00“ sorte. Tendencija je da se količina glukozinolata smanji na ispod 20 μmol/g sjemena, odnosno, oko 0,13% sumpora na suho sjeme.

Jestivo repičino ulje po svim standardima mora imati manje od 2% eruka kiseline.

Sastav masnih kiselina kod ulja repice puno ovisi o sorti. Dvije osnovne sorte uljane repice koje se razlikuju prema udjelu eruka kiseline su:

- ulje repice s niskim udjelom eruka kiseline (**LEAR** – Low Erucic Acid Rapeseed) i
- ulje repice s viskom udjelom eruka kiseline (**HEAR** – High Erucic Acid Rapeseed).

U **Tablici 2** prikazana su fizikalno – kemijska svojstva repičinog ulja sa visokim udjelom eruka kiseline i tipa *Canola*.

Tablica 2 Fizikalno – kemijska svojstva repičinog ulja

Parametar	Canola		HEAR
	*	**	*
Relativna gustoća (20°/voda 20 °C)	0,914 – 0,917	0,914 – 0,917	0,910 – 0,920
Indeks refrakcije (n^{40}_D)	1,465 – 1,467	1,465 – 1,467	1,465 – 1,469
Viskozitet (cP), 20 °C	72 - 82	-	86 – 97
Točka dimljenja (°C)	220 - 230	-	-
Točka paljenja (°C)	275 - 290	-	-
Cold test 15^h pri 4 °C	bez zamućenja	-	-
Jodni broj Wijs (g/100g)	-	110 - 126	94 – 120
Sapon. Broj (mg KOH/g)	-	188 - 193	168 – 181
Klorofili (mg/kg)	5 - 35	-	-
Sumpor (mg/kg)	3 - 15	-	-

* Hui Y. H., 1996.

** Bockisch M., 1998.

Jedan od načina oplemenjivanja uljane repice je i smanjenje udjela polinezasićenih masnih kiselina (linolne i linolenske), a povećanje udjela oleinske kiseline. Ovim načinom dobiva se veća oksidacijska stabilnost, pri čemu je ovakvo ulje pogodnije za proces prženja hrane. Osim toga i medicinska istraživanja su ukazala na pozitivne učinke ulja oleinskog tipa u prehrani na određene lipoproteine plazme i smanjenje količine ukupnog kolesterola (Dimić, 2005).

Sastav masnih kiselina ulja raznih sorti uljane repice prikazan je u **Tablici 3**.

Tablica 3 Sastav masnih kiselina ulja raznih sorti uljane repice (% m/m) (Hui Y. H., 1996).

Masna kiselina	Canola	HEAR
$C_{14:0}$	0,1	-
$C_{16:0}$	3,5	4,0
$C_{18:0}$	1,5	1,0
$C_{20:0}$	0,6	1,0
$C_{22:0}$	0,3	0,8
Ukupno zasićene	***6,0***	***6,9***
$C_{16:1}$	0,2	0,3
$C_{18:1}$	60,1	15,0
$C_{20:1}$	1,4	10,0
$C_{22:1}$	0,2	45,1
Ukupno mononezasićene	***61,9***	***70,1***
$C_{18:2}$ n-6	20,1	14,1
$C_{18:3}$ n-3	9,6	9,1
Ukupno polinezasićene	***29,7***	***23,2***

2.2.2. Suncokretovo ulje

Jedna od najznačajnijih sirovina u svijetu za proizvodnju ulja je suncokret (*Helianthus annuus L.*).

Suncokretovo ulje ima ugodan miris i okus, sadrži visoki udio linolne kiseline (18:2) do 75%, koja je esencijalna omega – 6 masna kiselina (linolni – standardni tip) i lako se rafinira. Ovo ulje je bogato vitaminom E koji pripada skupini tokoferola. Tokoferoli su poznati po svom antioksidacijskom djelovanju, štite nezasićene masne kiseline u organizmu od oksidacije.

Tablica 4 Kemijski sastav sjemena suncokreta (% na suhu tvar) (Karlović i Andrić, 1996).

Sastav	Sjeme	Jezgra	Ljuska
Sadržaj ulja	40 – 60	50 – 70	2,5 – 4,5*
Sadržaj proteina (N*6,25)	13,5 – 25,5	20 – 35	4,5 – 6,0
Sadržaj celuloze	38 – 55	3 – 5	50 – 60

* kod ljuske suncokreta su to većinom voskovi

Selekcijom suncokreta stvorena su dva tipa suncokreta (standardni linolni tip i oleinski tip suncokreta) pa tako postoje i više vrsta suncokretovog ulja.

Ulje sa udjelom oleinske kiseline 55 – 70% naziva se srednje oleinsko suncokretovo ulje, a sa 80 – 90% visoko oleinsko suncokretovo ulje. U odnosu na tradicionalno (standardno) visoko linolno suncokretovo ulje, kod ovih ulja se povećava oksidacijska stabilnost (Kiatsrichart i sur., 2003).

Suncokretovo ulje – linolni tip

Standardno linolno suncokretovo ulje u svom sastavu ima linolnu kiselinu kao dominantnu s udjelom od 55 do 75%. U primjeni zauzima visoko mjesto zbog svojih neutralnih senzorskih svojstava i visoke biološke vrijednosti koja je uvjetovana sastavom masnih kiselina i udjelom tokoferola. Suncokretovo ulje sadrži i neosapunjive tvari, a to su tokoferoli, voskovi, ugljikovodici, karotenoidi.

Procesom rafinacije se u sirovom suncokretovom ulju moraju ukloniti voskovi koji potječu najviše iz ljuske.

Tablica 5 Fizikalno-kemijska svojstva suncokretovog ulja linolnog tipa

Parametar	*	**
Relativna gustoća (20°/voda 20 °C)	0,918 – 0,923	0,918 – 0,923
Indeks refrakcije (n^{25}_{D})	1,427 – 1,476	N^{40}_{D} 1,461 – 1,468
Jodni broj (g/100g)	118 – 145	118 – 141
Broj osapunjenja (mg KOH/g)	188 – 194	188 – 194
Neosapunjive tvari (%)	< 1,6 (max 2,0)	≤ 1,5
Ukupni tokoferoli (mg/kg)		440 – 1520
α-tokoferol (ppm)	610	
β-tokoferol (ppm)	10	
Ɣ-tokoferol (ppm)	30	
δ-tokoferol (ppm)	10	
Steroli (mg/kg)		2400 - 5000
Sastav masnih kiselina (% m/m)		
C 16:0 palmitinska		5,0 – 7,6
C 18:0 stearinska		2,7 – 6,5
C 18:1 oleinska	20 – 30	14,0 – 39,4
C 18:2 linolna	60 - 70	48,3 74,0
C 18:3 linolenska		ND – 0,3
C 20:0 arahinska		0,1 – 0,5

* Gunstone F. D., 2008.

** Codex standard for named vegetable oils, 2005. ND – nije određeno

Visokooleinsko suncokretovo ulje

Stvaranje hibrida suncokreta s izmijenjenim sastavom masnih kiselina u ulju omogućeno je oplemenjivanjem biljaka. Kod hibrida visokooleinskog tipa sadržaj oleinske kiseline u ulju je znatno povećan, preko 80%, čak i do 90%, a znatno je smanjen udio linolne kiseline.

Visokooleinsko suncokretovo ulje ima veliku oksidacijsku stabilnost pa se može koristiti za višestruko prženje ili pečenje namirnica te za produljenje trajnosti proizvoda koji u svom sastavu sadrži i to ulje.

Tablica 6 Fizikalno-kemijska svojstva visokooleinskog suncokretovog ulja

Parametar	*	**
Relativna gustoća (20°/voda 20 °C)	0,912 – 0,93	25 °C/20 °C 0,909 – 0,915
Indeks refrakcije (n^{25}_D)	1,4677	N^{25}_D 1,467 – 1,471
Viskozitet pri 25 °C (Pas)	76 – 70	
Jodni broj (g/100g)	84,4 – 86,5	78 – 90
Broj osapunjenja (mg KOH/g)	188,1 – 188,7	182 – 194
Neosapunjive tvari (%)	0,78 – 0,94	≤ 1,5
Ukupni tokoferoli (%)	78,4 – 87,0	(mg/kg) 450 – 1120
Steroli (%)	0,42 – 0,56	(mg/kg) 1700 – 5200
Voskovi (%)	0,03 – 0,10	
Sastav masnih kiselina (% m/m)	***	
C 16:0 palmitinska	4,0 – 4,4	2,6 – 5,0
C 18:0 stearinska	4,3 – 4,5	2,9 – 6,2
C 18:1 oleinska	77,4 – 79,2	75,0 – 90,7
C 18:2 linolna	11,1 – 12,5	2,1 – 17
C 18:3 linolenska	0,1 – 0,4	ND – 0,3
C 20:0 arahinska	1,0 – 1,1	0,2 – 0,5

* Purdy R. H., 1986.

** Codex standard for named vegetable oils, 2005.

*** Frankel E. N., Huang S. W., 1994.

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja su proizvodi ograničene trajnosti, vrlo brzo podliježu nepoželjnim promjenama: kemijskim reakcijama, enzimskim i mikrobiološkim procesima, zbog kojih dolazi do kvarenja ulja. Proces kvarenja ovisi o mnogim čimbenicima, a glavni su kvaliteta ulja i uvjeti čuvanja. Posljedice navedenih promjena su nastanak spojeva koji narušavaju organoleptička svojstva i smanjuju nutritivnu vrijednost ulja gubitkom biološki aktivnih tvari (vitamini, provitamini, esencijalne masne kiseline i dr.), a nastankom nepoželjnih i štetnih tvari kao što su polimeri i peroksidi. Vrlo je važno spriječiti kvarenje ulja već od samog trenutka ubiranja i skladištenja sjemena, ali i tijekom proizvodnje i upotrebe ulja praćenjem odgovarajućih parametara (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

Vrste kvarenja biljnih ulja:

1) Enzimski i mikrobiološki procesi
2) Kemijski procesi

2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Za ove procese kvarenja neophodno je prisustvo enzima ili mikroorganizama, odgovarajuća sredina i uvjeti (količina vode, pH, optimalna temperatura) za njihov razvoj. Enzimski procesi su karakteristični za sirovine. Sjeme diše te oslobađa toplinu koja povećava temperaturu koja dalje povećava aktivnost autohtonih enzima. Stoga je važno pravilno skladištiti sjemenke i plodova uljarica pod odgovarajućim uvjetima kako ne bi izazvalo kvarenje.

Procesi koji uzrokuju mikroorganizmi značajni su za proizvode koje sadrže masti i ulja i dijele se na hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju.

Hidrolitička razgradnja je reakcija hidrolize triacilglicerola pri kojoj dolazi do cijepanja esterske veze masnih kiselina i alkohola glicerola u prisutnosti vode i enzima lipaze. Temperatura veća od 80 °C i niža od -20 °C inaktivira lipolitičke enzime te dovodi do zaustavljanje procesa hidrolitičke razgradnje ulja (Rade i sur., 2001). Do ove razgradnje dolazi prvenstveno u ulju unutar ploda masline, ali i u izlučenom ulju, ako je u dodiru s vodom i ako se čuva u neprikladnim uvjetima te kao posljedica nastaju slobodne masne kiseline. Oslobađanjem masnih kiselina povećava se kiselost ulja i nastaju monogliceridi, digliceridi i glicerol. Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena se prati određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina (SMK). Rafinirana jestiva ulja mogu sadržavati do 0,3% slobodnih masnih kiselina izraženih kao postotak oleinske kiseline (Pravilnik o jestivim uljima i mastima NN 41/12).

β-ketooksidacija je proces kvarenja karakterističan za ulja i masti u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca. Nastaje pod djelovanjem mikroorganizama, plijesni iz grupe *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije iz grupe *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*. Posljedica ovog kvarenja je nastanak β-keto kiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije. Ukoliko je prisutna voda, mogu nastati dvije masne kiseline umjesto metil ketona. Već u malim koncentracijama metil ketoni narušavaju organoleptička svojstva odnosno dovode do užeglosti ulja i masti.

Ovu vrstu kvarenja ulja i masti moguće je spriječiti pasterizacijom, sterilizacijom, snižavanjem pH vrijednosti ispod 5 i primjenom određenih konzervansa.

2.3.2. Kemijski procesi

Kemijski procesi kvarenja biljnog ulja su:

- Autooksidacija
- Termooksidacijske promjene
- Reverzija

Autooksidacija

Autooksidacija ulja je vrsta kemijskog kvarenja koja nastaje tijekom vezanja kisika iz zraka na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina što dovodi do njihove oksidacije, odnosno autooksidacije, jer nastali produkti katalitički pospješuju daljnji tijek oksidacije. Autooksidacija može biti brža ili sporija što ovisi o sastavu ulja, uvjetima čuvanja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju (prooksidansi) ili usporavaju (antioksidansi) oksidaciju. Također na povećanje brzine autooksidacije utječu povišene temperature, svjetlo i tragovi metala. Ulja s većom količinom polinezasićenih masnih kiselina podložnija su autooksidacijskim promjenama.

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

Faze autooksidacije ulja:

1. Inicijacija – prva faza oksidacije

Početak autooksidacije ulja temelji se na nastanku slobodnog lipidnog radikala (R') pod pretpostavkom da kisik iz zraka pri djelovanju na masnu kiselinu daje radikale po reakciji:

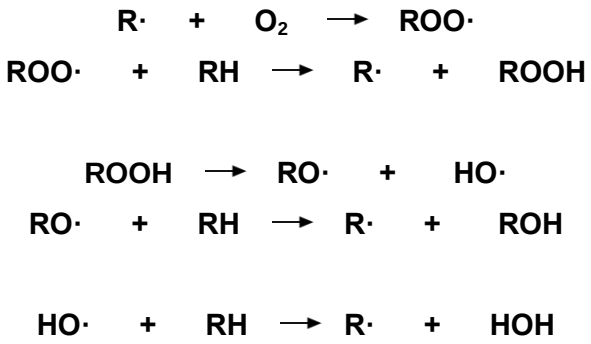
$$\mathbf{RH + O_2 \longrightarrow R\cdot + HOO\cdot}$$

masna kiselina slobodni radikali

Nastanak početnog slobodnog radikala ove lančane reakcije, osim kisika, može izazvati i prisutnost iona metala, utjecaj svjetlosti, radijacije i dr. Prva faza oksidacije je usporena zato što još nema nastalih hidroperoksida ili se oni nalaze u malim količinama.

2. Propagacija – druga faza oksidacije

U fazi inicijacije nastaju slobodni radikali masnih kiselina (R·) koji reagiraju s kisikom tvoreći peroksi – radikale (ROO·). Peroksi – radikali oduzimaju vodik iz molekula masnih kiselina i oslobađaju nove radikale masnih kiselina (R·) i hidroperokside (ROOH). Hidroperoksidi su nestabilni te se raspadaju na dva nova radikala RO· i HO·. Također, svaki do njih oduzima vodik iz molekule masnih kiselina i tako ponovo nastaju novi radikali R·, koji dalje pokreću novi niz lančanih reakcija.



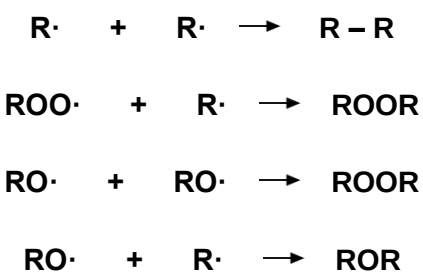
Primarni produkti (peroksidi i hidroperoksidi) i sekundarni (aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, epoksidi i dr.) koji nastaju u ovim reakcijama daju ulju neugodan, užegnut okus i miris. Ti produkti narušavaju senzorska svojstva ulja čak i u malim količinama (Broadbent i Pike, 2003). Oksidacijom ulja gube se esencijalne masne kiseline, dolazi do oksidacije vitamina i provitamina dok nastali produkti djeluju toksično. Mnogi od sekundarnih produkata su vrlo reaktivni i mogu izazvati lančanu reakciju oksidacije *in vivo* (Shahidi, 1997) i samim time doprinose nastanku karcinoma, arterioskleroze, srčane i alergo bolesti (Simic i Karel, 1980).

Za autooksidaciju ulja su ključne polinezasićene masne kiseline zbog njihove brže oksidacije u odnosu na mononezasićene i zasićene masne kiseline.

Vrlo je važno spriječiti kvarenje biljnih ulja tijekom proizvodnje, skladištenja i upotrebe praćenjem oksidacijske stabilnosti ili održivosti ulja.

3. Terminacija – završna faza oksidacije

U završnoj fazi reakcije autooksidacije dolazi do međusobne reakcije slobodnih radikala uz nastanak stabilnih polimera, koji su nereaktivni.



RH - masne kiseline

R·, RO· - slobodni radikali

ROO· - radikal peroksida

ROOH - hidroperoksid

HOO· - radikal vodikovog peroksida

R – R, ROR, ROOR – polimeri

Termooksidacija

Termooksidacijske promjene ulja se događaju tijekom zagrijavanja ulja, prženja (na temperaturama višim od 150 °C) u prisustvu vodene pare i zraka (Vidyasagar i sur., 1974).

Pored termooksidacijskih promjena nastaju i cikličke masne kiseline, dimeri, polimeri, oksipolimeri i drugi hlapljivi spojevi. Stupanj termooksidacije ovisi o vrsti ulja, temperaturi i vremenu zagrijavanja. Ulja sa visokim udjelom nezasićenih masnih kiselina, pogotovo linolne kiseline (npr. suncokretovo ulje s udjelom linolne kiseline od 60 do 70%), su izuzetno nestabilna ulja. Istraživanja su pokazala da visok stupanj oksidacije i zagrijavanje ulja može štetno djelovati na zdravlje ljudi (Huang i sur., 1990).

Tijekom prženja hrana može apsorbirati i do 40% ulja, te se mijenjaju fizikalna svojstva ulja i to indeks refrakcije, specifična težina, viskozitet i boja ulja. Pored fizikalnih svojstava,

mijenjaju se i kemijska pri čemu dolazi do porasta udjela slobodnih masnih kiselina, broja osapunjenja, peroksidnog broja, a smanjenje jodnog broja.

Reverzija

Pojava koja je karakteristična za pojedina biljna ulja prilikom koje se nakon kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan miris i okus na sirovinu, ribu i drugo. Tijekom zagrijavanja ulja miris i okus postaju izraženiji.

Primjena djelomične hidrogenacije (zbog uklanjanja linolenske kiseline) ili dodatak aditiva (za povećanje održivosti ulja) koriste se za usporavanje reverzije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost različitih biljnih ulja prvenstveno ovisi o vrsti ulja odnosno o sastavu masnih kiselina i o udjelu prirodnih antioksidansa u ulju. Tvari, koje usporavaju propagaciju tako da deaktiviraju slobodne radikale, su od velikog značaja za oksidacijsku stabilnost ulja to jest za zaustavljanje ili usporavanje oksidacije ulja.

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje inhibiraju oksidaciju drugih tvari, dodaju se uljima i mastima u vrlo malim koncentracijama za sprječavanje procesa oksidacijskog kvarenja te produžuju održivost ili stabilnost ulja. To su spojevi koji usporavaju autooksidaciju ulja. Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala.

Svaka zemlja svojim zakonskim regulativama određuje koji antioksidansi i u kojoj količini su dozvoljeni kao aditivi radi povećanja oksidacijske stabilnosti ulja.

Mehanizam djelovanja antioksidansa

Uklanjanjem ili deaktivacijom slobodnih peroksi – radikala (ROO·) ili radikala masnih kiselina (R·) dolazi do inhibicije ili prekida lančane reakcije procesa autooksidacije ulja, prije nego što oni kataliziraju nove reakcije tijekom procesa oksidacije.

Mehanizam djelovanja antioksidansa (AH) (Moureu i Dufraisse. 1928.; Bolland i Have, 1947):

$$R\cdot + AH \rightarrow RH + A\cdot$$

$$RO\cdot + AH \rightarrow ROH + A\cdot$$

$$ROO\cdot + AH \rightarrow ROOH + A\cdot$$

$$R\cdot + A\cdot \rightarrow RA$$

$$RO\cdot + A\cdot \rightarrow ROA$$

$$ROO\cdot + A\cdot \rightarrow ROOA$$

Antioksidans (AH) kao donor vodikovog atoma, „hvata“ slobodne radikale (R·, RO·, ROO·), daje jedan elektron nesparenom elektronu slobodnog radikala i reducira ga čime ometa fazu propagacije te se ujedno zaustavlja ili inhibira lančana reakcija autooksidacije.

Na početku nastaju slobodni radikali antioksidansa (A·) koji su stabilni. Oni nemaju dovoljno energije za daljnju reakciju i nastajanje novih slobodnih radikala zbog čega se inhibira ili prekida lančana reakcija oksidacije i time se produžava oksidacijska stabilnost ili održivost ulja.

Antioksidansi mogu spriječiti inicijaciju (indukcijski period) autooksidacije, propagaciju autooksidacije, stvaranje singlet kisika, razaranje hidroperoksida na kratkolančane spojeve, stadij u kojem se radikali peroksida i hidroperoksida pregrađuju i daju izomerne spojeve koji utječu na okus.

Na osnovu kemijske građe pa time i različitih mehanizama antioksidacijskog djelovanja, razlikuje se nekoliko tipova antioksidanasa.

Antioksidansi se mogu podijeliti na primarne i sekundarne, ovisno o tome na koju fazu procesa oksidacije djeluju. Njihova djelotvornost ovisi prvenstveno o vrsti ulja kojem se dodaju, jer različita ulja imaju različit sastav masnih kiselina kao i različit udio antioksidansa koji su već prisutni u ulju. Učinak djelotvornosti antioksidansa također ovisi o temperaturi (mehanizam nastajanja i razgradnje hidroperoksida), te o primijenjenoj metodi, jer jedne

metode određuju primarne, a druge metode određuju sekundarne produkte oksidacije ulja. Od velike je važnosti da se antioksidansi dodaju u ulja niskog peroksidnog broja (<1) zato što će samo u tom slučaju antioksidans biti djelotvoran i spriječiti oksidaciju. Dodatak antioksidansa neće pomoći ako je u ulju već počela oksidacija. Sve dok u ulju ima antioksidansa, on će djelovati na sprječavanje procesa oksidacije. Vrijeme djelotvornosti antioksidansa ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji koja se dodaje, vrsti ulja i uvjetima čuvanja ulja.

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa može se izraziti antioksidacijskim indeksom (AI) ili stabilizacijskim (zaštitnim) faktorom (PF, *protecting factors*) koji pokazuje koliko se puta poveća održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa.

$$\text{Zaštitni faktor (PF)} = IP_{inh} / IP_0$$

$$\text{AI} = \text{održivost ulja s dodanim antioksidansom / održivost ulja bez dodanog antioksidansa}$$

IP_{inh} – indukcijski period uzorka ulja sa dodatkom antioksidansa (h)

IP_0 – indukcijski period uzorka ulja bez dodatka antioksidansa (h)

Indukcijski period (IP) ili vrijeme indukcije je broj sati potreban da ulje dostigne peroksidni broj 5 mmol O_2/kg. Neki antioksidansi u većoj koncentraciji djeluju suprotno te ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja (Bandoniene i sur., 2000).

Vrste antioksidanasa

Pod **prirodne antioksidanse** ubrajaju se amino kiseline i dipeptidi, hidrolizati proteina, proteini topljivi u vodi, fosfolipidi, anorganske soli, tokoferoli i njihovi derivati, karotenoidi, askorbinska kiselina.

Najznačajniji su tokoferoli. Poznato je osam tokoferola, a najvažniji su α - tokoferol, β - tokoferol, γ - tokoferol i δ - tokoferol. Međusobno se razlikuju po svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α - tokoferol koji je i dobio naziv vitamin E. To je antioksidans *in vivo* koji štiti nezasićene masne kiseline u organizmu od procesa oksidacije tako što sprječava nastajanje slobodnih radikala. Utjecajem temperature i UV svjetlosti dolazi do degradacije α - tokoferola. Antioksidacijsko djelovanje

najviše pokazuju γ – tokoferol i δ - tokoferol. Koncentrati tokoferola dobivaju se iz prirodnih ulja, a dodani u većoj količini djeluju kao prooksidansi.

Kao antioksidansi koriste se i karotenoidi, askorbinska kiselina i u novije vrijeme ekstrakti iz biljnog materijala (voća, povrća, začinskih biljaka poput ružmarina, žalfije/kadulje, zelenog čaja i drugih) koji su bogat izvor tokoferola, vitamina C, karotenoida i flavonoida čime povećavaju održivost ulja.

Začini kao kadulja i ružmarin pokazuju visoka antioksidacijska svojstva zbog prisustva fenolne grupe spojeva, a zadržavaju ih i pri visokoj temperaturi (98 - 194 °C).

Ružmarin se najviše primjenjuje od prirodnih antioksidansa, listići ružmarina sadrže 0,5 – 3% eteričnog ulja. Antioksidansi ekstrakta ružmarina su fenolni diterpenoidi: karnosol, karnosolna kiselina, rosmanol, epirosmanol, rosmadial i metil - karnosat, antioksidacijsko svojstvo imaju i flavonoidi genkvanin i cirsimaritin. Najznačajniji su karnosolna kiselina, karnosol i ružmarinska kiselina.

Glavni antioksidacijski sastojci u ekstraktu zelenog čaja su: (+) katehin, (+) galokatehin, (-) epikatehin, (-) epikatehin galat, (-) epigalokatehin i (-) epigalokatehin galat. Antioksidacijska aktivnost ekstrakta zelenog čaja ponaša se različito u različitim lipidnim sistemima.

Sintetski antioksidansi pripadaju skupini prehrambenih aditiva. Nisu prirodan sastojak hrane već se dobivaju kemijskim putem. U Hrvatskoj je upotreba aditiva, antioksidanasa regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 81/2008 (MZSS, 2008).

U proizvodnji i preradi ulja sintetski antioksidansi koji se primjenjuju za stabilizaciju sirovih i rafiniranih biljnih ulja su butilhidroksianisol (BHA – E320), butilhidroksitoluen (BHT), grupa alkil estera galne kiseline (propil galat - PG, oktil galat - OG, dodecil galat), tercijarni butilhidrokinon (TBHQ).

Da bi se povećala održivost biljnih ulja uspješnije je dodavati mješavinu antioksidanasa nego samo jednu vrstu jer antioksidansi djeluju sinergistički.

2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji sami po sebi nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produžuju njegovo djelovanje najčešće 1 do 3 puta. Uglavnom se dodaju na kraju procesa dezodorizacije. Najčešće se koriste organske kiseline (limunska, octena, askorbinska kiselina), askorbil palmitat, monoizopropil citrat i lecitin. Svaki sinergist ne odgovara svakom antioksidansu. Dobar sinergist uz tokoferole je askorbinska kiselina, askorbil palmitat i limunska kiselina.

Poznata su tri načina djelovanja sinergista:

1. Vežu tragove metala (Cu, Fe) i inaktiviraju ih, te sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje,
2. Daju vodikov atom antioksidansu i tako ga regeneriraju i produžuju vrijeme trajanja antioksidansa,
3. Sprječavaju djelovanje antioksidansa na razgradnju peroksida – sinergist se veže na radikal antioksidansa i zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Koprivnjak, 2006).

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

2.5. METODE ODREĐIVANJA OKSIDACIJE ULJA

Procjenjivanje stupnja oksidacije ulja može se provoditi pomoću više metoda jer ne postoji jedinstvena metoda koja daje podatak o stupnju nastalih oksidacijskih promjena u biljnim uljima. Istovremenom primjenom više metoda koje daju ukupan sadržaj oksidacijskih promjena (primarnih i sekundarnih produkata oksidacije) možemo dobiti kompletan uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena.

Metode određivanja stupnja oksidacije ulja dijele se u tri skupine:

1. Senzorske (organoleptičke) metode
2. Kemijske metode
3. Fizikalne metode

Neke od analitičkih metoda za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja prikazane su u **Tablici 7**.

Tablica 7 Analitičke metode za procjenjivanje oksidacijskog stupnja biljnih ulja (omogućuju određivanje količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja) (Dimić i Turkulov, 2000).

ANALITIČKA METODA	ISPITIVANI PARAMETAR
ORGANOLEPTIČKE (SENZORSKE)	Boja, okus, miris
KEMIJSKE METODE	
Peroksidni broj (Pbr)	Hidroperoksidi, peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehid
Karbonilni broj	Svi spojevi s karbonilnom skupinom
Anisidinski broj (Abr)	Svi isparljivi karbonilni spojevi (2 - enali, 2,4 - dieni)
Kreis – ov test	Epoksialdehidi i acetali
Kemijska luminiscencija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Oksidacijska vrijednost (OV)	OV = 2Pbr + Abr, ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije
FIZIKALNE METODE	
UV - spektrofotometrija	Konjugirani dieni i trieni
IR - spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nuklearna magnetska rezonancija)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehid) i ketoni
GC – plinska kromatografija	Isparljivi spojevi
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Dielektrična konstanta	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulonometrija	Hidroperoksidi

Senzorske metode određuju pojavu neugodnog mirisa i okusa ulja zbog oksidacije. Ove metode su dobar pokazatelj oksidacijske stabilnosti biljnih ulja, ali danas se radi na razvoju bržih i jednostavnijih metoda određivanja stupnja oksidacije ulja.

Postoje razne **fizikalne metode** određivanja stupnja oksidacije biljnih ulja.

UV - spektrofotometrija se primjenjuje za kvantitativnu, ali i za kvalitativnu analizu. Temelji se na ovisnosti energije zračenja o kemijskom sastavu tvari. Za određivanje u UV i IR dijelu spektra koriste se spektrofotometri. Apsorpcijski spektrometri su uređaji koji električnim putem mjere apsorbanciju. Omjer apsorpcijskog maksimuma hidroperoksida linolne kiseline i konjugiranih diena (A232 nm) te apsorpcijskog maksimuma sekundarnih produkata oksidacije i konjugiranih triena (A270 nm) zove se R - vrijednost. R - vrijednost je dobar pokazatelj kvalitete ulja.

$$R – vrijednost = A232\ nm / A270\ nm$$

A232 nm – apsorbancija na 232 nm

A270 nm – apsorbancija na 270 nm

Ukoliko je R - vrijednost niska, ulje sadrži više konjugiranih triena i sekundarnih produkata oksidacije, stoga to je pokazatelj lošije kvalitete ulja. Određivanje R - vrijednosti je moguće samo kod sirovih ulja. UV - spektrofotometrija je najraširenija metoda određivanja stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000).

IR – spektrofotometrija se nikada ne koristi sama za analizu nepoznatih uzoraka, nego se dopunjuje sa drugim metodama poput nuklearne magnetske rezonance i UV – spektrofotometrije (Miller, 1972).

Plinska kromatografija se najčešće koristi za nezasićene masne kiseline. Koristi se za određivanje hlapljivih spojeva kao što su aldehidi (Rade i sur., 2001).

Indeks refrakcije je također metoda koja se upotrebljava za određivanje oksidacijskih promjena. Konjugirani dieni hidroperoksida i polimeri povećavaju indeks refrakcije (Rade i sur., 2001).

Polarimetrija je kvantitativna i kvalitativna voltmetrijska metoda. Ova metoda se zasniva na pojavi polarizacije i depolarizacije radne elektrode pri elektrolizi analiziranog elektrolita. Ovdje se prati redukcija ili oksidacija ispitivanog uzorka na površini radne elektrode.

2.5.1. Kemijski pokazatelji stupnja oksidacije ulja i masti

Najčešći kemijski pokazatelji kvalitete biljnih ulja su:

Peroksidni broj (Pbr)

Najčešće primjenjivana metoda za određivanje stupnja oksidacije ulja je peroksidni broj.

Peroksidni broj označava razinu primarne oksidacije masnih kiselina i pokazuje količinu primarnih produkata oksidacije i izražava se u miliekvivalentima O_2 ili mmol O_2/kg (Rac, 1964, Dimić, 2005, Dimić i Turkulov, 2000). Najčešće se koristi jodometrijska metoda koja se zasniva na titrimetrijskom određivanju količine joda kojeg iz kalij - jodida oslobađaju peroksidi. Koristi se i kolorimetrijska metoda. Ukoliko je ulje namijenjeno daljnjem čuvanju peroksidni broj treba biti što niži, najbolje 0 mmol O_2/kg jer i mala količina peroksida djeluje kao katalizator procesa autooksidacije i znatno smanjuje oksidacijsku stabilnost. Vrijednost peroksidnog broja se izračunava prema jednadžbi:

$$Pbr = (V_1 – V_0) \cdot 5 / m \quad (mmol\ O_2\ /kg)$$

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 utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

m - masa uzorka ulja (g)

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima NN br. 41/12, u jestivim rafiniranim biljnim uljima dozvoljena je maksimalna vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O_2/kg.

Anisidinski broj (Abr)

Anisidinski broj daje uvid u količinu karbonilnih spojeva koji predstavljaju sekundarne produkte oksidacije ulja (aldehidi) nastalih razgradnjom hidroperoksida. Nehlapljivi karbonilni spojevi negativno utječu na senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost ulja. Određivanje anisidinskog broja temelji se na reakciji p - anisidina sa višim nezasićenim aldehidima u kiselom mediju.

Ova metoda se koristi za ispitivanje kvalitete sirovih i jestivih ulja jer omogućuje potpuniju procjenu kvalitete, daje uvid u tzv. „oksidacijsku prošlost“ ulja. Veća vrijednost anisidinskog

broja ukazuje na slabiju održivost ulja tako da ulje dobre kvalitete treba imati vrijednost anisidinskog broja manju od 10 (Rade i sur., 2001).

Oksidacijska vrijednost ulja (OV) ili Totox broj (TB)

Totox broj daje uvid u količinu i primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja, a izračunava se iz vrijednosti anisidinskog i peroksidnog broja:

$$TB = 2\ Pbr + Abr$$

Pbr - peroksidni broj

Abr - anisidinski broj

2.6. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Vrijeme kroz koje se biljna ulja mogu sačuvati od autooksidacije naziva se oksidacijska stabilnost ili održivost ulja. Metode koje se koriste za određivanje održivosti ulja zasnivaju se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem temperature i zraka. Kao održivost ulja uzima se vrijeme (u satima) potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja. U praksi se najčešće primjenjuju sljedeće metode: Oven test ili Schaal oven test, Swift test ili AOM test i Rancimat test.

Postoje još dvije metode koje se manje koriste, a to su:

- metoda apsorpcije kisika (određivanje apsorbiranog kisika),
- test na bazi fluorescentnog svjetla - određivanje peroksida i senzorskih promjena (Dimić i Turkulov, 2000).

2.6.1. Oven test ili Schaal – Oven test

Oven test je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za ispitivanje održivosti ulja. Uzorci ulja se zagrijavaju u termostatu (ili u sušioniku) na temperaturi 60 ili 63 °C. U određenim vremenskim razmacima prati se porast peroksidnog broja ili senzorske promjene nastale oksidacijskim procesom kvarenja biljnog ulja. Rezultati ove metode se prikazuju kao vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena držanja uzorka (u danima) pri

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

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

Kod ove metode uzorci ulja se zagrijavaju na 98 °C kroz koje prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci se uzimaju u određenim vremenskim razmacima i određuje se peroksidni broj. Održivost ulja se najčešće određuje do peroksidnog broja 5 mmol O_2/kg. Vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O_2/kg je granica pri kojoj je ulje još ispravno. Kvalitetna ulja dobre održivosti poslije 8 sati Swift testa moraju imati peroksidni broj manji od 5 mmol O_2/kg (Rade i sur., 2001).

U nedostatku Swift aparature primjenjuje se Test održivosti pri 98 °C koji pokazuje dobru korelaciju sa Swift testom. Ulje se zagrijava u sušioniku pri 98 °C i određuje se peroksidni broj.

2.6.3. Rancimat test

Oksidacijska stabilnost ulja kod Rancimat testa se određuje primjenom Rancimat uređaja u kojem dolazi do ubrzane oksidacije biljnih ulja uz povišenu temperaturu (100, 110 i 120 °C) i konstantan protok zraka kroz uzorak, pri čemu se na osnovu količine izdvojenih hlapljivih kiselina određuje indukcijski period (IP) u satima, indirektno mjerenjem porasta vodljivosti. Hlapljivi spojevi (kratkolančane lakohlapljive organske kiseline) koji nastaju oksidacijom ulja uvode se u deioniziranu vodu te se mjeri porast vodljivosti. Indukcijski period se određuje na osnovu količine izdvojenih kratkolančanih hlapljivih organskih kiselina. Također, indukcijski period pokazuje otpornost ulja prema oksidaciji. Što je vrijeme indukcije dulje, ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost ili održivost.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bilo je ispitivanje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja te mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50:50). Pored toga, ispitivao se i utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta nara, ekstrakta ružmarina - StabilEnhance OSR) udjela 0,2%, 0,4%, te dodatak sintetskog antioksidansa oktil galata udjela 0,01% na promjenu oksidacijske stabilnosti repičinog ulja i mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50:50). Također, ispitivan je i utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa udjela 0,2% i 0,4% na produžetak oksidacijske stabilnosti repičinog ulja.

Istraživanje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja, te djelovanje dodanih antioksidanasa provelo se testom ubrzane oksidacije biljnog ulja Oven testom (63 °C).

Prije istraživanja oksidacijske stabilnosti ispitivanog repičinog ulja, određeni su parametri kvalitete (slobodne masne kiseline i peroksidni broj) primjenom standardnih metoda.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

Jestivo repičino ulje

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti koristilo se repičino ulje.

Rafinirano repičino ulje, pakirano u boci od 1L, proizvođač Vita D' or - Njemačka, uvoznik Lidl Hrvatska d.o.o.

Jestivo suncokretovo ulje

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti koristilo se suncokretovo ulje – linolni tip.

Rafinirano suncokretovo ulje koje je pakirano u boci od 1L, od proizvođača Vita D' or – Njemačka, uvoznik Lidl Hrvatska d.o.o.

Antioksidansi

Za ispitivanje utjecaja dodanog antioksidansa na produženje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja te mješavine repičinog i suncokretovog ulja u omjeru 50:50, korišteni su prirodni antioksidansi: ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR), ekstrakt nara udjela 0,2% i 0,4%, te sintetski antioksidans oktil galat udjela 0,01%.

- **Ekstrakt zelenog čaja**

Prirodni antioksidans ekstrakt zelenog čaja, koji je korišten, proizveden je u firmi Naturex (Francuska).

Ekstrakt zelenog čaja je žuto – smeđi prah čija se antioksidacijska aktivnost ponaša različito u različitim lipidnim sistemima.

- **Ekstrakt nara**

To je ekstrakt dobiven iz voćnog ploda nara (*Punica granatum L.*), proizveden u firmi Naturex (Francuska).

Praškaste je formulacije karakterističnog mirisa i topljiv je u vodi, po sastavu je prirodni ekstrakt, maltodekstrin. Udio suhog ekstrakta je veći od 95%, a sadrži više od 10% elagične kiseline.

- **Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR)**

Prirodni ekstrakt ružmarina u tekućoj formulaciji, udjel karnosolne kiseline 5%. Topljiv je i u ulju i u vodi.

Proizvođač je firma Naturex iz Francuske.

- **Oktil galat (OG)**

Oktil galat je sintetski antioksidans, E311.

3.2.2. Metode rada

3.2.2.1. Priprema uzorka

U čašice od 100 mL se izvaže po 50 g ulja. Nakon toga se izvaže i određena količina antioksidansa na masu ulja (0,2% i 0,4% za prirodne antioksidanse i 0,01% za sintetske antioksidanse). Određena količina antioksidansa se dodaje u ulje, pomiješa staklenim štapićem, te se uz miješanje zagrijava na temperaturu od 70 do 80 °C. Ta temperatura se

održava 30 minuta uz konstantno miješanje. Nakon toga uzorci se hladi na sobnu temperaturu, pokriju se satnim staklom i stavljaju u termostat (Binder) čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti repičinog ulja s ili bez dodatka antioksidansa.

3.2.2.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Biljna ulja nemaju neutralnu pH sredinu jer pored neutralnih triacilglicerola sadrže i određeni udio slobodnih masnih kiselina. Slobodne masne kiseline nastaju hidrolitičkom razgradnjom triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima (lipaza) na estersku vezu u molekuli. Udio slobodnih masnih kiselina ovisi o načinu dobivanja ulja, upotrebljenim sirovinama i uvjetima čuvanja. U uljima se određuje količina alkalija koja je potrebna za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina.

Kiselost ulja može se izraziti kao:

- Kiselinski broj,
- Kiselinski stupanj,
- Postotak oleinske kiseline.

Slobodne masne kiseline u uzorcima biljnih ulja su određene standardnom metodom (ISO 660:1996) koja se temelji na principu titracije s otopinom natrij-hidroksida c (NaOH) = 0,1 mol/L. Udio masnih kiselina je izražen kao % oleinske kiseline, a izračunava se prema formuli:

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

V – utrošak otopine NaOH za titraciju uzorka (mL),

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

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

m – masa uzorka za ispitivanje (g).

3.2.2.3. Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Jedan od načina određivanja oksidacijskog stupnja ulja je određivanje peroksidnog broja. Peroksidnim brojem određujemo primarne produkte oksidacije. U ispitivanim uzorcima peroksidni broj je određen standardnom metodom (ISO 3960:1998). Rezultat je izražen kao broj milimola aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O_2/kg).

Princip određivanja je da se uzorak ulja otopi u otopini ledene octene kiseline i kloroforma, te se dodaje otopina kalij – jodida (KI). Jod se oslobađa djelovanjem peroksida, te se oslobođeni jod titrira natrij – tiosulfatom uz škrob kao indikator. Završna točka titracije se određuje jodometrijski (vizualno) nestankom plavog obojenja u trajanju od 30 sekundi.

Peroksidni broj se izračunava prema jednadžbi:

$$Pbr = (V_1 – V_0) \cdot 5 / m \quad (mmol\ O_2/\ kg)$$

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).

3.2.2.4. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja – Oven test

Jedna od najstarijih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti biljnih ulja je Oven test. Primjenom ove metode, uzorci ulja su zagrijavani u sušioniku (Binder) na temperaturi 63 °C. Prati se porast peroksidnog broja ili senzorske promjene nastale oksidacijskim kvarenjem biljnog ulja u određenim vremenskim razmacima. Na početku testa određen je peroksidni broj uzorka ulja i dalje svakih 24 sata tijekom četiri dana.

Rezultati Oven testa su prikazani kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O_2/kg) nakon određenog vremena držanja uzorka pri temperaturi 63 °C, odnosno tijekom četiri dana trajanja testa.

4. REZULTATI

Tablica 8 Početne kemijske karakteristike repičinog i suncokretovog ulja

Vrsta ulja	SMK (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)
Repičino ulje (rafinirano)	0,08	0,46
Suncokretovo ulje (rafinirano)	0,12	0,44

SMK - slobodne masne kiseline (%)

Pbr – peroksidni broj (mmol O_2 / kg)

Tablica 9 Utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijksu stabilnost repičinog ulja

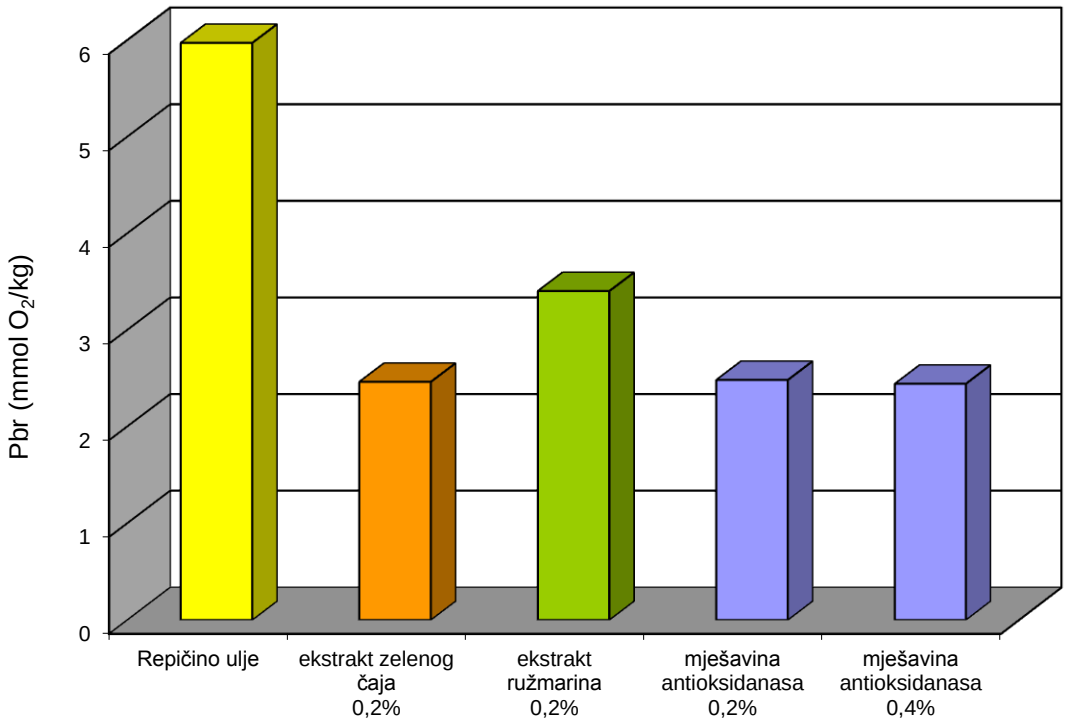
UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Repičino ulje	-	0,46	0,48	1,23	1,91	5,97
Ekstrakt zelenog čaja	0,2%	0,46	0,50	1,00	1,49	2,46
	0,4%		0,49	0,98	1,21	2,00
Ekstrakt nara	0,2%	0,46	0,49	1,22	1,96	6,47
	0,4%		0,49	1,22	1,95	6,28
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR)	0,2%	0,46	0,49	1,00	1,49	3,40
	0,4%		0,49	1,21	1,92	2,89
OG	0,01%	0,46	0,49	0,99	1,19	3,30

OG – oktil galat (sintetski antioksidans)

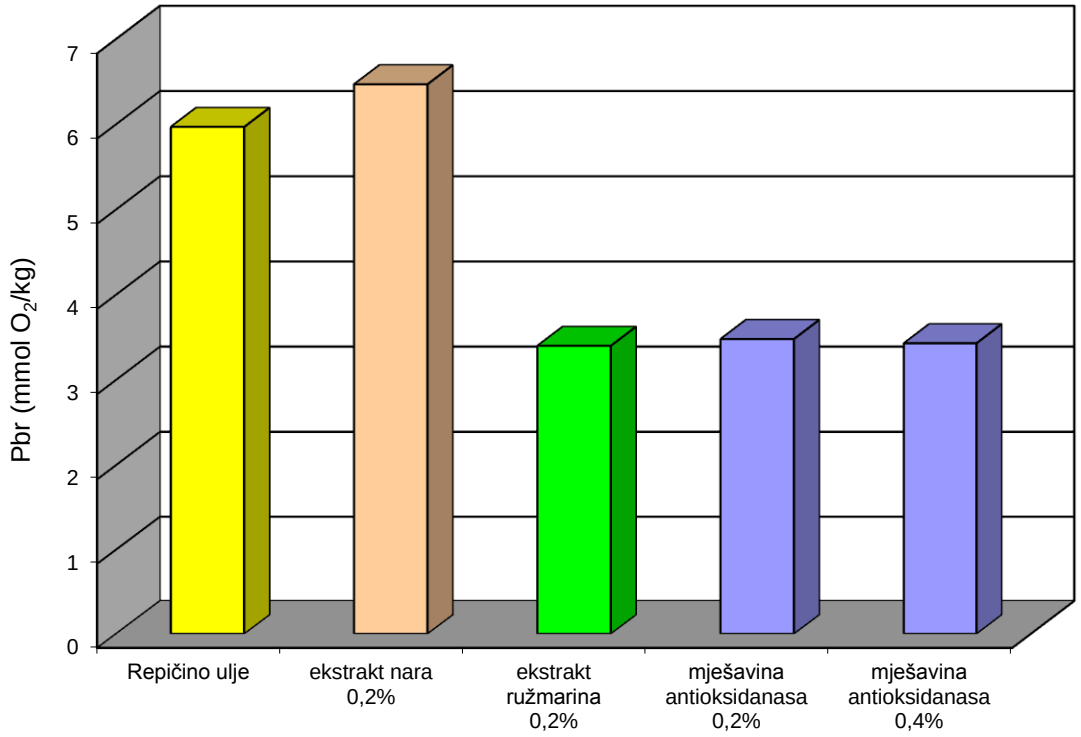
Pbr – peroksidni broj (mmol O_2 / kg)

Tablica 10 Utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost repičinog ulja

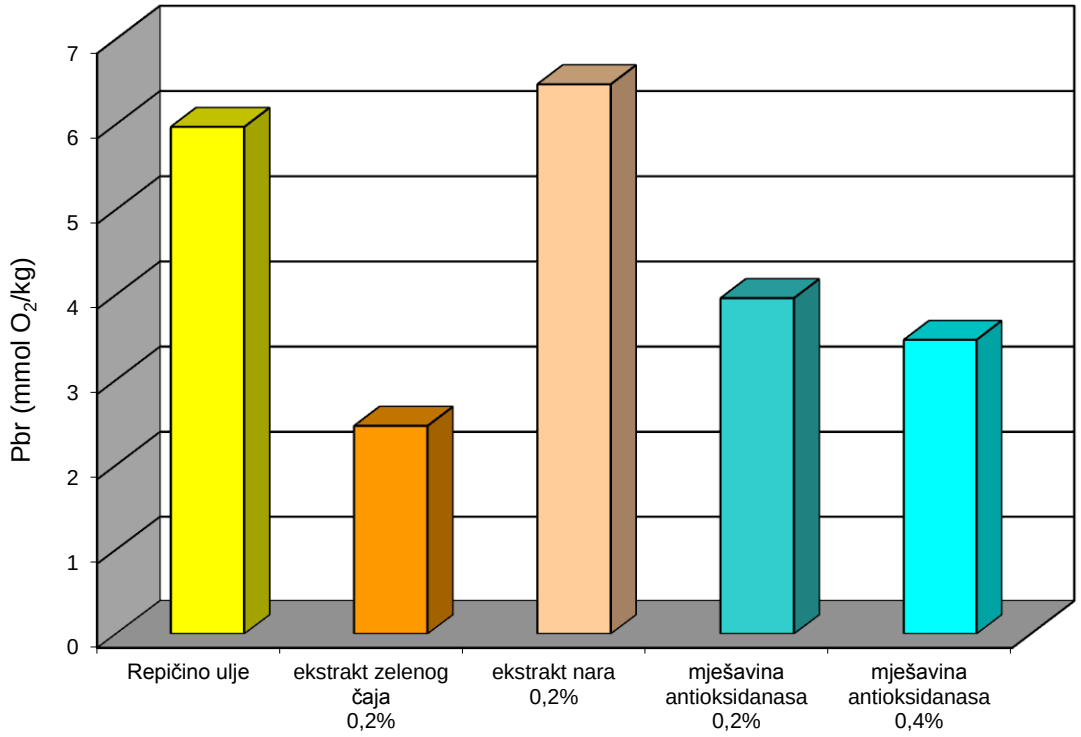
UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Repičino ulje	-	0,46	0,48	1,23	1,91	5,97
Ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt nara (50 : 50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,46	0,50	1,00	1,48	3,96
	0,4% (0,2% + 0,2%)		0,49	0,98	1,21	3,47
Ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR) (50 : 50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,46	0,50	0,99	1,47	2,48
	0,4% (0,2% + 0,2%)		0,49	0,98	1,46	2,44
Ekstrakt nara + ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR) (50 : 50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,46	0,50	0,98	1,94	3,48
	0,4% (0,2% + 0,2%)		0,50	1,23	1,71	3,43



Slika 4 Utjecaj dodatka ekstrakta zelenog čaja (0,2%), ekstrakta ružmarina (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijske stabilnosti repičinog ulja nakon 4 dana testa.



Slika 5 Utjecaj dodatka ekstrakta nara (0,2%), ekstrakta ružmarina (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijske stabilnosti repičinog ulja nakon 4 dana testa.



Slika 6 Utjecaj dodatka ekstrakta nara (0,2%), ekstrakta zelenog čaja (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijske stabilnosti repičinog ulja nakon 4 dana testa.

Tablica 11 Utjecaj dodatka suncokretovog ulja u repičino ulje te prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50:50)

UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. dan	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan
Repičino ulje	-	0,46	0,48	1,23	1,91	5,97
Suncokretovo ulje	-	0,44	1,72	4,87	9,80	17,02
Mješavina ulja SUN : REP (50 : 50)	-	0,44	1,16	1,98	5,91	12,14
Ekstrakt zelenog čaja	0,2%	0,44	0,98	1,48	4,46	5,39
	0,4%		0,97	1,45	3,94	4,83
Ekstrakt nara	0,2%	0,44	1,00	1,94	5,52	11,23
	0,4%		0,98	1,73	5,20	11,22
Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR)	0,2%	0,44	0,99	1,97	3,98	5,97
	0,4%		0,99	1,96	3,70	4,86
OG	0,01%	0,44	0,98	1,47	3,46	5,48

OG – oktil galat (sintetski antioksidans)

SUN – rafinirano suncokretovo ulje

REP – rafinirano repičino ulje

Pbr – peroksidni broj (mmol O_2 / kg)

5. RASPRAVA

Početne kemijske karakteristike repičinog i suncokretovog ulja prikazane su u **Tablici 8**. Dobivene vrijednosti ovih parametara (slobodne masne kiseline i peroksidni broj) ukazuju da su ispitivana ulja dobre kvalitete jer su im vrijednosti skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN. 41/2012).

U **Tablici 9** prikazan je utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na promjenu oksidacijske stabilnosti repičinog ulja. Čisto repičino ulje, bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak) pokazuje dobru stabilnost tj. održivost prema oksidacijskom kvarenju. Primjenom Schaal Oven testa (63 °C) tijekom četiri dana došlo je do malog porasta vrijednosti peroksidnog broja (Pbr), a nakon četiri dana postignut je Pbr 5,97 (mmol O_2/kg). Dobra otpornost repičinog ulja prema oksidacijskom kvarenju objašnjava se sastavom masnih kiselina, dominira mononezasićena oleinska masna kiselina (60%), ali i visok udio ϒ – tokoferola (62 – 70%) koji ima dobro antioksidacijsko djelovanje.

Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja (0,2% i 0,4%) u repičino ulje došlo je do znatnog porasta otpornosti ulja prema oksidacijskom kvarenju. Nakon četiri dana testa dobivene su vrijednosti Pbr 2,46 (mmol O_2/kg) primjenom 0,2% ovog ekstrakta te 2,00 (mmol O_2/kg) primjenom 0,4% ekstrakta zelenog čaja.

Malo manja efikasnost zaštite repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja postignuta je dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) u udjelima 0,2% i 0,4% gdje je vrijednost Pbr nakon četiri dana testa iznosila 3,40 (mmol O_2/kg) i 2,89 (mmol O_2/kg).

Međutim, primjena ekstrakta nara u stabilizaciji repičinog ulja nije dala poželjan rezultat. Dodatkom 0,2% i 0,4% ekstrakta nara došlo je do porasta oksidacijskog kvarenja repičinog ulja te su postignute više vrijednosti Pbr nakon četiri dana testa 6,47 (mmol O_2/kg) i 6,28 (mmol O_2/kg) u odnosu na vrijednost Pbr 5,97 (mmol O_2/kg) za čisti uzorak repičinog ulja (kontrolni uzorak).

Također dobra efikasnost zaštite repičinog ulja dobivena je dodatkom sintetskog antioksidansa oktil galata (OG) udjela 0,01%, pri čemu je vrijednost Pbr 3,30 (mmol O_2/kg) nakon četiri dana testa. Na osnovu ovako dobivenih vrijednosti Pbr zaključujemo da se primjenom ekstrakta zelenog čaja postiže veća efikasnost zaštite repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na druge ispitivane antioksidanse. Korištenjem većeg udjela prirodnog antioksidansa (0,4%) postiže se veća stabilizacija repičinog ulja u odnosu na 0,2%.

U **Tablici 10** prikazan je utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost reičinog ulja. Mješavina ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR), u omjeru 50:50, pokazuje veću efikasnost zaštite repičinog ulja od oksidacije. Dodatkom 0,2% ove mješavine antioksidanasa dobiven je Pbr 2,48 (mmol O_2/kg), a dodatkom 0,4% Pbr je 2,44 (mmol O_2/kg) nakon četiri dana testa.

Ispitivani ekstrakt nara, kada se dodaje zasebno, ne pokazuje antioksidacijsko djelovanje kod zaštite repičinog ulja. Međutim, ako se napravi njegova mješavina antioksidansa s ekstraktom zelenog čaja ili ekstraktom ružmarina (u udjelu 50:50) tada se postiže antioksidacijsko djelovanje.

Iz dobivenih rezultata zapaža se da mješavina ekstrakta nara s ekstraktom ružmarina (50:50), kod obje koncentracije 0,2% i 0,4%, ostvaruje bolju zaštitu repičinog ulja od oksidacije u odnosu na primjenu mješavine ekstrakta nara i zelenog čaja.

Na **Slici 4** prikazan je utjecaj dodatka pojedinačnog prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja (0,2%), ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) 0,2% te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost repičinog ulja. Iz rezultata na slici zapaža se da podjednako antioksidacijsko djelovanje imaju ekstrakt zelenog čaja i ove mješavine antioksidanasa u odnosu na primjenu samostalnog ekstrakta ružmarina.

Na **Slici 5** prikazan je utjecaj dodatka pojedinačnog ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) 0,2%, ekstrakta nara (0,2%) te njihovih mješavina (0,2%, 0,4%) na stabilnost repičinog ulja. Ovdje se zapaža da podjednako antioksidacijsko djelovanje pokazuju ekstrakt ružmarina (0,2%) i njegova mješavina s ekstraktom nara (0,4%).

Utjecaj dodatka pojedinačnog antioksidansa ekstrakta nara (0,2%), ekstrakta zelenog čaja (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) prikazan je na **Slici 6**. Zapaža se da čisti ekstrakt zelenog čaja (0,2%) ima značajno veću efikasnost u zaštiti repičinog ulja od oksidacije. Njegovom kombinacijom s ekstraktom nara (50:50) postiže se bolja stabilnost ovog ulja u odnosu na primjenu čistog ekstrakta nara (0,2%).

U **Tablici 11** prikazan je utjecaj dodatka suncokretovog ulja (50%) u repičino ulje te prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost mješavine repičinog i suncokretovog ulja (50:50). Dodatkom suncokretovog ulja u repičino ulje želio se povećati udio esencijalne ω – 6 linolne masne kiseline, ali da se značajno ne naruši stabilnost repičinog ulja. Međutim, iz rezultata u tablici vidljivo je da se dodatkom 50% suncokretovog ulja znatno smanjila otpornost ove mješavine ulja prema oksidacijskom kvarenju, Pbr je 12,14 mmol O_2/kg nakon četiri dana testa.

Dodatkom ispitivanih prirodnih antioksidanasa, osim ekstrakta nara i sintetskog oktil galata značajno se povećala se povećala stabilnost mješavine ulja prema oksidacijskom kvarenju.

I ovdje je vidljivo da ekstrakt zelenog čaja efikasnije štiti mješavinu ulja od oksidacije u odnosu na dodatak ostalih ispitivanih antioksidanasa.

Ekstrakt ružmarina (StabilEnhance OSR), udjela 0,4% pruža bolju zaštitu ove mješavine od oksidacije u odnosu na oktil galat (0,01%).

Primjena ekstrakta nara neznatno utječe na promjenu stabilnosti mješavine suncokretovog i repičinog ulja.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja dobiveni su sljedeći zaključci:

1. Najbolja efikasnost zaštite repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja postiže se primjenom prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja (0,2% i 0,4%) u odnosu na pojedinačnu primjenu drugih ispitivanih antioksidanasa.
2. Dodatkom ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR) udjela 0,4% ostvarena je veća zaštita repičinog ulja od oksidacije u odnosu na sintetski antioksidans oktil galat.
3. Dodatkom ekstrakta nara ne postiže se zaštita repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja, nakon četiri dana testa Pbr je veći u odnosu na Pbr čistog ulja.
4. Mješavina ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta ružmarina (StabilEnhance OSR), u omjeru 50:50, pokazuje veću efikasnost zaštite repičinog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na primjenu drugih ispitivanih mješavina.
5. Mješavina ekstrakta nara s ekstraktom ružmarina (StabilEnhance OSR) (50:50) ostvaruje bolju zaštitu repičinog ulja od oksidacije u odnosu na primjenu mješavine ekstrakta nara i zelenog čaja.
6. Podjednaka stabilizacija repičinog ulja postignuta je dodatkom čistog ekstrakta zelenog čaja (0,2%) kao i njegove mješavine s ekstraktom ružmarina, u omjeru 50:50, u odnosu na čisti ekstrakt ružmarina.
7. Podjednaka stabilizacija repičinog ulja ostvarena je dodatkom čistog ekstrakta ružmarina (0,2%) kao i njegove mješavine s ekstraktom nara (0,4%) u odnosu na čisti ekstrakt nara.
8. Kombinacijom ekstrakta nara i zelenog čaja (50:50) postiže se bolja stabilizacija repičinog ulja u odnosu na primjenu čistog ekstrakta nara.
9. Dodatkom suncokretovog ulja (50%) u repičino ulje značajno se smanjila stabilnost mješavine ovih ulja u odnosu na čisto repičino ulje.
10. Ekstrakt zelenog čaja efikasnije štiti mješavinu ulja od oksidacijskog kvarenja.
11. Primjenom oktil galata kao i ekstrakta ružmarina (StabiEnhance OSR) 0,2%, postignuta je podjednaka zaštita ove mješavine ulja.
12. Ekstrakt nara neznatno utječe na promjenu stabilnosti ove mješavine ulja.

7. LITERATURA

Bastasin P., Ceresa L.: *Industrie agroalimentari,* Milano, 1991.

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

Bockisch M.: *Fats and oils handbook*. AOCS Press. Champing, Illinois, 1998.

Bolland J. L., Have P., Discuss. Farad. Soc., 2: 252, 1947.

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

Codex standard for named vegetable oils, Codex-stan 210, Amended 2003, 2005.

Covington M. B.: *Omega – 3 Fatty Acids*, University of Maryland School of medicine, Baltimore, Maryland, 2003.

Deuel H. J.: the lipids, Vol. 1, New York, 1951.

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

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

Frankel E. N., Huang S. W.: Improving the Oxidative Stability of Polyunsaturated Vegetable Oils by Blending with High-Oleic Sunflower Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 255-259, 1994.

Frega N., Mozzon M., Lercker G.: Effect of Free Fatty Acids on Oxidative stability of Vegetable oil. J Am Oil Chem Soc 76 (3): 325-329, 1999.

Gunstone F. D.: *Oils and fats in the Food Industry*. Dundee, UK, 2008.

HRN EN ISO 660, *Životinjske i biljne masti i ulja, Određivanje kiselinskog broja i kiselosti*, 1996.

Huang C. J.. Lee H. J., Hau L. B.: *Chung-Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih*, 175, 1990.

Hui Y. H.: Bailey's industrial oil & fat products, Volume 2, Edible oils and fat products: Oils and oil seeds, Fifth edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.

Kaić – Rak A., Mesaroš – Kanjski E.: *Nezdrave i zdrave masti*, Narodni zdravstveni list, 2006.

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

Karlović D., Andrić N.: *Kontrola kvalitete sjemena uljarica*, Tehnološki fakultet Novi Sad, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd, 1996.

Katalenić M.: Masti i ulja u prehrani. Hrvatski časopis za javno zdravstvo. Vol. 3 (9), 2007.

Kiatsrichart S., Brewer MS., Cadwallader KR, Artz WE.: Pan-frying stability of NuSun oil, a mid-oleic sunflower oil. J. Am. Oil Chem. Soc., 80, 479-483, 2003.

Koprivnjak O: *Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola*. MIH d.o.o., Poreč, 2006.

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

Marjanović – Jeromela A., Marinković R., Vasić D., Škorić D.: Sadržaj ulja u sjemenu uljane repice, 43. Savjetovanje industrijskih ulja: Proizvodnja i prerada uljarica. Zbornik radova, 117 – 121. Budva, 2002.

Miller: Experiments in molecular genet-ics, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, p.431-432, 1972.

Moureu C., Dufraisse C., Chem. Ind., 47: 819, 1928.

NN 41/12. Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Pravilnik o jestivim uljima i mastima

NN 81/08. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi uz sukladnost ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Pravilnik o prehrambenim aditivima

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

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

Oštrić – Matijašević B., Vidmar – Andrejašević L.: Autooksidacija lipida. Savjetovanje teh. ind. ulja, Beograd, 1989.

Popularni stručni članci iz područja PBN-a. Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Zagreb, 2004.

Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M.: Antioxidants in Food. Woodhead Pub. Ltd., England and CRC Press LLc, USA, 2001.

Purdy R. H.: High Oleic Sunflower: Physical and Chemical Characteristics. J. Am. Oil Chem. Soc., 63, 1062-1065, 1986.

Rac, M.: *Ulja i masti, sirovine, kemija i tehnologija jestivih ulja i masti*, Beograd, 1964.

Rade D., Markovčak Ž., Štrucelj D.: Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, 42 – 43. Zagreb, 2001.

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

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

Simic M. G., Karel M.: *Autooxidation in Food and Biological Systems*. Plenum Press. New York, 1980.

Suzuki Y. J.: Biochemistry, 32, 10692-9, 1993.

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

Topallar H., Bayrak Y., Iscan M.: A Kinetic Study on the Autooxidation of Sunflowerseed Oil, J Am Oil Chem Soc., 74, 1323-1327, 1997.

Vidyasagar K, Arya SS, Premevalli KS, Parihar DB, Nath H, *J. Food Sci. Technol.,* 11, 73, 1974.