Utjecaj dodatka mješavine antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja

Gnjatović, Luka

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:109:626492

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

Luka Gnjatović

UTJECAJ DODATKA MJEŠAVINE ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST SUNCOKRETOVOG ULJA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, svibanj, 2014.

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc Tihomiru Moslavcu na pomoći prilikom odabira teme, stručnom usmjeravanju tijekom izvršavanja eksperimentalnog dijela te pri samom pisanju diplomskog rada.

Zahvaljujem se i tehničarki Danieli Paulik na praktičnoj pomoći pri izvođenju eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na VI. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 25.03. 2014. godine
Mentor: izv. prof.dr. sc. Tihomir Moslavac

UTJECAJ DODATKA MJEŠAVINE ANTIOKSIDANASA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST SUNCOKRETOVOG ULJA

Luka Gnjatović 148-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 maslinovog lista, ekstrakta ružmarina – Oxy Less CS) u udjelima 0,2% i 0,4% te sintetskog antioksidansa propil galata u udjelu 0,01% na stabilnost suncokretovog ulja i na mješavine suncokretovog i repičinog ulja (80:20). Ispitivan je i utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa (0,2% i 0,4%) na promjenu oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja. Određivanje oksidacijske stabilnosti suncokretovog 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. Ekstrakt ružmarina Oxy Less CS pokazuje veću efikasnost zaštite suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta maslinovog lista. Dodatak ekstrakta zelenog čaja (0,4%) i propil galata (0,01%) postigao je podjednaku efikasnost zaštite ovog ulja od oksidacije. Dodatak mješavine antioksidanasa, ekstrakta zelenog čaja i ružmarina u omjeru 50:50 efikasnije štiti suncokretovo ulje od oksidacije u odnosu na primjenu drugih ispitivanih mješavina.

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

Rad sadrži: 56 stranica
11 slika
18 tablica
45 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- izv. prof. dr. sc. Andrija Pozderović — predsjednik
- izv. prof.dr. sc. Tihomir Moslavac — član-mentor
- izv. prof.dr. sc. Vedran Slačanac — član
- 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 at its session no. VI. held on March 25, 2014.
Mentor:	Tihomir Moslavac, PhD, associate prof.

THE IMPACT OF ADDITION OF MIXTURE OF ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STABILITY OF SUNFLOWER OIL

Luka Gnjatović 148-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, olive leaf extract, rosemary extract – Oxy Less CS) proportions of 0,2% and 0,4%, and effect of synthetic antioxidant propyl gallate proportions of 0,01% on oxidative stability of sunflower oil and oil mixture of sunflower oil and rapeseed oil (80:20). The impact of the addition of a mixture of natural antioxidants (0,2% and 0,4%) to change the oxidation stability of sunflower oil was also investigated. Determination of the oxidative stability of sunflower 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. Extract of rosemary Oxy Less CS shows greater efficiency of protection of sunflower oil from oxidative spoilage than extract of green tea and extract of olive leaf. Addition of extract of green tea (0,4%) and propyl gallate (0,01%) resulted in same efficiency of protection of this oil from oxidation. Addition of mixture of antioxidants, extract of green tea and rosemary in ratio 50:50 better protects sunflower oil from oxidation than the other mixtures of antioxidants.

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

Thesis contains:
56 pages
11 figures
18 tables
45 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- Andrija Pozderović, PhD, associate prof. — chair person
- Tihomir Moslavac, PhD, associate prof. — supervisor
- Vedran Slačanac, PhD, associate prof. — member
- 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 3

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA 4

2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA 9

2.2.1. Suncokretovo ulje 9

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA 12

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA 16

2.4.1. Antioksidansi 17

2.4.1.1. Sintetski antioksidansi 19

2.4.1.2. Prirodni antioksidansi 21

2.4.2. Sinergisti 22

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA 24

2.6. ODRŽIVOST ILI OKSIDACIJSKA STABILNOST 27

3. EKSPERIMENTALNI DIO 311

3.1. ZADATAK 32

3.2. MATERIJAL I METODE 32

3.2.1. Materijali 32

3.2.1.1. Jestivo suncokretovo ulje 32

3.2.1.2. Jestivo repičino ulje 33

3.2.1.3. Antioksidansi 33

3.2.2. Metode rada 35

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja 35

3.2.2.2. Priprema uzorka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti 36

3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal oven testom 37

4. REZULTATI 39

5. RASPRAVA 47

6. ZAKLJUČCI 511

7. LITERATURA 53

Popis oznaka, kratica i simbola

PTF	Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
HAH	Hrvatska agencija za hranu
SFA	Zasićene masne kiseline
EMK	Esencijalne masne kiseline
EPA	Eikosapentaenska kiselina
DPA	Dokosapentaenska kiselina
DHA	Dokosaheksaenska kiselina
BHA	Butil hidroksianisol
BHT	Butil hidroksitoluen
EDTA	Etilendiamin tetra-octena kiselina
PG	Propil galat
OG	Oktil galat
TBHQ	Tercijarni butilhidrokinon
Abr	Anisidinski broj
Pbr	Peroksidni broj
SMK	Slobodne masne kiseline
TB	Tiobarbiturni broj

1. UVOD

Biljna ulja su proizvodi ograničenog vremena trajnosti, brzo podliježu nepoželjnim promjenama (enzimski i mikrobiološki procesi te kemijske reakcije) što rezultira kvarenjem ulja. Najčešći tip kvarenja je oksidacijsko kvarenje ulja, a predstavlja proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masne kiseline. Oksidacijsko kvarenje biljnih ulja tijekom skladištenja ili primjene implicira cijeli niz nepoželjnih reakcija kao što su polimerizacija, hidroliza, izomerizacija, ciklizacija i dr. (Dimić, 2005.). Autooksidacija ulja može nastupiti brže ili sporije što ovisi od sastava biljnog ulja, uvjeta skladištenja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju (prooksidansi) ili usporavaju (antioksidansi) ovu reakciju oksidacije (Martin-Polvillo, 2004.). Neprijatan miris oksidiranih ulja pripisuje se primarnim i sekundarnim produktima oksidacije (Gray, 1978; Rovellini, 1997.). Nastali produkti procesa autooksidacije u malim količinama narušavaju senzorska svojstva ulja kao što su neugodan miris i okus (Broadbent i Pike, 2003.). Oksidacijska stabilnost ili održivost biljnih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se mogu sačuvati od procesa autooksidacije. Poznavanje održivosti ulja važno je kako bi se moglo unaprijed utvrditi vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije te za određivanje vremenskog roka upotrebe ulja. Rezultati istraživanja oksidacijskog kvarenja naglašavaju da održivost biljnih ulja ovisi, prije svega, od vrste ulja odnosno sastava masnih kiselina kao i od udjela prirodnih antioksidanasa u ulju. Danas se u praksi najčešće primjenjuju metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja temeljene na ubrzanoj oksidaciji ulja, a to su Schaal ili Oven test, AOM ili Swift test i Rancimat test (Shahidi, 2005.; Przybylski, 1993.; Suja, 2004.; Abramović, 2006.; Farhoosh, 2008.; Farhoosh, 2009.).

Oksidacijska stabilnost biljnih ulja može se poboljšati dodatkom antioksidansa. Poznati su brojni sintetski i prirodni antioksidansi, od čega se više preferiraju prirodni antioksidansi (Frega i sur., 1999.).

Ispitivanje oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja linolnog tipa kao i utjecaja dodatka prirodnih antioksidanasa (pojedinačno i mješavine) te propil galata na promjenu održivosti ulja provedeno je Schaal oven testom koji se temelji na ubrzanoj oksidaciji ulja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Ulja i masti su tvari biljnog ili životinjskog podrijetla koje su topljive u organskim otapalima, a netopljive u vodi. Predstavljaju estere alkohola glicerola i masnih kiselina te se najčešće nazivaju trigliceridi ili triacilgliceroli (Marcone, 2006).

Prema agregatnom stanju kod sobne temperature te prema odnosu zasićenih i nezasićenih masnih kiselina razlikujemo ulja i masti. Biljna ulja sadrže više nezasićenih masnih kiselina te su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju za razliku od masti (Mandić, 2003).

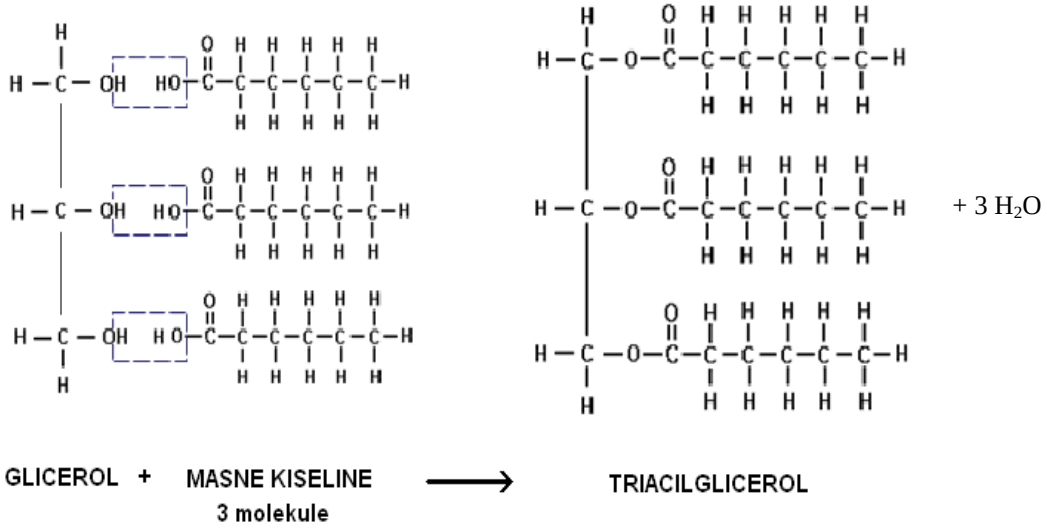
S obzirom na strukturu i sastav biljnih ulja prirodni lipidi se dijele na:

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

Jednostavni lipidi

Jednostavni lipidi obuhvaćaju triacilglicerole masnih kiselina, koje najčešće nalazimo u prirodi uz prisutnost manjih količina lipida iz drugih grupa, te voskove koji predstavljaju estere viših masnih kiselina i viših masnih alkohola (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

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



Slika 1 Primjer nastajanje triacilglicerola

Složeni lipidi

Složeni lipidi su pratioci neutralnih lipida, a i lipidni sastojci u nekim dijelovima organizma. To su fosfolipidi, glikolipidi, aminolipidi, sulfolipidi. Negliceridne sastojke prirodnih ulja čine fosfatidi, karoteni, voskovi, steroli, liposolubilni vitamini (A, D, E), tokoferoli, pigmenti (klorofil, gosipol), glikozidi, aldehidi, ketoni, masni alkoholi i tragovi metala. Udio negliceridnih sastojaka u prirodnim uljima je od 1 do 2% izuzetak su sojino i pamukovo ulje i do 3,5% (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). Negliceridni sastojci kao što su karoteni i liposolubilni vitamini su izrazito poželjni u uljima, dok su voskovi, fosfatidi i tragovi metala nepoželjni jer smanjuju kvalitetu ulja te se prilikom rafinacije ulja moraju što je više moguće ukloniti.

Derivati lipida

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

Masne kiseline se razlikuju po:

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

S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikujemo:

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

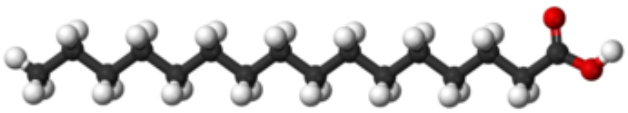
Što je lanac masnih kiselina kraći, to je masnoća u više tekućem obliku, odnosno snižava se njezino talište.

S obzirom na stupanj nezasićenosti masne kiseline dijele se na:

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

Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline (SFA) dobile su naziv jer su svi ugljikovi atomi u lancu zasićeni atomima vodika i nema dvostrukih veza između atoma ugljika. Najvažnije svojstvo ovih masnih kiselina je da su slabo reaktivne za reakcije na lancu.



Slika 2 Kemijska struktura palmitinske kiseline (McMurry, 2008)

Tablica 1 Najvažnije zasićene masne kiseline

Broj C atoma	Naziv masne kiseline
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 najviše raširene: laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska masna kiselina. U mliječnoj masti prevladavaju niže masne kiseline C4 – C10 atoma. Zasićene masne kiseline s neparnim brojem C atoma dolaze samo u tragovima u prirodnim mastima.

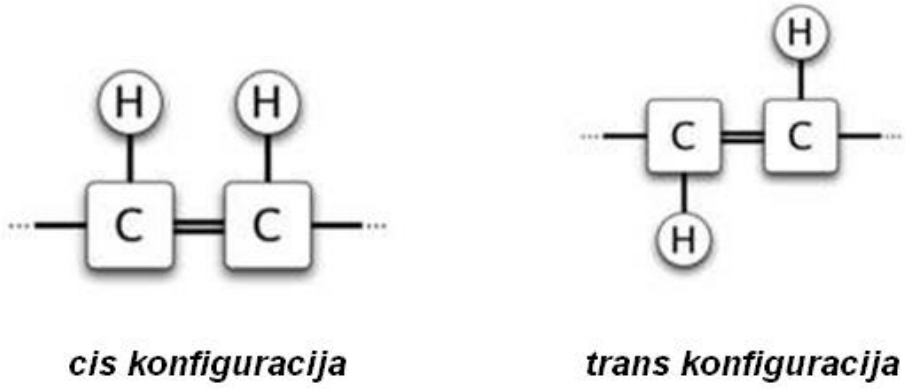
Nezasićene masne kiseline

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

Najčešće prisutna mononezasićena masna kiselina (jednostruko nezasićena) u ulju je oleinska kiselina koja se nalazi, između ostalog, u maslinovom ulju, repičinom ulju te visokooleinskom suncokretovom ulju. Jednostruko nezasićena oleinska kiselina je manje podložna oksidaciji od polinezasićenih masnih kiselina (Rade i Škevin, 2004.).

Većina kardiologa i nutricionista preporučuje zastupljenost mononezasićenih ulja u prehrani, jer je dokazano da snižavaju udio lošeg LDL kolesterola, a podižu razinu protektivnog HDL kolesterola (Katalenić, 2007.).

Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva geometrijska izomerna oblika, cis i trans obliku. Prirodne nezasićene masne kiseline su cis konfiguracije, a trans nezasićene masne kiseline nastaju tijekom procesiranja, zagrijavanja ili hidrogenacije biljnih ulja (O´Brien, 2004). Trans oblici nezasićenih dvostrukih veza su termodinamički znatno stabilniji nego cis oblici, čime se objašnjava mogućnost stvaranja trans izomera tijekom termičkog tretmana ulja pri rafinaciji u fazi dezodorizacije. Kod jestivih nerafiniranih i hladno prešanih biljnih ulja trans izomera masnih kiselina ne bi smjelo biti ni u tragovima, jer se ne primjenjuje proces rafinacije niti je ulje bilo izloženo utjecaju povišenih temperatura (Caggiula i Mustad, 1997).



Slika 3 Cis i trans oblik nezasićene dvostruke veze

Kemijski sastav oba oblika je isti, ali se po fizikalnim svojstvima vrlo razlikuju. Broj cis i trans izomera neke masne kiseline ovisi o broju dvostrukih veza. Masna kiselina sa dvije dvostruke veze može postojati u 4 geometrijska oblika (cis – cis, cis – trans, trans – cis, trans – trans).

Određivanje udjela trans masnih kiselina važno je zbog:

- upoznavanje kvalitete masti i
- kontrole procesa hidrogenacije.

Mnogobrojne eksperimentalne studije posljednjih su godina pokazale da trans masne kiseline značajno utječu na nivo pojedinih frakcija lipoproteina u krvi što za posljedicu ima ubrzani razvoj arterioskleroze i koronarnih bolesti (Caggiula i Mustad, 1997.).

Polinezasićene masne kiseline

Polinezasićene masne kiseline u svom sastavu imaju dvije ili više nezasićenih dvostrukih veza.

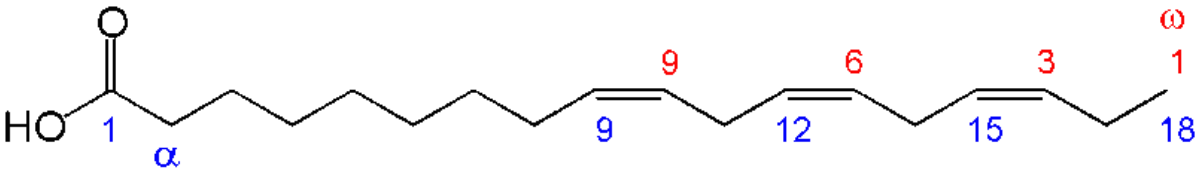
Najvažnije polinezasićene masne kiseline su:

- linolna (dvije dvostruke veze)
- linolenska (tri dvostruke veze)
- arahidonska (četiri dvostruke veze)

Polinezasićene masne kiseline dijele se na omega-3 i omega-6 skupinu (n-3 i n-6). Omega-3 skupini pripada α-linolenska kiselina i njezini derivati: eikosapentaenska kiselina (EPA), dokosapentaenska kiselina (DPA) i dokosaheksaenska kiselina (DHA). Najviše ih ima u ulju riba sjevernih mora, pastrvama i ulju biljaka, a kod uljarica se nalazi najviše u lanenom ulju, konopljinom ulju i repičinom ulju. Omega-6 skupini pripadaju linolna kiselina i arahidonska kiselina koju organizam može sintetizirati iz linolne kiseline (Mandić, 2003).

Esencijalne masne kiseline

Esencijalne masne kiseline (EMK) pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina sa 18, 20 i 22 ugljikovih atoma i sadrže od dvije do šest dvostrukih veza u cis konfiguraciji u lancu masne kiseline. Ljudski organizam može sintetizirati sve masne kiseline tj. esencijalne masne kiseline koje su potrebne za pravilan rast i razvoj (osim linolne i linolenske) pa ih je potrebno unositi hranom. EMK imaju funkciju da u našem organizmu pomažu pravilnim radom stanica i funkciji organa, iz njih nastaju spojevi slični hormonima koji upravljaju nizom životnih funkcija (regulacija krvnoga tlaka, zgrušavanje krvi), utječu na imunološko stanje, te na upalni odgovor prema infekcijama. Pomoću EMK stvaraju se spojevi kao što su prostaglanidin, leukotrieni, tromboksani (Mandić, 2003).



Slika 4 Kemijska struktura alfa - linolenske kiseline (ALA), esencijalne omega-3 masne kiseline

2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

U svijetu se za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava više od 20 vrsta biljaka, no samo ih 12 ima veći ekonomski značaj. Osnovna podjela ulja prema porijeklu sirovine može biti na ulja iz mesnatog dijela ploda i na ulja iz sjemena. Također imamo i podjelu na osnovu većinskog udjela masnih kiselina, te na osnovu porijekla 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 …)
   - ulje palmitinske kiseline (palmino ulje, pamukovo ulje …)
   - ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buče, repica …)
   - ulje linolenske kiseline (lan, soja, konoplja, camelina sativa …)

3. Ulja prema porijeklu biljke:

   - ulja iz leguminoza (kikiriki, soja …)

2.2.1. Suncokretovo ulje

Suncokret (*Helianthus annus* L.) je jedna od četiri najznačajnije sirovine za proizvodnju ulja u svijetu porijeklom iz Sjeverne Amerike. Komercijalna proizvodnja suncokretovog ulja započela je 1880. godine u Rusiji.

Najveći proizvođači suncokreta su Rusija, Ukrajina, Argentina, SAD, Kina, Indija, Francuska i Španjolska. Oplemenjivanje suncokreta se vrši stalno, a glavni ciljevi oplemenjivanja su povećanje prinosa sjemena i ulja i povećanje kvalitete ulja, a to se postiže izmjenom sastava masnih kiselina i promjenom odnosa pojedinih izomernih oblika tokoferola u ulju.

Današnji komercijalni hibridi imaju sadržaj ulja i preko 50%.

Osnovni kemijski sastav sjemena suncokreta je prikazan u **Tablici 2.**

Tablica 2 Osnovni kemijski sastav sjemena suncokreta (% na suhu tvar)

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

* kod ljuske suncokreta točnije je govoriti o „ekstraktivnim tvarima“,
s obzirom na to da preko 80% ovih tvari čine voskovi

Zahvaljujući intenzivnom radu na selekciji, kod uljanog suncokreta postoje 2 tipa:

- ***linolni tip***, kod kojeg u sastavu ulja dominira linolna kiselina sa sadržajem od oko 55 do 75%
- ***oleinski tip***: - visokooleinski, kod kojeg u sastavu ulja dominira oleinska kiselina sa sadržajem od oko 80 do preko 90%
  - srednjeoleinski, kod kojeg u sastavu ulja dominira oleinska kiselina sa sadržajem od oko 60 do 65%

Ulje suncokreta je vrlo cijenjeno zbog ugodnih senzorskih svojstava i visoke biološke vrijednosti, koja je uvjetovana sastavom masnih kiselina i odgovarajućim sadržajem vitamina E. Od svih jestivih ulja suncokretovo ulje je najbogatije vitaminom E – najznačajnijim prirodnim biološkim antioksidansom. Odnos esencijalne linolne kiseline i α-tokoferola kod ovog ulja u potpunosti odgovara zahtjevima suvremene prehrane.

Osnovne karakteristike ulja prikazane su u **Tablici 3**, sastav masnih kiselina u **Tablici 4**, a sadržaj i sastav neosapunjivih tvari u **Tablici 5.**

Tablica 3 Osnovne fizikalno-kemijske karakteristike suncokretovog ulja linolnog tipa

Pokazatelj	Vrijednost
Relativna zapremninska masa (20°/voda 20°C)	0,918 – 0,925
Indeks refrakcije (n^{20}_D)	1,474 – 1,476
Indeks refrakcije (n^{40}_D)	1,461 – 1,468
Viskozitet pri 20°C (cP)*	51 – 57
Točka očvršćavanja (°C)	-16 – -18
Točka dimljenja (°C)	252 – 254
Točka paljenja (°C)	najmanje 225**
Titar masnih kiselina (°C)	16 – 20
Jodni broj (Wijs) (g/100g)	110 – 141
Saponifikacijski broj (mgKOH/g)	188 – 194

* cP = Pa x s; ** za sirovo suncokretovo ulje prema Standardu JUS E.K2.020

Tablica 4 Sastav masnih kiselina suncokretovog ulja linolnog tipa

Masna kiselina (% m/m)	*	*	*	*
< $C_{14:0}$	-	-	≤ 0,1	-
$C_{14:0}$ – miristinska	-	-	≤ 0,2	-
$C_{16:0}$ – palmitinska	5 – 7	6	5,6 – 7,6	6,6 – 7,2
$C_{16:1}$ – palmitoleinska	≤ 0,4	0,1	≤ 0,3	-
$C_{18:0}$ – stearinska	4 – 6	4	2,7 – 6,5	4,2 – 4,5
$C_{18:1}$ – oleinska	15 – 25	16,5	- 39,4	21 – 23
$C_{18:2}$ – linolna	62 – 70	72,4	48,3 – 74,0	62 – 67
$C_{18:3}$ – linolenska	≤ 0,2	0,5	≤ 0,2	0 – 0,1
$C_{20:0}$ – arahinska	< 1,0	0,4	0,2 – 0,4	-
$C_{22:0}$ – behenska	< 1,0	0,7	0,5 – 1,3	0,5

* Dimić E., 2005.

Kod suncokretovog ulja sadržaj linolenske kiseline je uvijek mali. Ukoliko se pojavi veći sadržaj, tada se vjerojatno radi o primjesama sojinog ili repičinog ulja. Najvažnije komponente neosapunjivih tvari biljnih ulja su tokoferoli i steroli.

Tablica 5 Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari ulja suncokreta

Neosapunjive tvari	*	*	*
Sadržaj neosapunjivih tvari (g/kg)	5 – 15	≤ 15	6 – 8
Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg)	3250 – 5150	2437 – 4540	-
Sastav sterola: (% od ukupnih sterola)			
Kolesterol	< 0,4	≤ 7	-
Brassicasterol	0	ND* – 0,2	-
Campesterol	8 – 11	7,4 – 12,9	-
Stigmasterol	7 – 10	8,0 – 11,5	-
β-sitosterol	58 – 64	56,2 – 65,0	-
Δ-5-avenasterol	2 – 7	ND – 6,9	-
Δ-7-avenasterol	4 – 6	3,1 – 6,5	-
Δ-7-stigmasterol	9 – 14	7,0 – 24,0	-
Isofucosterol	0,4 – 1	-	-
Fucosterol	2 – 3	-	-
Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola (mg/kg)	440 – 1200	447 – 1514	650 – 780
Sastav tokoferola: izražen u	(%)	(mg/kg)	(%)
α-tokoferol	91 – 97	403 – 935	98
β-tokoferol	3 – 6	ND – 45	1,2 – 1,6
ϒ-tokoferol	≤ 2	ND – 34	-
δ-tokoferol	-	ND – 7	-
Sadržaj ugljikovodika – skvalen (mg/100g)	15 – 20		-
Sadržaj alifatičnih alkohola (mg/100g)	100	-	-

* Dimić E., 2005.

Zbog velike oksidacijske stabilnosti ulja sa visokim sadržajem oleinske kiseline se mogu široko primjenjivati, kako u cilju produženja održivosti gotovih proizvoda koji u svom sastavu sadrže ulje, tako i u omogućavanju višestrukog korištenja ulja u pojedinim tehnološkim procesima bez velike promjene njegove kvalitete. Visoko-oleinska ulja su namijenjena prehrambenoj industriji za prženje, odnosno pečenje, kao komponenta pojedinih prehrambenih proizvoda i za zaštitu nekih artikala, njegovim nanošenjem na površinu u vidu tankog sloja. Visoko-oleinska ulja su našla svoje mjesto i u drugim granama industrije. Zbog odlične termooksidacijske stabilnosti ova ulja se preporučuju kao „biodegradabilna“ osnova za industrijska maziva. Oleinska ulja su našla široku primjenu i u kozmetici. Ona su znatno jeftinija od mnogih drugih ulja ili masti, koja se obično koriste za izradu kozmetičkih preparata, proizvodima daju dobru održivost, a također su i neiritantna.

2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja kao i svi prehrambeni proizvodi podložni su nepoželjnim promjenama, odnosno kemijskim, enzimskim i mikrobiološkim procesima zbog kojih dolazi do kvarenja ulja odnosno njihove ograničene trajnosti. Koja vrsta kvarenja i u kojem stupnju će nastati ovisi o vrsti ulja i njegovoj kvaliteti, te o uvjetima čuvanja. Posljedice navedenih promjena su nastanak spojeva koji narušavaju organoleptička svojstva i smanjuju nutritivnu vrijednost ulja gubitkom biološki aktivnih tvari (esencijalne masne kiseline, provitamini, vitamini i dr.) i nastankom štetnih tvari (peroksidi, polimeri). Od iznimne je važnosti spriječiti kvarenje ulja već od trenutka ubiranja i skladištenja sjemena, proizvodnje ulja, te skladištenje ulja do uporabe. Prema uzroku kvarenja ulja procesi kvarenja se dijele na enzimske i mikrobiološke, te kemijske procese (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

Vrste kvarenja ulja i masti:

- Enzimski i mikrobiološki procesi
- Kemijski procesi

- Enzimski i mikrobiološki procesi

Za ovu vrstu kvarenja neophodan je utjecaj enzima ili mikroorganizama, te odgovarajući uvjeti za njihovo djelovanje (voda, pH, temperatura). Enzimski procesi su karakteristični za ulja i masti u sirovinama. Disanjem sjemena oslobađa se toplina što povećava temperaturu,

a time i aktivnost autohtonih enzima pa je važno sjemenke i plodove uljarica skladištiti u odgovarajućim uvjetima. Mikrobiološki procesi značajni su za neka ulja te za proizvode koji sadrže visok udio ulja i masti. Ovi procesi se dijele na hidrolitičku razgradnju i β-ketooksidaciju.

β - ketooksidacija nastaje djelovanjem mikroorganizama (plijesni *Aspergillus* i *Penicillium,* bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*) na zasićene masne kiseline, a karakteristična je za ulja i masti u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca.

$RCH_2CH_2COOH \longrightarrow RCH{=}CHCOOH \longrightarrow RCHOHCH_2COOH \longrightarrow$

zasićena masna kis. α,β-nezasićena masna kis. β-hidroksi masna kis.

$RCOCH_2COOH \longrightarrow RCOCH_3{+}CO_2$

β-keto kiselina metil-keton

Posljedica djelovanja mikroorganizama je nastajanje β - keto kiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije. Metil ketoni već u malim koncentracijama dovode do narušavanja organoleptičkih svojstava odnosno užeglosti ulja i masti.

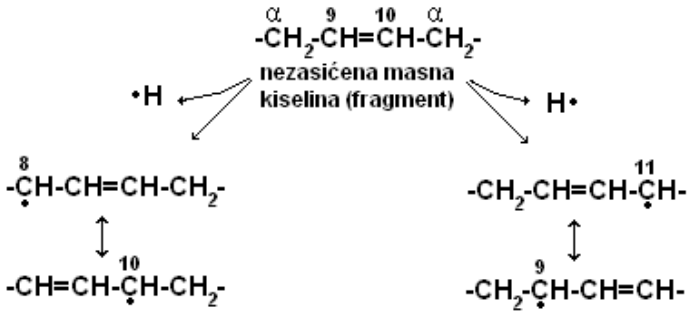
β – ketooksidaciju ulja i masti moguće je spriječiti pasterizacijom, sterilizacijom, snižavanjem pH – vrijednosti ispod 5 i primjenom određenih aditiva (konzervanasa).

Hidrolitička razgradnja podrazumijeva reakcije hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisutnost vode i povišene temperature. Tijekom hidrolize dolazi do cijepanja esterske veze masnih kiselina i alkohola glicerola u molekuli triacilglicerola što uzrokuje nastajanje slobodnih masnih kiselina. Posljedica je povećanje kiselosti ulja te nastajanje diglicerida, monoglicerida pa i glicerola. Pri temperaturama višim od 80 °C i nižim od -20 °C dolazi do inaktivacije lipolitičkih enzima pa je zaustavljen proces hidrolitičke razgradnje ulja (Rade i sur., 2001). Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem udjela slobodnih masnih kiselina u ulju. U rafiniranim jestivim uljima slobodnih masnih kiselina može biti do 0,3% izraženih kao postotak oleinske kiseline (Pravilnik o jestivim uljima i mastima NN 41/12).

- Kemijski procesi

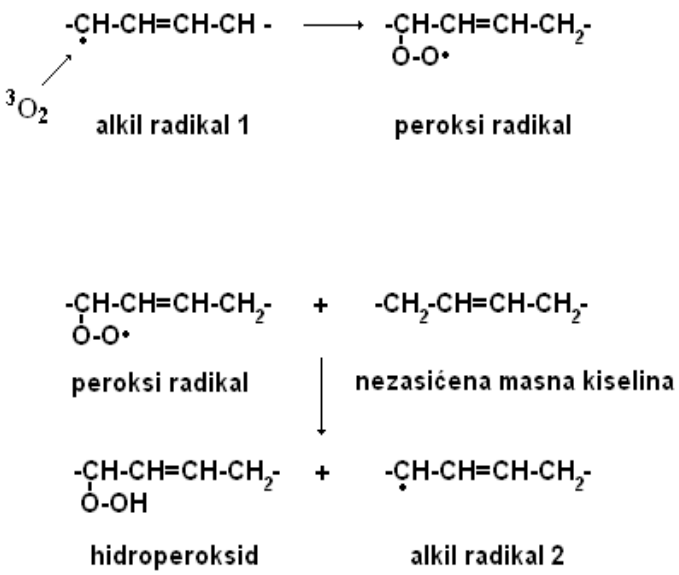
U ovu vrstu kvarenja biljnih ulja ubraja se: autooksidacija, termooksidacijske promjene i reverzija.

Autooksidacija je proces kvarenja kojem su podložna sva biljna ulja kao i proizvodi koji sadrže ulje u svom sastavu. Do oksidacije dolazi djelovanjem kisika iz zraka na dvostruke veze u lancu nezasićene masne kiseline. Brzina odvijanja procesa ovisi o sastavu ulja, uvjetima skladištenja te o prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju oksidaciju. Početna faza autooksidacije je indukcija i 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 dolazi do izdvajanja vodika i nastanka alkil radikala masne kiseline. Do homolitičkog cijepanja dolazi djelovanjem topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog svijetla ili uz katalitičko djelovanje iona metala. Radi premještanja dvostruke veze iz cis u trans položaj, slobodan elektron u alkil radikalu masne kiseline može biti u bilo kojem položaju od četiri atoma (Shahidi, 1997).



Slika 5 Autooksidacija (mehanizam po Farmeru) – homolitičko cijepanje (Koprivnjak, 2006)

Na alkil radikale vežu se molekule nepobuđenog, triplet kisika ($^3O_2$) i nastaju peroksi radikali koji ulaze u reakciju s drugim nezasićenim masnim kiselinama, stvarajući hidroperokside i nove alkil radikale.



Slika 6 Nastajanje hidroperoksida i slobodnih radikala (Koprivnjak, 2006)

Reakcija se kontinuirano nastavlja i dolazi do stvaranja radikala peroksida i hidroperoksida. Novonastali radikali omogućuju da proces postane autokataliziran. U završnoj fazi, terminaciji, slobodni radikali međusobno reagiraju, te nastaju polimeri (R-R, ROOR), koji nemaju svojstva radikala pa se reakcija autooksidacije završava (Koprivnjak, 2006).

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

Višestruko nezasićene komponente ulja oksidiraju brže nego mononezasićene ili zasićene komponente. Polinezasićene masne kiseline smatramo ključnim komponentama u procesu autooksidacije.

Tablica 5 Relativne brzine oksidacije masnih kiselina (Swern, 1972)

Masna kiselina	100 °C	20 °C
Stearinska	0,6	
Oleinska	6	4
Linolna	64	48
Linolenska	100	100

Oksidacijom ulja gube se esencijalne masne kiseline, ali također dolazi do oksidacije nekih vitamina i provitamina, a produkti oksidacije djeluju toksično pa je veoma važno spriječiti kvarenje ulja tijekom proizvodnje, skladištenja i upotrebe.

Termooksidacijske promjene ulja i masti odvijaju se pri zagrijavanju ulja pri visokim temperaturama (> 150 °C), uz prisutnost vodene pare i zraka te dolazi do složenih kemijskih reakcija. Nakon određenog vremena zagrijavanjem ulja na povišenim temperaturama u uljima osim oksidacijskih produkata (hidroperoksida i njihovih razgradnih produkata) dolazi i do nastanka produkata termooksidacije: cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina i triaciglicerola, oksipolimeri i drugi hlapljivi i nehlapljivi spojevi (Vidyasagar i sur.,1974.). Do sada je identificirano preko 400 spojeva nastalih u ulju ovom vrstom kvarenja. Kako će se odvijati termooksidacijske promjene ovisi o vrsti ulja, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Kod ulja sa većim udjelom nezasićenih masnih kiselina, a naročito linolne kiseline (preko 50 %) dolazi do bržeg stvaranja ovih spojeva.
Tijekom prženja mijenjaju se fizikalna svojstva ulja i to indeks refrakcije, specifična težina, viskozitet i boja po Lovibondu. Vrijednosti parametara fizikalnih svojstava ulja porasle su u odnosu na početnu vrijednost pa se tako mijenjaju i kemijska svojstva te dolazi do porasta udjela slobodnih masnih kiselina, broja osapunjenja i peroksidnog broja, jodni broj se smanjuje.

Jedna od metoda koja pokazuje da je tijekom zagrijavanja došlo do stvaranja dimera, polimera je određivanje jodnog broja. Sniženje jodnog broja (za 5 %) je znak da se biljno ulje više ne može koristiti za prženje hrane.

Reverzija je pojava, karakteristična za neka biljna ulja, kod kojih se poslije kraćeg vremena čuvanja javlja neugodan okus i miris na sirovinu, ribu i postaju jako izraženi kada se ulje zagrijava (Rac,1964). Tijekom autooksidacije ulja koja sadrže linolensku kiselinu dolazi do reverzije mirisa i okusa. Da bi se usporila reverzija primjenjuje se djelomična hidrogenacija ulja, kako bi se uklonila linolenska kiselina, ili se dodaju aditivi koji povećavaju održivost ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost biljnih ulja ovisi o nizu čimbenika: sastavu masnih kiselina, raspodjeli masnih kiselina u molekuli triglicerida, te o prisustvu različitih komponenti u ulju koje utječu

na stabilnost (Shahidi, 2005). Na terminaciju, odnosno zaustavljanje oksidacije ulja važnu ulogu imaju tvari koje usporavaju propagaciju na način da deaktiviraju slobodne radikale u sustavu (Eskin i Przybylski, 2001).

2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su reducirajuće tvari koje prisutne u malim koncentracijama sprječavaju proces oksidacijskog kvarenja i produžuju održivost ulja (Yanishlieva i Marinova, 2001). Kako bi se spriječio autokatalitički proces potrebno je antioksidans dodati što je moguće prije u proizvedeno ulje. Danas je poznat veći broj prirodnih i sintetskih antioksidanasa koji se koriste kao inhibitori autooksidacije biljnih ulja (Merill i sur., 2008).

Antioksidansi mogu spriječiti jednu ili više faza cjelokupnog procesa oksidacijskog kvarenja:

- inicijaciju autooksidacije (indukcijski period),
- propagaciju autooksidacije,
- stvaranje singlet kisika,
- razaranje hidroperoksida na kratkolančene spojeve koji imaju neugodan miris i okus,
- stadij u kojem se radikali peroksida i hidroperoksida pregrađuju i daju izomerne spojeve koji potiču različitu razgradnju produkata i tako utječu na okus.

S obzirom na koju od gore navedenih faza djeluju, antioksidansi se mogu svrstati u primarne i sekundarne.

Ukoliko se uspoređuje djelovanje antioksidanasa mora se uzeti u obzir nekoliko čimbenika. Učinci antioksidanasa variraju ovisno o različitim vrstama ulja zbog razlike u sastavu masnih kiselina i udjela antioksidanasa koji su već prisutni u ulju.

Rezultati dobiveni na različitim temperaturama ne moraju biti izravno usporedivi jer se mehanizmi nastajanja i razgradnje hidroperoksida mijenjaju sa temperaturom što utječe na postojanost antioksidanasa.

Rezultati ispitivanja oksidacijske stabilnosti biljnih ulja variraju s obzirom na primjenjenu metodu.

Neke metode određuju primarne produkte, a neke sekundarne produkte oksidacije ulja. Kombinacije antioksidanasa djeluju sinergistički i zbog toga ih je teško razdvojiti (Gunstone, 2004).

Antioksidans djeluje u biljnim uljima toliko dugo dok se ne potroši. Djelovanje antioksidansa ovisi o vrsti antioksidansa, koncentraciji u kojoj je dodan, vrsti ulja i uvjetima čuvanja.

Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa može se izraziti pomoću stabilizacijskog (zaštitnog) faktora (PF), koji pokazuje koliko se puta poveća održivost nekog ulja dodatkom antioksidansa.

$$\text{Zaštitni faktor (PF)} = IP_X / IP_K$$

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

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

Vrijeme indukcije je broj sati potreban da ulje dostigne peroksidni broj 5 mmol O_2/kg. Povećanjem koncentracije antioksidansa povećava se i oksidacijska stabilnost ulja, no neki antioksidansi u većoj koncentraciji djeluju suprotno te ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja (Bandoniene i sur., 2000).

- Mehanizam djelovanja

Primarni antioksidansi su radikal-akceptori ili „hvatači“ radikala. U fazi inicijacije (indukcije) oni „hvataju“ alkil radikale (R•), a u fazi propagacije peroksi radikale (ROO•). Oni to čine tako što imaju dostupan vodikov atom koji doniraju radikalu (kao u fenolima i aminima) ili reakcijom zajedno sa radikalima (kao što su visoko nezasićeni spojevi poput karotena). Finalni produkti su dovoljno stabilni da se ne uključuju u proces oksidacije. Indukcijski period je vrijeme u kojem se stvaraju slobodni radikali, a antioksidansi djeluju.

$$ROO\bullet + AH \longrightarrow ROOH + A\bullet \ .... \longrightarrow \text{produkt}$$

$$ROO\bullet + B \longrightarrow ROOB\bullet \ .... \longrightarrow \text{produkt}$$

AH = amini ili fenoli, B = polinezasićeni spojevi kao što je β-karoten

Neki antioksidansi mogu spriječiti dva ili više niza propagacije jer produkti koji se prvi formiraju iz antioksidansa još uvijek imaju antioksidacijsku aktivnost (Gunstone, 2004). U primarne antioksidanse ubrajaju se fenoli, galati, hidrokvinoni, BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), tokoferoli, flavonoidi, askorbati, ekstrakti biljaka i začina, antioksidansi nastali procesiranjem (Eskin i Przybylski, 2001). Sekundarni antioksidansi uklanjaju metalne ione koji potpomažu fazu inicijacije u procesu autooksidacije. Među njih ubrajamo etilendiamin tetra-octena kiselina (EDTA), limunska kiselina, fosforna kiselina i određene amino kiseline. Često se koriste zajedno sa primarnim antioksidansima (Gunstone, 2004).

- Vrste antioksidansa

Poznat je veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidansa, ali ne koriste se svi za stabilizaciju jestivih ulja i masti. U **Tablici 6** prikazani su antioksidansi koji se obično upotrebljavaju u hrani.

Tablica 6 Primarni antioksidansi koji se koriste u hrani (Shahidi, 2005)

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

Antioksidacijski aktivitet moguće je povećati kooperativnim učinkom više antioksidanasa ili antioksidansa sa drugim tvarima, takva pojava naziva se sinergizam. Postoje dva tipa sinergizma, jedan obuhvaća samo primarne antioksidanse, a drugi je složen od kombinacije primarnih antioksidanasa sa metalhelatorima i čistačima peroksida (Shahidi, 2005).

2.4.1.1. Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi koriste se za stabilizaciju masti, ulja i hrane koja sadrži lipide. Ubrajaju se u grupu aditiva, dobiveni su kemijskim putem i nisu prirodan sastojak hrane. Po kemijskom sastavu su uglavnom spojevi fenolnog tipa. Količina antioksidanasa koja se može dodati uljima u hrvatskoj je regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 81/2008.

Umjetni antioksidansi fenolnog tipa su u para supstituciji (*p*-), dok prirodni fenolni sastojci su uglavnom u orto supstituciji (*o*-). Supstitucija p- se preferira zbog njihove manje toksičnosti. Spojevi fenolnog tipa u meta supstituciji (m-) su inaktivni kao antioksidansi. Sintetski fenolni antioksidansi su uvijek supstituirani sa alkil skupinama kako bi poboljšali njihovu topljivost u uljima i mastima te reducirali njihovu toksičnost (Shahidi, 2005).

Tablica 7 Fizikalna svojstva sintetskih antioksidanasa (Shahidi, 2005)

Svojstva	BHA	BHT	Dodecil galat (DG)	Propil galat (PG)	TBHQ
Izgled	Čvrst kao vosak	Bijeli kristali	Bijeli kristali	Bijeli kristali	Bjelkasto-žućkastosmeđi kristali
Vrelište	264 do 270	265	-	Razgrađuje se iznad 148	300
Talište	50 do 52	69 do 70	146 do 148	146 do 148	126 do 128
Kukuruzno ulje	30	30	0	0	5 do 10
Glicerol	1	0	-	25	<1
Svinjska mast	30 do 40	50	-	1	5 do 10
Voda	0	0	<1	<1	<1
Sinergizam	BHT, galati	BHA	BHA	BHA	-

U grupu sintetskih antioksidanasa ubrajaju se butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianisol (BHA), alkil esteri galne kiseline (propil galat – PG, oktil galat – OG, dodecil galati), tercijarni butilhidrokinon (TBHQ).

BHA – E320 - pokazuje dobru topljivost u mastima i stabilnost u prženim i pečenim proizvodima. Pokazuje bolju učinkovitost u životinjskim mastima u odnosu na biljna ulja. Djeluje sinergistički sa butiliranim hidroksitoluenom i propil galatom, može se koristiti do maksimalne koncentracije od 200 ppm.

BHT – E321 – manje je topljiv od BHA i nije topljiv u propilen glikolu koji se najčešće koristi kao otapalo za antioksidanse. Sinergistički djeluje sa BHA i nekoliko komercijalnih antioksidanasa. BHT je stabilniji na visokoj temperaturi od BHA. Maksimalna dozvoljena količina koja se smije dodavati u ulja je do 200 ppm.

PG – E310 – najraširenija upotrebljavani galat. Manje je topljiv u odnosu na BHA i BHT. Razgrađuje se na temperaturama iznad 148 °C te nije odgovarajući za primjenu kod prženja hrane s uljem. Učinkovit je kada se koristi sa BHA i može se maksimalno dodavati do 100 ppm.

TBHQ – E319 – vrlo je učinkovit u biljnim uljima, dobre je topljivosti i stabilan na visokim temperaturama. Najčešće se koristi za transport i skladištenje ulja. Kompletno se uklanja dezodorizacijom ulja.

2.4.1.2. Prirodni antioksidansi

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

Tokoli (tokoferoli i tokotrienoli) su najpoznatiji i najčešće korišteni prirodni antioksidansi u biljnim uljima. Dolaze kao neosapunjivi sastojci skoro u svim prirodnim uljima i mastima, ali znatno više u onima biljnog podrijetla. Po kemijskom sastavu su visoko molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Postoji osam tokola – četiri tokoferola koji se međusobno razlikuju po rasporedu metilnih grupa i četiri tokotrienola koji su slični tokoferolima, ali imaju tri nezasićene veze u lancu. Biljna ulja prirodno sadrže tokole u količini od 200 do 800 ppm pa njihovo dodavanje pokazuje manji učinak (Gunstone, 2004). Tokotrienoli imaju snažnije antioksidacijsko djelovanje od tokoferola (Shahidi i Zhong, 2005). Najvažniji tokoferoli su α-tokoferol, β-tokoferol, γ-tokoferol i δ-tokoferol. Oni se razlikuju po svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α-tokoferol koji je dobio naziv vitamin E. Vitamin E se degradira na povišenoj temperaturi i u prisustvu UV svjetlosti (Sabliov i sur., 2009). Najbolje antioksidacijsko djelovanje pokazuju γ-tokoferol i δ-tokoferol. Ulje kukuruznih klica sadrži više ovih tokoferola pa ima veću održivost.

Tablica 8 Udio pojedinih tokoferola u sirovim uljima (Gunstone, 2008)

Vrsta ulja	α (ppm)	β (ppm)	γ (ppm)	δ (ppm)
Repičino ulje	179	0	415	10
Palmino ulje	190	0	0	0
Sojino ulje	120	10	610	190
Suncokretovo ulje	610	10	30	10

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

Vitamin C (askorbinska kiselina) djeluje kao „hvatač“ kisika uklanjajući tragove preostalog kisika u pakiranim proizvodima. Topljiv je u vodi, ali se može koristiti u lipid topljivom obliku kao askorbil palmitat (Gunstone, 2004).

Lecitin je prvi prirodni spoj predložen kao antioksidans. Predstavlja smjesu različitih fosfolipida, a u biljnom lecitinu to su fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin i fosfatidilinozitol. Fosfolipidi se moraju ukloniti iz ulja prije rafinacije jer povećavaju gubitke i otežavaju proces rafinacije. Sirova ulja su zbog toga stabilnija od rafiniranih. Lecitin u kombinaciji s drugim antioksidansima djeluje kao sinergist. Najbolja je kombinacija lecitina sa askorbil palmitatom i tokoferolom (Rade i sur., 2001).

Listići ružmarina sadrže određene spojeve koji pokazuju izrazito antioksidacijsko djelovanje, a zadržavaju ga i pri visokoj temperaturi. Antioksidansi ekstrakta ružmarina su fenolni diterpenoidi: karnosol, karnosolna kiselina, rosmanol, epirosmanol, rosmadial i metil-karnosat, antioksidacijsko svojstvo imaju i flavonoidi genkvanin i cirsimaritin (Škevin, 2003). Ekstrakt ružmarina pokazuje najbolju antioksidacijsku aktivnost u odnosu na α-tokoferol, askorbil palmitat i limunsku kiselinu. U kombinaciji sa askorbil palmitatom i limunskom kiselinom pokazuje povećanje antioksidacijskog efekta. U kombinaciji sa α-tokoferolom otkriven je negativan sinergistički učinak (Hraš i sur., 2000).

Ekstrakt zelenog čaja je visoko učinkovit u uljima i mastima. Polifenoli prisutni u zelenom čaju građeni su uglavnom od katehina koji imaju antioksidacijska svojstva. Neki od najvažnijih katehina zelenog čaja su: (-)-epigalokatehin-3-galat, (-)-epigalokatehin, (-)-epikatehin-3-galat, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin i (+)-katehin (Madhavi, 1996).

2.4.2. Sinergisti

To su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produžuju njegovo djelovanje 1-3 puta. Sinergisti koji se najviše koriste uz antioksidanse su: limunska, askorbinska i octena kiselina, monoizopropil citrat, askorbil palmitat i lecitin. Svaki sinergist ne odgovara svakom antioksidansu. Dobar sinergist uz tokoferole je askorbinska kiselina, askorbil palmitat i limunska kiselina.

Sinergisti imaju tri načina djelovanja:

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

Oni se u proizvod obično dodaju na kraju procesa dezodorizacije.

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

Čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja nazivaju se prooksidansi.
Djelovanje prooksidanasa je svojstveno po tome što skraćuju indukcioni period autooksidacije ili ga potpuno uklanjaju i tako kataliziraju proces oksidacije (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980.). Sposobnost i brzina oksidacije ulja ovisi o njegovom sastavu (broju dvostrukih veza), ali i o nizu drugih čimbenika koji djeluju prooksidacijski, kao što su temperatura, svjetlost, tragovi metala i neki pigmenti te prisutnost slobodnih masnih kiselina.

- Temperatura

Oksidacijsko se kvarenje ne može u potpunosti spriječiti. Skladištenjem na niskim temperaturama, nižim od – 20°C, proces autooksidacije odvija se polagano. Povišena temperatura ubrzava djelovanje kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida što je najviše izraženo kod biljnih ulja sa visokim udjelom polinezasićenih masnih kiselina (npr. sojino ulje).

- Svjetlost

Svjetlost također djeluje kao prooksidans i to bez obzira na valnu duljinu. Kraće valne duljine svjetlosti, manje od 380 nm, više ubrzavaju oksidaciju ulja, ali je za održivost biljnih ulja važan utjecaj vidljivog dijela spektra. Kako bi spriječili djelovanje svjetlosti na ulje važno je skladištiti ga i čuvati u odgovarajućoj ambalaži. Topallar i sur. (1997.) su pokazali da suncokretovo nehidrogenizirano ulje brže oksidira u usporedbi sa hidrogeniziranim uljem i da je proces autooksidacije brži u staklenoj prozirnoj ambalaži nego u PET i metalnoj ambalaži. Stoga se nehidrogenizirana ulja (npr. suncokretovo) moraju čuvati u spremnicima koji nemaju kontakt sa svjetlosti i kisikom iz zraka. Spremnici za ulje trebaju imati inertnu unutarnju površinu kako bi štitila ulje kroz duži vremenski period skladištenja. Također, potrebno je čuvati ulja u tamnoj staklenoj ambalaži koja štiti ulja od utjecaja svjetlosti.

- Tragovi metala

Metali koji se nalaze u ulju su već u vrlo malim količinama (ppm = mg/kg) izraziti prooksidansi. Dovoljno je npr. 0,1 ppm Cu ili 1 ppm Fe da se smanji održivost ulja za više od

pola vremena trajanja. Tragovi metala djeluju kao prooksidansi samo kada su već prisutni hidroperoksidi. Djelovanjem metala na hidroperokside dolazi do oksidacije iona metala, te stvaranja slobodnog radikala.

$$Cu^{+} + ROOH \rightarrow Cu^{++} + OH^{-} + RO^{\cdot}$$

Slobodni radikali nastavljaju dalje lančanu reakciju oksidacije ulja. Svi metali nemaju isto prooksidacijsko djelovanje. Intenzitet djelovanja je u nizu metala slijedeći:

$$Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al$$

Sprječavanje djelovanja metala moguće je njihovom inaktivacijom, dodavanjem kemijskih spojeva koji vežu metale u komplekse, a to su limunska kiselina, askorbinska, fosforna kiselina, lecitin i druga sredstva. Metali se mogu ukloniti i dekoloracijom pomoću aktivne zemlje.

- Pigmenti

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

2.5. METODE ODREĐIVANJA STUPNJA OKSIDACIJE ULJA

Za određivanje stupnja oksidacije ulja koristi se više metoda, ali nijedna metoda pojedinačno ne može dati ukupnu sliku stupnja oksidacijskih promjena. Primjenom više metoda koje daju ukupan sadržaj oksidacijskih promjena možemo dobiti kompletan uvid u stupanj nastalih oksidacijskih promjena (Crapiste i sur., 1999).

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

- Senzorske metode
- Kemijske metode
- Fizikalne metode

- Senzorske metode

Senzorske metode ocjenjivanja stupnja oksidacije zasniva se na određivanju pojave neprijatnog užeglog mirisa i okusa ulja zbog nastanka razgrađenih, sekundarnih produkata oksidacije. Organoleptičko ocjenjivanje biljnih ulja je uz ostale metode važan pokazatelj oksidacijskog stanja ulja iako su brojna istraživanja imala za cilj da senzorske metode

zamjene s nekim bržim i jednostavnijim metodama kao što je plinska kromatografija. Do danas nije pronađena dobra korelacija između senzorske metode i plinske kromatografije (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980).

- Fizikalne metode

U **Tablici 9** prikazane su fizikalne metode i ispitivani parametar za ocjenjivanje stupnja oksidacije ulja i masti.

Tablica 9 Fizikalne metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

Fizikalne metode	Ispitivani parametar
UV - spektrofotometrija	Konjugirani dieni/trieni
IR spektrofotometrija	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
NMR (nukl.magn.rezonanca)	Hidroperoksidi i alkoholi
Fluorescencija	Karbonilni spojevi (malonaldehidi) i ketoni
Plinska kromatografija	Hlapljivi spojevi
HPLC	Malonaldehidi i sekundarni produkti
Indeks refrakcije	Primarni i sekundarni produkti oksidacije
Polarografija	Hidroperoksidi
Kulometrija	Hidroperoksidi
Kromatografija u koloni	Polimeri, polarni spojevi

UV spektrofotometrija je fizikalna metoda koja se zasniva na praćenju zavisnosti apsorbance od valne dužine zračenja koje je prošlo kroz analiziranu otopinu. Produkti oksidacije polinezasićenih masnih kiselina pokazuju karakterističan spektar u ultraljubičastom području. Hidroperoksidi linolne kiseline i konjugirani dieni pokazuju apsorpcijski maksimum na 232 nm. Sekundarni produkti oksidacije kao i konjugirani trieni pokazuju apsorpcijski smaksimum na 270 nm. Odnos ovih vrijednosti izražen kao R vrijednost je dobar podatak za procjenjivanje oksidacijske kvalitete ulja.

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

A_{232} nm – apsorbancija na 232 nm

A_{270} nm – apsorbancija na 270 nm

Ako je R vrijednost niska ulje je lošije kvalitete jer sadrži više konjugiranih triena i sekundarnih produkata oksidacije. Procjenjivanje stupnja oksidacije pomoću R vrijednosti moguće je samo kod sirovih ulja jer se kod rafiniranih ulja tijekom procesa dekolorizacije

djelovanjem aktivne zemlje stvaraju konjugirani trieni koji nisu rezultat oksidacijskih promjena (Dimić i Turkulov, 2000).

Plinska kromatografija se sve češće koristi za praćenje oksidacijskih promjena na nezasićenim masnim kiselinama. Otežana je za praćenje kompleksnih lipidnih sustava, a uspješna je za čista ulja i masti. Koristi se za određivanje hlapljivih spojeva, najčešće aldehida, koji nastaju oksidacijskom razgradnjom ulja (Rade i sur., 2001).

Indeks refrakcije je metoda koja se također može koristiti za praćenje oksidacijskih promjena jer konjugirani dieni hidroperoksida i polimeri povećavaju indeks refrakcije (Rade i sur., 2001).

- Kemijske metode

Tablica 10 Kemijske metode za procjenjivanje stupnja oksidacije ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

Kemijska metoda	Ispitivani parametar
Peroksidni broj (Pbr)	Peroksidi
TBK test (broj)	Malonaldehid
Karbonilni broj	Svi spojevi sa karbonilnom grupom
Anisidinski broj (Abr)	Nehlapljivi karbonilni spojevi
Kreis test	Epoksialdehidi i acetali
Oksidacijska vrijednost (OV) ili totox broj	OV=2Pbr + Abr, ukupni sadržaj primarnih i sekundarnih produkata oksidacije

Određivanje peroksidnog broja je jedna od najstarijih i najčešće primjenjivanih metoda za ispitivanje stupnja oksidacije ulja i masti. Peroksidnim brojem se utvrđuju primarni produkti oksidacije ulja, a to su peroksidi, odnosno hidroperoksidi. Najviše se primjenjuju metode Lea i Wheeler-a. To su jodometrijske metode po kojima se određuje količina joda kojeg iz kalij-jodida oslobode peroksidi sadržani u ulju (Gunstone, 2004). Osim jodometrijskih metoda, može se koristiti i kolorimetrijska metoda koja se temelji na oksidaciji željeza (II) soli u željezo (III) i mijenjanjem nastalog obojenja. Za biljna rafinirana ulja smatra se da su dobre kvalitete ako peroksidni broj ne prelazi 5 mmol O_2/kg dok je za hladno prešana i nerafinirana ulja dozvoljen peroksidni broj do 7 mmol O_2/kg (NN 41/12). Peroksidni broj rafiniranih ulja na kraju procesa dezodorizacije mora biti 0 mmol O_2/kg kako bi se ulje moglo što duže čuvati i skladištiti (Gunstone, 2004).

Anisidinski broj (Abr) pokazuje količinu sekundarnih produkata oksidacije, a bazira se na reakciji viših nezasićenih aldehida sa *p*- anisidinom u kiselom mediju. Ulje dobre kvalitete

trebalo bi imati anisidinski broj manji od 10. Hidroperoksidi su nestabilni i brzo se razgrađuju, osobito pri visokim temperaturama. Njihovom razgradnjom se stvaraju slobodni hlapljivi aldehidi, koji uzrokuju neugodan miris i okus ulja, pa se tijekom dezodorizacije uklanjaju iz ulja, a aldehidi koji ostaju vezani za trigliceride su teže hlapljivi i ostaju u ulju nakon dezodorizacije. Ovi sekundarni produkti oksidacije ukazuju na „oksidacijsku prošlost“ ulja, i što je veći udio znači da je ulje bilo izloženo većoj oksidaciji (Rade i sur., 2001 ; Dimić i Turkulov, 2000).

Totox broj predstavlja oksidacijsku vrijednost ulja koja se izračunava iz vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja. Daje dobar pregled količine primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja.

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

Pbr – peroksidni broj

Abr – anisidinski broj

Tiobarbiturni broj je metoda kod koje se određuje stupanj oksidacijskih promjena na osnovu količine nastalih sekundarnih produkata oksidacije ulja. Temelji se na reakciji tiobarbiturne kiseline i malondialdehida koji se formirao tijekom oksidacijskog cijepanja višestruko nezasićenih masnih kiselina (Gunstone, 2004). Reakcijom tiobarbiturne kiseline i malonaldehida stvara se ružičasta boja čiji se intenzitet mjeri na 532 nm (Rade i sur., 2001).

2.6. ODRŽIVOST ILI OKSIDACIJSKA STABILNOST

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja je vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od autooksidacije. Poznavanje održivosti ulja je izuzetno važno za skladištenje 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 koje je potrebno da uzorak dostigne određenu vrijednost peroksidnog broja.

Tablica 11 Analitičke metode za određivanje održivosti masti i ulja (Dimić i Turkulov, 2000)

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

- Oven test (Schaal oven test)

Oven test je jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za određivanje održivosti ulja. Uzorci ulja se zagrijavaju u termostatu (ili sušioniku) na temperaturi 60 ili 63 °C. U određenim vremenskim razmacima prate se porast peroksidnog broja i senzorske promjene. Rezultati Oven testa mogu se prikazati kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena držanja uzorka (u danima) pri temperaturi od 63 °C (jestiva ulja obično četiri dana),
- broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja,
- vrijeme u danima za koje se pojavi užeglost i utvrdi senzorskim ispitivanjem.

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

- Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)

Kod ovog testa uzorci se zagrijavaju na 98 °C i kroz njih prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci ulja uzimaju se određenim vremenskim razmacima i određuje se peroksidni broj. Održivost ulja se najčešće određuje do peroksidnog broja 5 mmol O_2/kg. Kvalitetna ulja koja su dobre održivosti nakon 8 sati ove metode moraju imati peroksidni broj koji je manji od 5 mmol O_2/kg (Rade i sur., 2001).

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

- Rancimat test

Rancimat testom provodi se ubrzana oksidacija ulja kod točno definiranih uvjeta. Oksidacijska stabilnost određuje se primjenom Rancimat uređaja pri povišenoj temperaturi (100°C, 110°C, 120°C) uz konstantan dovod zraka (npr. 9 L/h). Umjesto određivanja peroksidnog broja, hlapljivi spojevi koji nastaju oksidacijom ulja pri povišenoj temperaturi (kratkolančane hlapljive organske kiseline) uvode se u deioniziranu vodu. Ovi hlapljivi produkti određuju se konduktometrijski sa automatskim registriranjem vodljivosti u funkciji vremena. Mjerenjem porasta vodljivosti indirektno se može pratiti tijek oksidacije ulja. Indukcijski period (IP), određen na ovaj način, označava se kao indeks održivosti ulja pri određenoj temperaturi i protoku zraka (Rade i sur., 2001). Što je vrijeme indukcije dulje u satima, ulje ima bolju održivost odnosno oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja (linolni tip), te utjecaj dodatka pojedinačnog prirodnog antioksidansa (ekstrakta maslinovog lista, ekstrakta zelenoga čaja, ekstrakta ružmarina Oxy´Less® CS) udjela 0,2% i 0,4% i dodatka sintetskog antioksidansa propil galata udjela 0,01% na produženje oksidacijske stabilnosti. Ispitivan je i utjecaj dodatka mješavine dva prirodna antioksidansa (omjera 50:50) udjela 0,2% i 0,4% na promjenu održivosti suncokretovog ulja. Također, i dodatak ispitivanih antioksidanasa na promjenu stabilnosti mješavine suncokretovog i repičinog ulja (80:20). Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja sa ili bez dodanog antioksidansa provedeno je Oven testom (63 °C). Prije određivanja oksidacijske stabilnosti ispitivanog suncokretovog ulja određeni su parametri kvalitete biljnih ulja (peroksidni broj i slobodne masne kiseline) primjenom standardnih metoda.

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Materijali

3.2.1.1. Jestivo suncokretovo ulje

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti koristilo se suncokretovo ulje (linolni tip).

Suncokretovo ulje je rafinirano, pakirano u boci od 1 litre, proizvedeno u Njemačkoj – Vita D`or, uvoznik Lidl Hrvatska d.o.o.



Slika 7 Ambalaža suncokretovog ulja

3.2.1.2. Jestivo repičino ulje

Za ispitivanje oksidacijske stabilnosti mješavine suncokretovog i repičinog ulja omjera 80:20 koristilo se repičino ulje (rafinirano).

Repičino ulje je rafinirano, pakirano u boci od 1 litre, proizvedeno u Njemačkoj – Vita D`or, uvoznik Lidl Hrvatska d.o.o.



Slika 8 Ambalaža repičinog ulja

3.2.1.3. Antioksidansi

Za ispitivanje utjecaja dodatka antioksidansa na produženje oksidacijske stabilnosti suncokretovog i repičinog ulja te njihove mješavine (80:20) korišteni su prirodni antioksidansi: ekstrakt maslinovog lista, ekstrakt zelenoga čaja, ekstrakt ružmarina (Oxy´Less® CS) udjela 0,2% i 0,4% te sintetski antioksidans propil galat udjela 0,01% .

- Ekstrakt maslinovog lista

Ekstrakt maslinovog lista (Olive leaf dry extract) je suhi ekstrakt u praškastoj formulaciji, proizveden iz lista masline (botaničko ime *Olea europaea L.*). U specifikaciji ekstrakta po sastavu sadrži 4,41% DPE, proizvođač je Exxentia, Španjolska.

- Ekstrakt zelenoga čaja

Ekstrakt zelenoga čaja proizveden je iz lišća biljke *Camellia sinesis* L. Udjel epigalokatehin galata (EGGG) je veći od 45%, udjel ukupnih polifenola veći je od 98%, udjel kofeina manji je od 0,5%, udjel katehina veći je od 80%. Ovaj ekstrakt je proizveden u firmi NATUREX (Francuska).

- Ekstrakt ružmarina (Oxy´Less® CS)

Oxy´Less CS je proizveden u firmi NATUREX (Francuska) i to je ekstrakt dobiven od listova ružmarina, koje ima botaničko ime *Romarinus officinalis L.* Specifikacija ekstrakta ružmarina Oxy´Less CS prikazana je u **Tablici 12.**

Tablica 12 Specifikacija ekstrakta ružmarina Oxy´Less® CS

Specifikacija	
Izgled	prah
Boja	bež
Miris	karakterističan
Topivost	disperzan u ulju
Analitički parametri kvalitete	
Udio karnosolne kiseline	18 - 22 %
Zaštitni faktor (PF)	> 12
Suha tvar ekstrakta	92 - 98 %

- Propil galat (PG)

Propil galat (E310) je sintetski antioksidans u praškastoj formulaciji, sivo – bijele boje, bez mirisa, točka tališta 146°C do 150°C i preračunata količina doziranja je 20 do 200 ppm.

3.2.2. Metode rada

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje slobodnih masnih kiselina

Kiselost biljnih ulja nastaje kao rezultat hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima, a izražena je kao udjel (%) slobodnih masnih kiselina. 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 (SMK) izračunat kao oleinska kiselina prema jednadžbi:

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

V = utrošak otopine natrij-hidroksida 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 ulja za ispitivanje (g)

Određivanje peroksidnog broja

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 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 (mmol O_2/kg). Vrijednost peroksidnog broja izračunava se prema jednadžbi:

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

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)

Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Poznavanje oksidacijske stabilnosti (održivosti) biljnih ulja važno je kako bi se unaprijed moglo odrediti vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije, bez bitnih promjena kvalitete.

Schaal oven test

Schaal oven test ili Oven test je jedna od najstarijih metoda za određivanje održivosti ili oksidacijske stabilnosti biljnih ulja. Primjenom ove metode uzorci ispitivanih biljnih ulja se zagrijavaju u termostatu pri temperaturi 63 ^{o}C te se prati porast vrijednosti peroksidnog broja ili senzorske promjene nastale oksidacijskim kvarenjem ulja u određenim vremenskim razmacima. Rezultat oksidacijske stabilnosti ispitivanog suncokretovog ulja sa ili bez dodanog antioksidansa, primjenom ovog testa prikazan je kao vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena provedbe testa (4 dana). Ovaj način ispitivanja je naročito pogodan ako se provodi međusobno uspoređivanje različitih biljnih ulja prema oksidacijskoj stabilnosti ili održivosti. Dobiveni rezultati određivanja održivosti Oven testom daju nam najpribližniji podatak za procjenu stvarne održivosti biljnih ulja. Ustanovljeno je da vrijednost jednog dana održivosti biljnog ulja sa Oven testom (63°C) odgovara stvarnoj održivosti ulja od 6 do12 dana pri sobnoj temperaturi (oko 20 ^{o}C).

3.2.2.2. Priprema uzorka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti

U čašice se izvaže određena količina pojedinačnog antioksidansa, prirodnih antioksidanasa u udjelima od 0,2 i 0,4%, a sintetskog 0,01%, te se izvaže 50 g ulja, promiješa se staklenim štapićem i uz miješanje se zagrijava na temperaturi od 70 do 80 °C. Ta se temperatura održava 30 minuta uz neprestano miješanje. Nakon toga uzorak se hladi na sobnu temperaturu, pokriven satnim stakalcem, a zatim stavlja u termostat (Binder) čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja sa i bez dodanog antioksidansa.

U **Tablicama 13 i 14** su prikazani prirodni i sintetski antioksidansi i udjeli u kojima su dodavani uzorku suncokretovog ulja.

Tablica 13 Udjeli dodanih prirodnih antioksidanasa u suncokretovo ulje

Uzorak	Antioksidans	Udio antioksidansa (% na masu ulja)
Suncokretovo ulje	-	-
Suncokretovo ulje	Ekstrakt zelenog čaja	0,2
		0,4
Suncokretovo ulje	Ekstrakt ružmarina (tip Oxy´Less Cs)	0,2
		0,4
Suncokretovo ulje	Ekstrakt maslinovog lista	0,2
		0,4

Tablica 14 Udio dodanog sintetskog antioksidansa u suncokretovo ulje

Uzorak	Antioksidans	Udio antioksidansa (% na masu ulja)
Suncokretovo ulje	-	-
Suncokretovo ulje	Propil galat (PG)	0,01

3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal oven testom

Određivanje Schaal oven (Oven) testom provedeno je na čistom uzorku suncokretovog ulja (bez dodanog antioksidansa), na uzorku ulja kojem je dodan pojedinačni antioksidans, te mješavini dva prirodna antioksidansa. Pripremljeni uzorci zagrijavani su u termostatu Binderu na temperaturi od 63 °C, uz praćenje porasta peroksidnog broja tijekom četiri dana. Svakih 24 sata se uzorkuju ulja kako bi se odredio stupanj oksidacije preko peroksidnog broja. Prije samog uzorkovanja uzorci ulja se dobro homogeniziraju staklenim štapićem. Nakon homogeniziranja u pripremljene čašice se odlije 3 do 5 grama ulja, a uzorci s uljem ponovno vrate u Binder. Kada temperatura ulja dostigne sobnu temperaturu određuje se peroksidni broj radi određivanja stupnja oksidacijskog kvarenja.

Rezultati Oven testa prikazani su 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 15 Početne kemijske karakteristike suncokretovog i repičinog ulja

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

SMK – slobodne masne kiseline (%)
Pbr – peroksidni broj (mmol O_2/kg)

Tablica 16 Utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja

UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Suncokretovo ulje	-	0,44	1,72	4,87	9,80	17,02
Ekstrakt zelenog čaja	0,2%	0,44	1,50	3,42	5,54	7,69
	0,4%		1,45	2,88	4,25	6,69
Ekstrakt ružmarina (Oxy` Less CS)	0,2%	0,44	1,22	2,44	3,41	3,90
	0,4%		1,22	1,94	2,71	3,78
Ekstrakt maslinovog lista	0,2%	0,44	1,47	4,70	9,70	14,70
	0,4%		1,47	4,90	11	15,84
PG	0,01%	0,44	1,45	3,18	3,96	6,46

PG – propil galat (sintetski antioksidans)
Pbr – peroksidni broj (mmol O_2/kg)

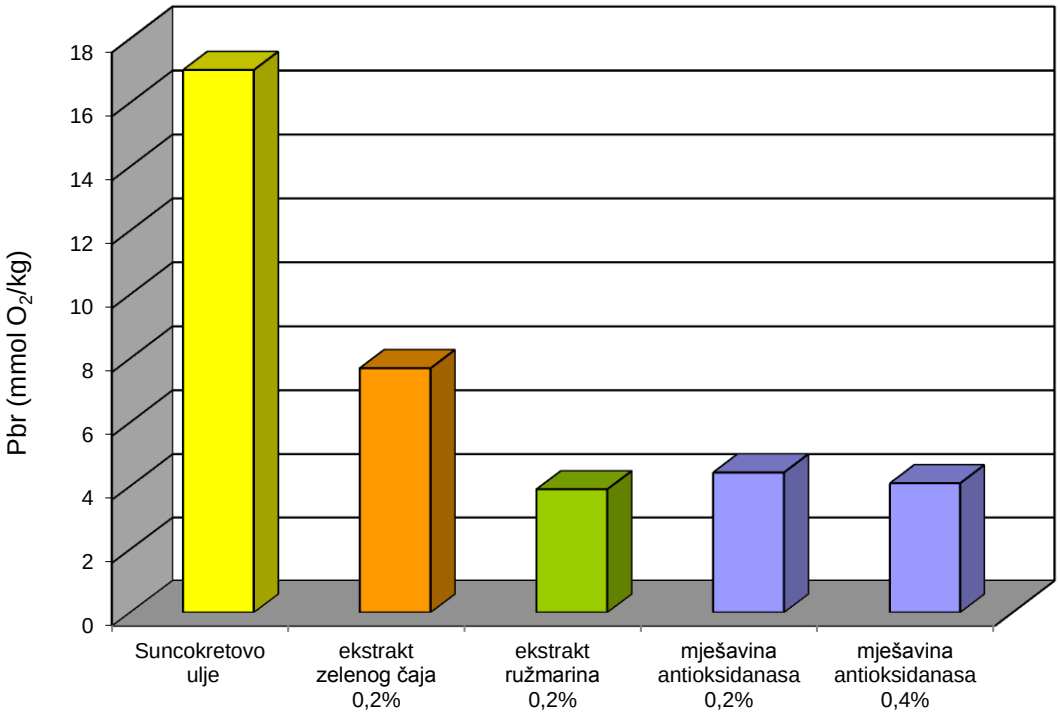
Tablica 17 Utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa (udjela 0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja

UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Suncokretovo ulje	-	0,44	1,72	4,87	9,80	17,02
Ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt ružmarina (Oxy` Less CS) (50:50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,44	1,69	2,95	2,99	4,43
	0,4% (0,2% + 0,2%)		1,45	2,67	2,68	4,09
Ekstrakt zelenog čaja + ekstrakt maslinovog lista (50:50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,44	1,72	5,12	8,95	12,08
	0,4% (0,2% + 0,2%)		1,71	4,90	8,85	11,60
Ekstrakt ružmarina (Oxy` Less CS) + ekstrakt maslinovog lista (50:50)	0,2% (0,1% + 0,1%)	0,44	1,47	3,41	3,96	4,83
	0,4% (0,2% + 0,2%)		1,46	3,24	3,47	4,73

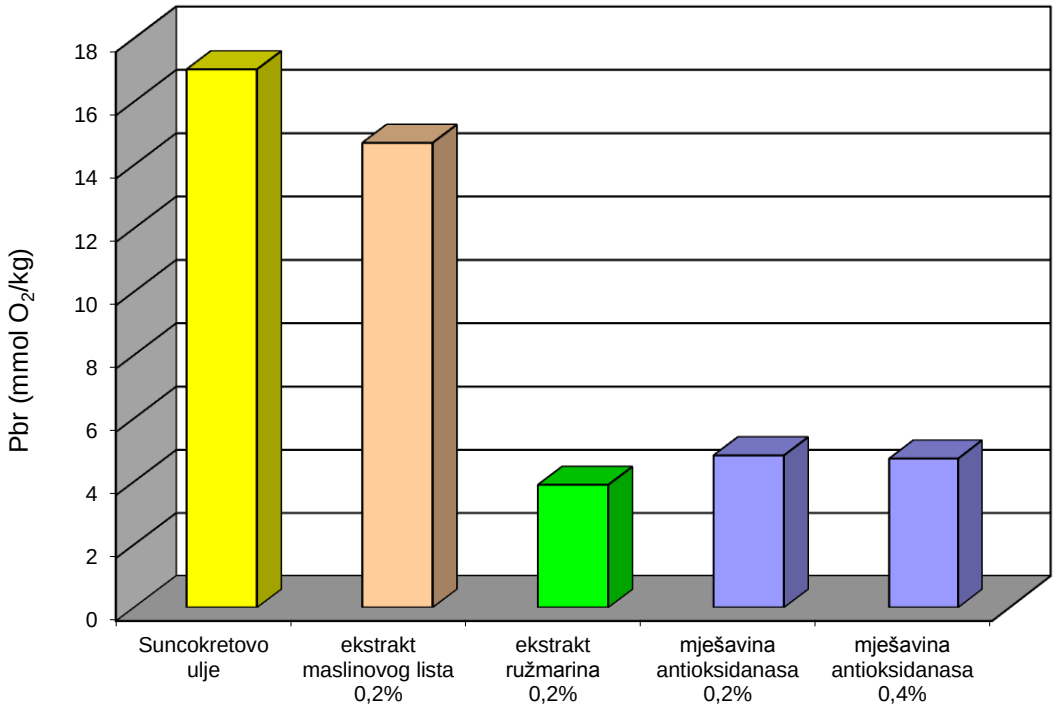
Tablica 18 Utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost mješavine suncokretovog ulja i repičinog ulja (80:20)

UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O_2 / kg)				
		0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Suncokretovo ulje	-	0,44	1,72	4,87	9,80	17,02
Repičino ulje	-	0,46	0,86	1,23	1,91	5,97
Mješavina ulja SUN : REP (80:20)	-	0,44	1,45	2,45	7,96	15,68
Ekstrakt zelenog čaja	0,2%	0,44	1,38	2,24	6,90	9,27
	0,4%		1,24	1,98	5,91	7,39
Ekstrakt ružmarina (Oxy` Less CS)	0,2%	0,44	1,30	1,72	3,85	3,98
	0,4%		1,20	1,47	3,43	3,47
Ekstrakt maslinovog lista	0,2%	0,44	1,33	2,37	7,47	16,5
	0,4%		1,31	2,42	7,73	17,15
PG	0,01%	0,44	1,23	2,22	4,93	7,39

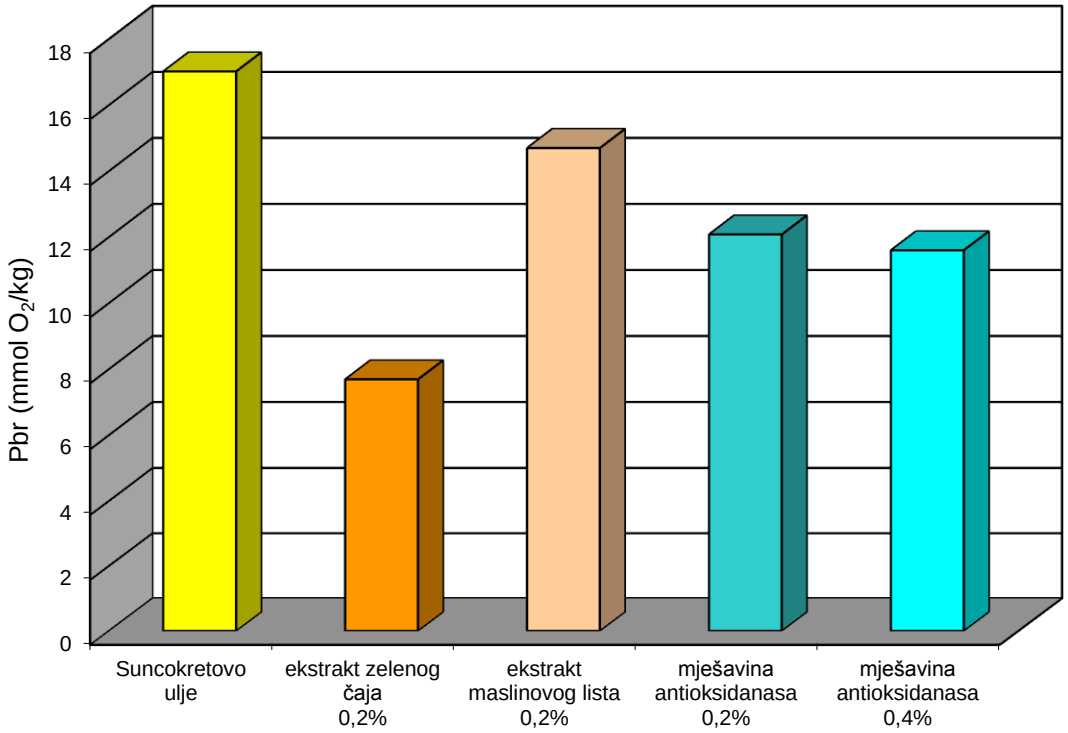
PG – propil galat (sintetski antioksidans)
SUN – rafinirano suncokretovo ulje
REP – rafinirano repičino ulje
Pbr – peroksidni broj, mmol O_2 / kg



Slika 9 Utjecaj dodatka ekstrakta zelenog čaja (0,2%), ekstrakta ružmarina OxyLess CS (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa.



Slika 10 Utjecaj dodatka ekstrakta maslinovog lista (0,2%), ekstrakta ružmarina OxyLess CS (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa.



Slika 11 Utjecaj dodatka ekstrakta zelenog čaja (0,2%), ekstrakta maslinovog lista (0,2%) te njihovih mješavina (0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa.

5. RASPRAVA

Početne kemijske karakteristike (peroksidni broj, slobodne masne kiseline) rafiniranog suncokretovog ulja (linolni tip) i rafiniranog repičinog ulja prikazane su u **Tablici 15.** Izračunate vrijednosti ovih osnovnih parametara kvalitete ispitivanih ulja ukazuju da su ulja dobre kvalitete jer su dobivene vrijednosti u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 41/2012.).

U **Tablici 16** prikazani su rezultati ispitivanja utjecaja dodatka prirodnih antioksidanasa (ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta maslinovog lista, ekstrakta ružmarina – Oxy Less CS) i sintetskog antioksidansa (propil galata) na promjenu oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja. Prirodni antioksidansi dodani su u koncentraciji 0,2% i 0,4%, a sintetski 0,01%. Ispitivanjem oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja bez dodatka antioksidansa (kontrolni uzorak) primjenom Schaal Oven testa pri 63°C uočava se porast vrijednosti peroksidnog broja (Pbr) tijekom 4 dana testa. Nakon 4 dana testa dobivena je visoka vrijednost Pbr 17,02 (mmol O_2/kg) što ukazuje na manju održivost, tj. otpornost ovog ulja prema oksidacijskom kvarenju. Razlog tome je visoki udio polinezasićene linolne masne kiseline u suncokretovom ulju (do 75%).

Dodatkom pojedinačnih ispitivanih antioksidanasa u suncokretovo ulje došlo je do porasta održivosti ulja tj. oksidacijske stabilnosti. Veća stabilnost ovog ulja, otpornost prema oksidacijskom kvarenju postignuta je dodatkom ekstrakta ružmarina Oxy Less CS u udjelima 0,2% i 0,4% u odnosu na primjenu drugih ispitivanih antioksidanasa. Tako je nakon 4 dana testa dobivena vrijednost Pbr 3,90 (mmol O_2/kg) dodatkom Oxy Less CS 0,2% i 3,78 (mmol O_2/kg) dodatkom 0,4%. Ovi rezultati ukazuju na značajnu efikasnost zaštite ovog ulja od oksidacijskog kvarenja primjenom ovog prirodnog antioksidansa ekstrakta ružmarina. Dodatkom ekstrakta zelenog čaja (0,2% i 0,4%) te sintetskog antioksidansa propil galata (PG) (0,01%) u suncokretovo ulje postignuta je podjednaka efikasnost zaštite ovog ulja od oksidacijskog kvarenja. Nakon 4 dana ovog testa dobivene su podjednake vrijednosti Pbr, pri čemu je malo veća stabilnost ostvarena primjenom PG (malo niži Pbr). Primjena prirodnog antioksidansa ekstrakta maslinovog lista kod koncentracije 0,2% i 0,4%, rezultira neznatnim porastom održivosti ulja, nakon 4 dana testa dobiven je Pbr 14,70 i 15,84 (mmol O_2/kg) u odnosu na stabilnost suncokretovog ulja bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak).

Utjecaj dodatka mješavine prirodnih antioksidanasa (udjela 0,2% i 0,4%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja prikazan je u **Tablici 17.** Nakon 4 dana provedbe testa suncokretovo ulje bez dodanog antioksidansa ima vrijednost Pbr 17,02 (mmol O_2/kg). Ovako visoka vrijednost PBr ukazuje na slabiju oksidacijsku stabilnost ovog ulja. Primjenom ispitivanih mješavina prirodnih antioksidanasa (ekstrakt zelenog čaja – ekstrakt ružmarina Oxy Less CS, ekstrakt zelenog čaja – ekstrakt maslinovog lista, ekstrakt ružmarina Oxy Less CS – ekstrakt maslinovog lista u udjelima 50:50) postignuta je veća stabilnost tj. otpornost

suncokretovog ulja prema oksidacijskom kvarenju u odnosu na kontrolni uzorak (ulje bez dodanog antioksidansa). Rezultati testa u **Tablici 17** pokazuju da se mješavinom ekstrakta zelenog čaja i ružmarina Oxy Less CS postiže veća efikasnost zaštite suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja, nakon 4 dana testa dobivena je manja vrijednost Pbr u odnosu na primjenu drugih ispitivanih mješavina antioksidanasa.

Na **Slici 9** vidljivi su rezultati usporedbe dodatka pojedinačnog prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja (0,2%), ekstrakta ružmarina Oxy Less CS (0,2%) te njihove mješavine (0,2% i 0,4%) na promjenu stabilnosti suncokretovog ulja. Zapaža se da primjena ekstrakta ružmarina bolje štiti ovo ulje od oksidacijskog kvarenja, niži je Pbr (3,90 mmol O_2/kg) nakon 4 dana testa. Također dodatkom mješavine ekstrakta ružmarina i maslinovog lista (0,2% i 0,4%) postignuta je značajna zaštita suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja. Nakon 4 dana testa vrijednost Pbr je niska (4,83 mmol O_2/kg i 4,73 mmol O_2/kg) te je unutar maksimalne granice prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 41/12). Na **Slici 10** vidljivo je da se primjenom pojedinačnog ekstrakta ružmarina (0,2%) postiže bolja efikasnost zaštite od oksidacije ovog ulja u odnosu na primjenu ove mješavine antioksidanasa. Primjenom mješavine antioksidanasa ekstrakta zelenog čaja i ekstrakta maslinovog lista postiže se slabija zaštita suncokretovog ulja (veće vrijednosti Pbr) u odnosu na primjenu druge dvije mješavine antioksidanasa.
Na **Slici 11** vidljivo je da pojedinačni antioksidans ekstrakt zelenog čaja (0,2%) osigurava veću zaštitu ovog ulja u odnosu na njegovu primjenu u mješavini s ekstraktom maslinovog lista gdje je znatno veća vrijednost Pbr nakon 4 dana testa.

Na osnovu rezultata ovog ispitivanja zaključuje se da primjena pojedinačnog prirodnog antioksidansa pruža veću zaštitu suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na ispitivane njihove mješavine. Također, zapaženo je da dodatak većeg udjela mješavine antioksidanasa (0,4%) pruža bolju zaštitu od oksidacije ulja u odnosu na dodatak 0,2%.

Utjecaj dodatka prirodnog i sintetskog antioksidansa na oksidacijsku stabilnost mješavine suncokretovog i repičinog ulja (80:20) prikazan je u **Tablici 18.** Iz dobivenih rezultata vidljivo je da repičino ulje ima bolju stabilnost prema oksidacijskom kvarenju (manji Pbr nakon 4 dana testa) u odnosu na suncokretovo ulje. Dodatkom stabilnijeg repičinog ulja 20% u suncokretovo ulje dobivena je stabilnija mješavina ovih ulja, dakle povećana je otpornost prema oksidaciji pri čemu je Pbr nakon 4 dana testa 15,68 (mmol O_2/kg).

Dodatkom prirodnog antioksidansa ekstrakta zelenog čaja (0,2% i 0,4%) i ekstrakta ružmarina (0,2% i 0,4%) u ovu mješavinu ulja postiže se porast stabilnosti prema oksidacijskom kvarenju. Međutim, dodatak ekstrakta maslinovog lista (0,2% i 0,4%) u ovu mješavinu ulja ne dovodi do zaštite ulja od oksidacije već suprotno, ubrzana je oksidacija

ulja. Dakle nakon 4 dana testa Pbr ima veću vrijednost u odnosu na Pbr mješavine ovih ulja bez dodanog antioksidansa.

Dodatkom sintetskog antioksidansa propil galata (PG) u udjelu 0,01% u ovu mješavinu ulja postignuta je razina efikasnosti zaštite ulja kao i dodatkom ekstrakta zelenog čaja (0,4%), vrijednost Pbr nakon 4 dana testa je 7,39 (mmol O_2/kg).

6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja dobiveni su sljedeći zaključci:

1. Uzorci suncokretovog ulja sa i bez dodanog antioksidansa pokazuju porast peroksidnog broja tijekom četiri dana provedbe Schaal Oven testa.
2. Suncokretovo ulje nakon 4 dana testa ima visok peroksidni broj što ukazuje na manju održivost ulja prema oksidacijskom kvarenju.
3. Dodatkom pojedinačnih ispitivanih antioksidanasa došlo je do porasta oksidacijske stabilnosti suncokretovog ulja.
4. Ekstrakt ružmarina Oxy Less CS pokazuje veću efikasnost zaštite suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na primjenu ekstrakta zelenog čaja, ekstrakta maslinovog lista, njihovih mješavina i propila galata.
5. Dodatak ekstrakta zelenog čaja (0,4%) i propil galata (0,01%) postigao je podjednaku efikasnost zaštite ovog ulja od oksidacije.
6. Primjena ekstrakta maslinovog lista (0,2% i 0,4%) rezultira neznatnim porastom održivosti suncokretovog ulja.
7. Dodatak mješavine antioksidanasa, ekstrakta zelenog čaja i ružmarina u omjeru 50:50 efikasnije štiti suncokretovo ulje od oksidacije u odnosu na primjenu drugih ispitivanih mješavina.
8. Značajna zaštita od oksidacije postiže se i primjenom mješavina ekstrakta ružmarina i maslinovog lista (50:50).
9. Primjenom mješavine ekstrakta zelenog čaja i maslinovog lista (50:50) postiže se slabija zaštita suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja.
10. Dodatkom repičinog ulja (20%) u suncokretovo ulje dobiva se mješavina ulja veće stabilnosti (održivosti).
11. Kod stabilizacije ovakve mješavine ulja znatno veća efikasnost zaštite postiže se primjenom ekstrakta ružmarina u odnosu na druge ispitivane antioksidanse.
12. Dodatak većeg udjela (0,4%) ispitivanog pojedinačnog antioksidansa (osim ekstrakta maslinovog lista), kao i mješavine antioksidanasa, pruža veću zaštitu suncokretovog ulja od oksidacijskog kvarenja u odnosu na dodatak 0,2%.

7. LITERATURA

Abramović, H., Abram, H.: Effect of added rosemary extract on oxidative stability of *Camelina sativa* oil. Acta agriculturae Slovenica 87 (2): 255-261., 2006.

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.

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 concetrations*. Epidemiologic studies, Am.J.Clin.Nutr.,65 (suppl), 1597S-1610S, 1997.

Chang SS, Peterson RJ, Ho C: J. Am. Oil Chem. Soc., 55, 718, 1978.

Crapiste GH, Brevedan MIV, Carelli AA: *Oxidation of Sunflower Oil during Storage*. J. Am. Oil Chem. Soc., 76, 1437-1443, 1999.

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

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

Domokos J, Kiss B: Néhány *szempont a szőlőfeldolgozás melléktermékeinek hasznosításához*, Olaj Szappan Kozmetika, 51 (3): 113-115 , 2002.

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

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 Technology 110 (6): 587-592, 2008.

Farhoosh, R., Einafshar, S., Sharayei, P.: The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. Food Chemistry 115: 933-938, 2009.

Frega N., Mozzon M., Lercker G.: Effect of Free Fatty Acids on Oxidative stability of Vegetable oil. J Am Oil Chem Soc76 (3): 325-329, 1999.

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

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

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

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.

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

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

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

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

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

Marcone M: *Analytical Techniques in Food Biochemistry. In Food Biochemistry and Food Processing*. Blackwell Publishing, USA, 2006.

Martin-Polvillo, M., Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, M.C.: Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. Journal of the American Oil Chemists Society 81: 577-583, 2004.

McMurry J: *Organic Chemistry*, Seventh Edition. Cornell University, 2008.

Merill LI, Pike OA, Ogden LV, Dunn ML: *Oxidative Stability of Conventional and High-Oleic Vegetable Oils With Added Antioxidants*. J. Am. Oil Chem. Soc., 85, 771-776, 2008.

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

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

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

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 ^{o}C. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 26 (3): 205-209, 1993.

Rac M*: Ulja i masti*. Privredni preged, Beograd, 1964.

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

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

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

Sabliov CM, Fronczek C, Astete CE, Khachaturyan L, Leonardi C: *Effects of Temperature and UV Light on Degradation of α-Tocopherol in Free and Dissolved Form*. J. Am. Oil Chem. Soc., 86, 895-902, 2009.

Shahidi F, Zhong Y: *Antioksidants: 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, Champaign, Illinois, 1997.

Shahidi F: *Quality Assurance Of Fats and Oils*. In F. Shahidi: Bailey´s Industrial Oil and Fats Products. Newfoundland, Canada, 2005.

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

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

Škevin D: *Utjecaj prirodnih antioksidanasa na održivost i svojstva djevičanskog maslinovog ulja sorte oblica i buharica*. Doktorski rad, Prehrambeno-tehnolopki fakultet u Zagrebu, str. 38, 2003.

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

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

Wijerante SKS, Amarowicz R, Shahidi F: *Antioxidant Activity of almonds and Their By-products in Food Model Systems*. J. Am. Oil Chem. Soc., 83, 223-230, 2006.

Yanishlieva NV, Marinova EM: *Stabilization of edible oils with nature antioxidants*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., 103, 2001.