

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

**Anamaria Banovac**

**UTJECAJ DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA RAZLIČITE  
KONCENTRACIJE NA OKSIDACIJSKU STABILNOST SUNCOKRETOVOG  
ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, listopad 2017.

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

**Diplomski sveučilišni studij prehrambeno inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnologija ulja i masti  
**Tema rada** je prihvaćena na 11 redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini (npr. 2016./2017.) održanoj 25. rujna 2017.  
**Mentor:** prof.dr.sc. Tihomir Moslavac  
**Pomoć pri izradi:** *Daniela Paulik, kemijski tehničar*

**UTJECAJ DODATKA PRIRODNIH ANTIOKSIDANASA RAZLIČITE KONCENTRACIJE NA OKSIDACIJSKU STABILNOST SUNCOKRETOVOG ULJA**

*Anamaria Banovac, 376-DI*

**Sažetak:** Oksidacija lipida je jedan od osnovnih problema tijekom procesiranja i skladištenja jestivih biljnih ulja. Oksidacija u jestivim biljnim uljima uzrokuje promjenu kemijskih, senzorskih i nutritivnih svojstava. U ovom radu istražen je utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa ekstrakta ružmarina (OxyLess®.CS), mješavine tokoferola (15%  $\alpha$ -tokoferol, 5%  $\beta$ -tokoferol, 55-75%  $\gamma$ -tokoferol i 20-30%  $\delta$ -tokoferol) i  $\alpha$ -tokoferola u udjelima 0,05%, 0,10% i 0,15% na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog suncokretovog ulja. Utjecaj antioksidanasa i određivanje oksidacijske stabilnosti ulja provedeno je testom ubrzane oksidacije ulja Oven testom (63°C). Primjena ekstrakta ružmarina OxyLess CS pokazala je bolju zaštitu suncokretovog ulja od oksidacije, dok je  $\alpha$ -tokoferol i mješavina tokoferola postigla podjednaku efikasnost. Suncokretovo ulje je skladišteno dva mjeseca pri povišenoj temperaturi uz dodatak antioksidanasa. Skladištenjem hladno prešanog ulja suncokreta dolazi do smanjenja vrijednosti Pbr primjenom ekstrakta ružmarina. Rezultat oksidacije ulja tijekom 4 dana trajanja testa i tijekom 2 mjeseca skladištenja izražen je peroksidnim brojem.

**Ključne riječi:** suncokretovo ulje, oksidacijska stabilnost, antioksidansi, skladištenje

**Rad sadrži:** 48 stranica  
9 slika  
8 tablica  
22 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

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

**Datum obrane:** 13. listopada, 2017.

**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 JurajStrossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Food Technologies  
Subdepartment of Technology of Oils and Fats  
FranjeKuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food technology

**Course title:** Technology of Oils and Fats

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food TechnologyOsijekCouncilat its session no. (...) held on September 25, 2017.

**Mentor:** associate prof. TihomirMoslavac, PhD prof.

**Technical assistance:** *Daniela Paulik, chemical technician*

### THE INFLUENCE OF NATURAL ANTIOXYDANS OF DIFFERENT CONCENTRACIONS ON THE OXIDATION STABILITY OF SUNFLOWER OIL

*Anamaria Banovac, 376-DI*

**Summary:** Lipid oxidation is one of the main problems during processing and storing of edible vegetable oils. Oxidation in edible vegetable oils causes a change in chemical, sensory and nutritional units. In this study the research was about the effect of additives of natural antioxidants of rosemary extract (OxyLess®.CS), mix of tocopherol ( min. 95%  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol and  $\delta$ -tocopherol) and  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) 0,05%, 0,10% and 0,15% on the oxidation stability of the sun-dried chilled sunflower oil. Influence of antioxidant and determination of oxidative stability of sunflower oil was carried out by accelerated oxidation test oil Oven test (63°C). The use of Oxy Less CS rosemary extract, showed much better result at sunflower oil protection from oxidation, while  $\alpha$ -tocopherol and a mixture of tocopherols achieved the same efficiency. Sunflower oil was stored for two months with the addition of antioxidants. Storage of cold pressed sunflower oil turns up to be decreasing it's value of Pbr. The result of oil oxidation during the 4 days long test an during 2 months of storing is expressed by the peroxide number.

**Key words:** sunflower oil, oxidative stability, antioxidants, storage

**Thesis contains:** 48 pages  
9 figures  
8 tables  
22 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |                                |              |
|--------------------------------|--------------|
| 1. Vedran Slačanac, PhD prof.  | chair person |
| 2. Tihomir Moslavac, PhD prof. | supervisor   |
| 3. Stela Jokić, PhD prof.      | member       |
| 4. Jurislav Babić, PhD prof.   | stand-in     |

**Defense date:** November 13, 2017.

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

Zahvaljujem mentoru prof.dr.sc. Tihomiru Moslavcu na pomoći pri izboru teme i savjetima prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela te na uputama tijekom pisanja diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojim roditeljima, bratu, sestri, dedi, baki, teti i svim prijateljima na podršci i razumijevanju tijekom školovanja.

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. JESTIVA BILJNA ULJA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>9</b>
2.2.1. Suncokretovo ulje.....	9
<b>2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>14</b>
2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi.....	14
2.3.2. Kemijski procesi.....	15
<b>2.4. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA</b> .....	<b>17</b>
2.4.1. Antioksidansi.....	18
2.4.2. Sinergisti.....	19
2.4.3. Prooksidansi.....	20
<b>2.5. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA</b> .....	<b>20</b>
2.5.1. Schaal-Oven test (Oven test).....	21
2.5.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method).....	21
2.5.3. Rancimat test.....	21
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1. ZADATAK</b> .....	<b>244</b>
<b>3.2. MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>24</b>
3.2.1. Materijali.....	24
3.2.1.1. Suncokretovo ulje.....	24
3.2.1.2. Antioksidansi.....	24
3.2.2. Metode rada.....	25
3.2.2.1. Priprema uzorka za analizu.....	25
3.2.2.2. Fizikalno-kemijske metode.....	27
3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti.....	29
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>30</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>34</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>37</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>39</b>

### Popis oznaka, kratica i simbola

AH	Antioksidans
AOM	ActiveOxygenMethod
BHA	Butilhidroksianisol
BHT	Butilhidroksitoluen
HOO*	Radikal vodikovog peroksida
NMK	Nezasićene masne kiseline
OG	Oktilgalat
Pbr	Peroksidni broj
PG	Propilgalat
RH	Masne kiseline
R-R, ROOR	Polimeri
R*, RO*	Slobodni radikali
ROO*	Radikal peroksida
ROOH	Hidroperoksid
SMK	Slobodne masne kiseline
THC	Delta-9-tetrahidrokanabinol
ZMK	Zasićene masne kiseline

## **1. UVOD**

Ulja i masti koriste se u prehrani još od prehistorijskog doba budući da se lako izoliraju iz njihovog izvora. Stabilnost biljnih ulja tijekom skladištenja ovisi o nekoliko čimbenika kao što su stupanj nezasićenosti, priroda nezasićenosti (pozicija dvostruke veze), sadržaj antioksidanasa, sadržaj metala, enzima, uvjeti skladištenja (izloženost svjetlu, toplini, kisiku, vlazi). Oksidacijska stabilnost je jedno od najvažnijih svojstava biljnih ulja. Oksidacijom nastaju peroksidi koji su vrlo nestabilni i lako se razgrađuju te nastaju aldehidi, ketoni, alkoholi, ugljikovodici i kiseline koji mijenjaju okus i aromu hrane. Na osnovu oksidacijske stabilnosti (održivosti) ulja procjenjuje se kvaliteta biljnih ulja te njihov utjecaj na zdravlje ljudi.

Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja je važno kako bi se moglo unaprijed utvrditi vrijeme za koje se ulje može sačuvati od jače izražene oksidacije te za određivanje roka upotrebe ulja. Metode koje se najčešće primjenjuju za određivanje oksidacijske stabilnosti (održivosti) ulja su: Oven test, Rancimat test, Swift test, i Test održivosti pri 98°C.

Sprječavanje oksidacije lipida u uljima u prehrani je glavni fokus istraživanja lipida. Dodatak antioksidanasa jedan je od učinkovitih načina za usporavanje oksidacije lipida. Za oksidacijsku stabilizaciju biljnih ulja primjenjuju se prirodni i sintetski antioksidansi, od čega se više preferiraju prirodni antioksidansi.

Zadatak ovoga rada bio je ispitati oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja te utjecaj dodataka prirodnih antioksidanasa na promjenu stabilnosti ulja.

Prirodni antioksidansi korišteni prilikom eksperimentalnog izvođenja rada su ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS,  $\alpha$ -tokoferol i mješavina tokoferola.

Praćenje oksidacijske stabilnosti kao i utjecaja dodataka prirodnih antioksidanasa na stabilnost suncokretovog ulja provedeno je Oven testom.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. JESTIVA BILJNA ULJA

Masti i ulja su u vodi netopljive tvari biljnog i životinjskog podrijetla, a topljive su u organskom otapalu. Sadrže estere masnih kiselina i alkohola glicerola te se najčešće nazivaju trigliceridi ili triacilgliceroli. Biljna ulja su na sobnoj temperaturi u tekućem agregatnom stanju jer sadrže više nezasićenih masnih kiselina za razliku od masti. Osim masnih kiselina ulja sadrže vrijedne sastojke kao što su vitamini, provitamini, lecitin, steroli i flavonoidi i dr. Nositelj okusa i mirisa u uljima su alkoholi, aldehidi, ketoni, ugljikovodici, esteri, slobodne masne kiseline prirodnog porijekla ili su nastali tijekom tehnološkog procesa. Produkti razgradnje proteina i ugljikohidrata koji nastaju tijekom postupka oplemenjivanja ulja i komponente prirodnog porijekla (npr. klorofil, karoten) daju boju biljnim uljima.

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

- Jednostavni lipidi,
- Složeni konjugirani lipidi,
- Derivati lipida.

**Jednostavni lipidi**, često nazivani neutralni 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 su kondenzacijski proizvodi jedne molekule alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina. Masne kiseline su reaktivni dio molekule triacilglicerola pa imaju veliki utjecaj na kemijska i fizikalna svojstva (Swern, 1972.).

**Složeni konjugirani lipidi**, osim masnih kiselina i glicerola sadrže još i negliceridne sastojke. Nazivaju se još i polarni lipidi. Ova skupina lipida obuhvaća fosfolipide, glikolipide, lipoproteine, aminolipide i dr.. Negliceridni sastojci u prirodnim uljima su fosfatidi, karoteni, liposolubilni vitamini (A, D, E, K), tokoferoli, steroli, pigmenti, voskovi, glikozidi, ugljikovodici, masni alkoholi, aldehidi, ketoni i tragovi metala. Poželjni negliceridni sastojci u uljima su liposolubilni vitamini i karoteni, a nepoželjni negliceridni sastojci u uljima su voskovi, tragovi metala i fosfatidi jer smanjuju kvalitetu ulja i moraju se što je više moguće ukloniti tijekom

faza procesa rafinacije ulja. Udio negliceridnih sastojaka u prirodnim uljima je 1 do 2% izuzetak su sojino i pamukovo ulje i do 3,5% (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.).

**Derivati lipida** su spojevi dobiveni hidrolizom jednostavnih i složenih lipida. U derivate lipida ubrajaju se masne kiseline, alkohol (steroli), ugljikovodici (karoteni), vitamin D, vitamin E, vitamin K.

Masne kiseline se razlikuju po:

- broju ugljikovih atoma u molekuli,
- nezasićenosti ugljikovih atoma,
- broju i
- položaju dvostrukih veza.

S obzirom na broj ugljikovih atoma u molekuli 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).

S obzirom na stupanj nezasićenosti masne kiseline dijele se na:

- zasićene masne kiseline
- nezasićene masne kiseline.

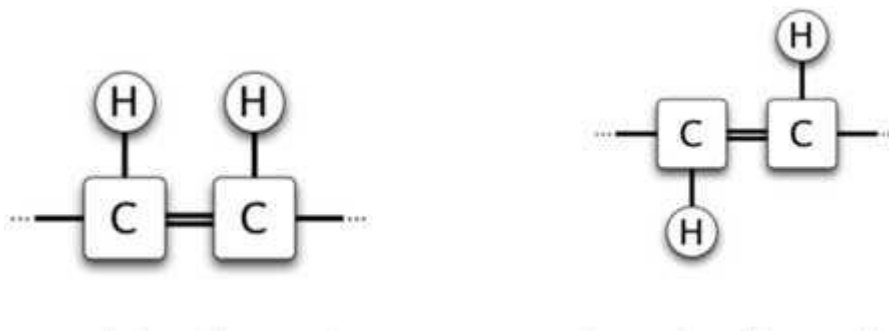
Masne kiseline imaju ravan ili razgranat lanac, a dužina lanca, stupanj nezasićenosti i razgranatost utječe na fizikalna svojstva masnih kiselina.

**Zasićene masne kiseline (ZMK)** su masne kiseline koje u molekuli ne sadrže dvostruke veze niti druge funkcionalne grupe duž lanca. Opća formula je  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ . Prirodna ulja i masti su obično građena od 4 do 22 ugljikova atoma u lancu (obično imaju paran broj). Masne kiseline sa 24 i 26 C atoma dolaze u voskovima, dok ZMK s neparnim brojem C atoma dolaze u prirodnim mastima u tragovima. Najvažnije zasićene masne kiseline su laurinska, miristimska, palmitinska i stearinska masna kiselina.

**Nezasićene masne kiseline (NMK)** su masne kiseline koje u molekuli imaju jednu ili više dvostrukih veza. Biljne i animalne masti najčešće sadrže 18 C atoma s jednom, dvije ili tri



cis oblik, čime se može objasniti stvaranje transizomera tijekom termičkog tretmana procesa rafinacije.



**Slika 2.** Cis i trans oblik nezasićene dvostruke veze

Dvostruke veze mogu biti:

- izolirane gdje su dvostruke veze razdvojene s jednim ili više metilenskih (-CH<sub>2</sub>) grupa
- konjugirane gdje su dvostruke veze u susjednom položaju

Mononezasićene masne kiseline imaju samo jednu dvostruku vezu i pripadaju u skupinu najmanje reaktivnih masnih kiselina. Oleinska masna kiselina je glavna mononezasićena masna kiselina koja dolazi u cis konfiguraciji, a zastupljena je u maslinovom, palminom i repičinom ulju i drugim uljima (O'Brian, 2004.).

Najvažnije polinezasićene masne kiseline su linolna (dvije dvostruke veze), linolenska (tri dvostruke veze) i arahidonska (četiri dvostruke veze). Najčešće nezasićene masne kiseline prikazane su u **Tablici 1.**

**Tablica 1** Najčešće masne kiseline

ZASIĆENE MASNE KISELINE		
Broj C atoma: (=)* veza	Naziv masne kiseline	Strukturna formula
12:0	Laurinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
14:0	Miristinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
16:0	Palmitinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
18:0	Sterainska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
NEZASIĆENE MASNE KISELINE		
16:1	Palmitoleinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18:1	Oleinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18:2	Linolna	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_3\text{COO}$

(=)\* dvostruka veza

Esencijalne masne kiseline pripadaju grupi polinezasićenih masnih kiselina koje imaju 18, 20 i 22 ugljikova atoma sa dvije do šest dvostrukih veza u cis konfiguraciji u lancu masnih kiselina. Esencijalne masne kiseline se ne mogu sintetizirati u organizmu pa ih je potrebno unositi hranom. Ljudskom organizmu nužne su dvije nezasićene masne kiseline linolna i linolenska. Linolna kiselina se naziva omega-6masna kiselina, a linolenska kiselina omega-3masna kiselina. Enzimskim reakcijama u organizmu one se konvertiraju u višestruko nezasićene masne kiseline duljih lanaca (dolazi do uvođenja novih dvostrukih veza). Pomoću EMK stvaraju se spojevi kao što su prostaglandin, leukotrien, tromboksani (Mandić, 2003.). EMK pomažu pravilnom radu stanica i funkciji organa, iz njih nastaju spojevi slični hormonima koji upravljaju životnim funkcijama (regulacija krvnog tlaka, zgrušavanje krvi), utječu na imunološko stanje i dr. funkcije.

## 2.2. PODJELA I SVOJSTVA BILJNIH ULJA

U svijetu se za proizvodnju biljnih ulja upotrebljava više od 20 vrsta biljaka, no samo 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.

Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: maslinovo ulje, palmينو ulje, avokado...

Ulja i masti iz sjemena i ploda prema dominirajućim masnim kiselinama

- laurinske masti i ulja (kokos, palmine koštice...)
- masti palmitinske i stearinske kiseline (kacao maslac, shea maslac...)
- ulje palmitinske kiseline (palmينو ulje, pamukovo ulje...)
- ulje oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranika, kukuruzne klice, koštice buče, repica...)
- ulje linoleinske kiseline (lan, soja, konoplja, Camelinasativa i ostalih).

Ulja prema porijeklu biljke:

- ulja iz leguminoza (kikiriki, soja...)
- ulja krstašica (repica, slačica-senf) (Volmut, 2010.).

### 2.2.1. Suncokretovo ulje

Suncokret je jedna od najznačajnijih sirovina za proizvodnju ulja, porijeklom je iz Sjeverne Amerike. Suncokret su uzgajali Indijci i koristili ga u prehrani, kasnije kao lijek i za bojenje. Španjolski osvajači su suncokret donijeli u Europu početkom 16. stoljeća i bio je omiljena ukrasna biljka. U Engleskoj 1716. godine suncokret je odobren kao sirovina za dobivanje ulja. Komercijalnu proizvodnju suncokreta su započeli ruski seljaci koji su shvatili vrijednost suncokreta kao uljarice i pokušali su povećati sadržaj ulja u sjemenki suncokreta. Suncokret se danas u svijetu uzgaja na površini od preko 14,5 miliona hektara. Najveći proizvođači suncokreta su: Rusija, Ukrajina, Argentina, Francuska, Španjolska, SAD, Indija... (Karlović i sur., 1996.).



**Slika 3** Polje suncokreta (<https://www.youtube.com/watch?v=o2TaybKpwFo>)

**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 (Nx6,25)	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 dva 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 %;

-srednjooleinski, kod kojeg u sastavu ulja dominira oleinska kiselina sa sadržajem od oko 60 do 65 %

### **Suncokret linolnog tipa**

Uje 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  $\alpha$ -tokoferola kod ovog ulja u potpunosti odgovara zahtjevima suvremene prehrane.



**Tablica 3** Osnovne fizikalno-kemijske karakteristike suncokretovog ulja linolnog tipa

Pokazatelj	Vrijednost
Relativna zapreminska masa ( 20°C/voda 20°C)	0,918-0,925
Indeks refrakcije ( $n_D^{20}$ )	1,474-1,476
Indeks refrakcije ( $n_D^{40}$ )	1,461-1,468
Viskozitet pri 20°C (cP)*	51-57
Točka očvršćivanja (°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·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 <sub>14:0</sub>	-	-	≤0,1	-
C <sub>14:0</sub> -miristinska	-	-	≤0,2	-
C <sub>16:0</sub> -palmitinska	5-7	6	5,6-7,6	6,6-7,2
C <sub>16:1</sub> -palmitoleinska	≤0,4	0,1	≤0,3	-
C <sub>18:0</sub> -stearinska	4-6	4	2,7-6,5	4,2-4,5
C <sub>18:1</sub> -oleinska	15-25	16,5	39,4	21-23
C <sub>18:2</sub> -linolna	62-70	72,4	48,3-74,0	62-67
C <sub>18:3</sub> -linolenska	≤0,2	0,5	≤0,2	0-0,1
C <sub>20:0</sub> -arahinska	<1,0	0,4	0,2-0,4	-
C <sub>22:0</sub> -behenska	<1,0	0,7	0,5-1,3	0,5

\*Dimić E., 2005.

Kod suncokretovog ulja sadržaj linolenske kiseline je uvijek mali (obično ispod 0,1%). Ukoliko se pojavi veći sadržaj, tada se radi o primjesama (sojinog ili repičinog ulja). Najvažnije komponente neosapunjivih tvari biljnih ulja su tokoferoli i steroli

**Tablica 5** Sadržaj i sastav neosapunjivih tvari suncokretovog ulja

<b>Neosapunjive materije</b>	*	*	*
<b>Sadržaj neosapunjivih mat. (g/kg)</b>	5-15	≤15	6-8
<b>Sadržaj ukupnih sterola (mg/kg)</b>	3250-5150	2437-4545	-
<b>Sastav sterola : (% od ukupnih sterola)</b>			
<b>Kolesterol</b>	<0,4	≤7	6-8
<b>Brassicasterol</b>	0	ND*-0,2	-
<b>Campesterol</b>	8-11	7,4-12,9	-
<b>β-sitosterol</b>	7-10	8,0-11,5	-
<b>Δ-5-avenasterol</b>	58-64	56,2-65,0	-
<b>Δ-7-avenasterol</b>	2-7	ND-6,9	-
<b>Δ-7-stigmasterol</b>	4-6	3,1-6,5	-
<b>Isofucosterol</b>	9-14	7,0-24,0	-
<b>Fucosterol</b>	0,4-1	-	-
<b>Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola (mg/kg)</b>	440-1200	447-1514	650-780
<b>Sastav tokoferola: izražen u</b>	<b>(%)</b>	<b>(mg/kg)</b>	<b>(%)</b>
<b>α-tokoferol</b>	91-97	403-935	98
<b>β-tokoferol</b>	3-6	ND-45	1,2-1,6
<b>γ-tokoferol</b>	≤2	ND-34	-
<b>δ-tokoferol</b>	-	ND-7	-
<b>Sadržaj ugljikovodika-skvalen (mg/100 g)</b>	15-20	-	-
<b>Sadržaj alifatičnih alkohola (mg/100 g)</b>	100	-	-

\*Dimić E., 2005.

### **Oleinski tip suncokreta**

Ovisno o području uzgoja suncokretovog ulja, sastav masnih kiselina može varirati unutar istog tipa. Klimatski uvjeti mijenjaju sastav ulja. Dostignuća u oplemenjivanju biljaka omogućava stvaranje hibrida suncokreta sa promijenjenim sastavom masnih kiselina u ulju. Takvi hibridi imaju povećan sadržaj oleinske kiseline u ulju, preko 80% (čak i do 90%), a smanjen sadržaj linolne kiseline (Dimić E. i sur., 2000.). NS-OLIVKO je prvi stvoreni hibrid oleinskog tipa ulja u Europi. Ovaj hibrid ostvaruje prinose od 2-3t/ha. Sadržaj ulja u sjemenu se kreće od 47 do 50 %. Sadržaj oleinske kiseline u ulju prelazi 80%. Hibrid je priznat i u Italiji pod nazivom SOLEADO. Osim NS-OLIVKA u hibride se ubrajaju i GOLEADOR i NS-DELIJA.

Visok sadržaj oleinske kiseline utječe na održivost ovog tipa ulja. Zbog velike oksidacijske stabilnosti ulja sa visokim sadržajem oleinske kiseline se mogu široko primjenjivati.

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. Zbog povoljnih fizikalno-kemijskih karakteristika, cijeni, oleinska ulja su našla široku primjenu u kozmetici. Takva ulja su znatno jeftinija od mnogih drugih ulja ili masti, koje se uobičajeno koriste za izradu kozmetičkih preparata, proizvodima daju dobru održivost, a također su i neiritantna (Fitch Haumann, 1994.).

SAD se nastoji okrenuti u proizvodnju ulja sa srednjim sadržajem oleinske kiseline, koje će biti standardno suncokretovo ulje, sa trgovačkim nazivom „NuSuN“. Ovo ulje u svom sastavu ima manje od 10% zasićenih masnih kiselina, 55-75% oleinske i 15-35% linolne kiseline. Postojeći standardni tip će se smatrati specijalnim uljem (Gupta i sur., 2002.).

**Tablica 6** Načini upotrebe ulja

Načini upotrebe ulja		
Prženje/pečenje	Kao komponenta proizvoda	U oliku spreja za
"brza hrana"	pecivo	žitarice
badem, liješnjak	umaci, preljevi	keks/kreker
sjemenke	konditorski proizvodi	suho voće
kokice	instant juhe	začini
meso	margarin	sjemenke

### 2.3. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

Biljna ulja kao i svi prehrambeni proizvodi podložni su kemijskim, enzimskim i mikrobiološkim procesima koja uzrokuju kvarenje ulja i skraćuju njegovu trajnost. Kvarjenje ulja ovisi o vrsti, kvaliteti i uvjetima čuvanja ulja. Nepoželjne promjene uzrokuju 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). Iznimno je važno spriječiti kvarenje ulja od trenutka ubiranja i skladištenja sjemena, proizvodnje ulja, te skladištenja ulja do uporabe. Prema uzroku kvarenja biljnih ulja, procesi kvarenja se dijele na (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980.):

- a) Enzimski i mikrobiološki procesi: hidrolitička razgradnja i  $\beta$ -ketoosidacija,
- b) Kemijski procesi: autoosidacija, termooksidacijske promjene i reverzija.

#### 2.3.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Za ovu vrstu kvarenja važna je prisutnost enzima ili mikroorganizama, te odgovarajući uvjeti za njihovo djelovanje (voda, pH, temperatura). Enzimski procesi su karakteristični za ulja i masti u sirovinama. 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  $\beta$ -ketoosidaciju.

### Hidrolitička razgradnja

Hidrolitička razgradnja biljnih ulja je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule triglicerida uz prisustvo vode i lipolitičkih enzima (lipaza). Količina nastalih slobodnih masnih kiselina koje nastaju uslijed cijepanja esterske veze alkohola glicerola i masnih kiselina je pokazatelj hidrolitičkog kvarenja. Proces hidrolitičke razgradnje ulja se može zaustaviti inaktivacijom lipolitičkih enzima primjenom visokih temperatura (viših od 80°C), te primjenom niskih temperatura (nižih od - 20°C). Rezultat hidrolitičke razgradnje je povećanje kiselosti ulja, a istovremeno mogu nastati mono- i digliceridi te alkohol glicerol. U rafiniranim jestivim uljima dozvoljen udio SMK je 0,3% izražen kao % oleinske kiseline, a hladno prešanom i nerafiniranim uljima 2% SMK, izraženih kao oleinska kiselina (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 41/12).

### β-ketooksidacija

Ova vrsta kvarenja je karakteristična za masti i ulja u čijem sastavu prevladavaju masne kiseline kraćeg i srednjeg lanca. Uzročnici β-ketooksidacije su plijesni iz roda *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije iz roda *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*. Navedeni mikroorganizmi uz prisutnost kisika iz zraka djeluju na zasićene masne kiseline (metilnu skupinu u β položaju prema karboksilnoj skupini). Posljedica ovog kvarenja je neugodan miris i okus (miris užglosti), a mogu nastati žuti, crveni i plavozeleni pigmenti koji uzrokuju obojenje masti (Čorbo, 2008.). Ova vrsta kvarenja se može spriječiti termičkom obradom (pasterizacija, sterilizacija), snižavanjem pH (<5), te dodatkom konzervansa i aditiva.

## 2.3.2. Kemijski procesi

### Autooksidacija

Autooksidacija je vrsta kvarenja biljnih ulja do koje dolazi vezanjem kisika na nezasićene masne kiseline. Autooksidacija može biti brža ili sporija što ovisi o sastavu ulja, uvjetima čuvanja, prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju (prooksidansi) ili usporavaju (antioksidansi) oksidaciju. Proces autooksidacije se ne može zaustaviti, ali se može ubrzati ili usporiti. Autooksidacija je lančana reakcija koja se odvija u tri faze (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980; Rade i sur, 2001.).

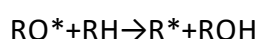
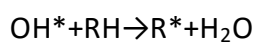
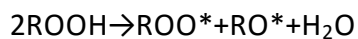
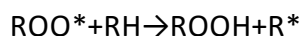
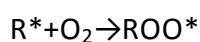
Faze autooksidacije ulja:

- inicijacija-prva faza,
- propagacija-druga faza,
- terminacija-treća faza.

Prva faza autooksidacije je inicijacija i počinje djelovanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline (RH) pri čemu na metilnim skupinama dolazi do homolitičkog cijepanja, tj. do izdvajanja vodika i nastanka alkil radikala masne kiseline (R\*)



Druga faza autooksidacije je propagacija. Slobodni radikali masnih kiseline nastali u fazi inicijacije, reagiraju s kisikom i stvaraju slobodne radikale peroksida (ROO\*) koji oduzimaju vodik iz molekula masnih kiselina te nastaju hidroperoksidi (ROOH) koji su nestabilni i raspadaju se na dva nova radikala (RO\*) i (HO\*). Svaki od njih uzima vodik iz masnih kiselina i tako ponovo nastaju novi radikali (R\*) koji dalje pokreću novi niz reakcija.



Završna faza autooksidacije je terminacija. U završnoj fazi, reakcija oksidacije se odvija lančano se dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno stvarajući polimere koji su inaktivni pa se time reakcija autooksidacije završava (Koprivnjak, 2006.). Na oksidaciju ulja najčešće utječe sastav masnih kiselina, način obrade ulja, količina prisutnih metalnih iona, temperatura, svjetlost, otopljeni kisik, antioksidansi i pigmenti. Oksidaciji masti i ulja je podložna sva hrana koja u svom sastavu ima lipide. ZMK (npr. iz maslaca) i masne kiseline koje sadrže jednu dvostruku vezu (npr. iz maslinovog ulja) znatno su otpornije na oksidaciju nego polinezasićene masne kiseline. Sekundarni produkti autooksidacije ulju daju neugodan, užegnut miris i okus, a nastaju razgradnjom hidroperoksida (primarni produkti autooksidacije).

RH-masne kiseline

R\*, RO\*- slobodni radikali

ROO\*- radikal peroksida

ROOH-hidroperoksid

HOO\*- radikal vodikovog peroksida

R-R, ROOR- polimeri

### **Termooksidacijske promjene ulja i masti**

Tijekom zagrijavanja ulja na temperaturama iznad 150°C uz prisutnost vode i zraka dolazi do termooksidacijskih promjena. Termooksidacijske promjene ovise o vrsti ulja, temperaturi i vremenu trajanja zagrijavanja. Termooksidacija uzrokuje fizikalne i kemijske promjene. Termooksidacija uzrokuje promjenu izgleda i sastava ulja od kojih su neke odmah uočljive kao tamna boja i porast viskoziteta. Fizikalna svojstva koja se mijenjaju tijekom prženja su: indeks refrakcije, specifična težina, viskoznost i boja po Lovibondu, a kemijska svojstva koja se mijenjaju su porast udjela slobodnih masnih kiselina, smanjenje jodnog broja, porast Pbr broja. Za utvrđivanje kvalitete ulja tijekom prženja, preporučuje se određivanje jodnog broja. Sniženje jodnog broja (za 5%) je znak da se biljno ulje više ne može koristiti za prženje hrane. Istraživanja su pokazala da visok stupanj oksidacije i zagrijavanja ulja može štetno djelovati na zdravlje ljudi (Huang i sur., 1990.).

### **Reverzija**

Reverzija je kvarenje uja karakteristično za određene vrste ulja (sojino i repičino). Tijekom kraćeg vremena čuvanja javlja se neugodan okus i miris na sirovinu, travu i ribu, koji posebno postaju izraženi tijekom zagrijavanja ulja. 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**

Određivanje stabilizacije biljnih ulja je važno kako bi se moglo utvrditi vrijeme tijekom kojeg ga možemo sačuvati bez većih promjena kvalitete. Dodatkom antioksidansa ili sinergista se

može produljiti oksidacijska stabilnost (održivost) ulja. Čimbenici koji utječu na oksidacijsku stabilnost ulja su sastav i kvaliteta ulja, uvjeti prerade i čuvanja ulja, vrsta ambalaže.

### 2.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi su kemijske tvari koje u malim koncentracijama (0,005-0,02%) usporavaju oksidacijsko kvarenje ulja i masti, te im produžuju održivost za tri do šest puta. Da bi antioksidans mogao djelovati, mora se dodati u svježju mast ili ulje s peroksidnim brojem manjim od 1 mmol O<sub>2</sub>/kg. Antioksidansi se dodaju kao aditivi u hranu prema zakonskim propisima (svaka zemlja određuje koji antioksidans i u kojoj količini), a obilježavaju se slovom E i brojevima od 300 do 340.

Mehanizam djelovanja antioksidanasa:

-Antioksidans (AH) daje atom vodika koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO<sup>\*</sup>) ili slobodni radikal masne kiseline (R<sup>\*</sup>)



-Slobodni radikal antioksidansa (A<sup>\*</sup>) se veže na slobodni radikal (R<sup>\*</sup>) ili na ROO<sup>\*</sup>



Ako su antioksidansi dodani nakon završene faze inicijacije nemaju nikakvog utjecaja i ne mogu djelovati jer su hidroperoksidi već stvoreni, odnosno oksidacija je već počela (Sadadinović i sur., 2005.).

Uvjeti koje antioksidansi moraju zadovoljiti su:

- dobra topljivost u uljima i mastima,
- aktivno djelovanje pri dodavanju malih koncentracija (0,005-0,02%),
- ne smiju uzrokovati strani okus i miris ni nakon duljeg skladištenja,
- moraju djelovati na proizvod u kojem se mast nalazi, a ne samo na mast,
- jednostavna identifikacija i određivanje antioksidanasa,
- ne smiju biti previše skupi (Čorbo, 2008.).



### Vrste antioksidanasa

Za oksidacijsku stabilizaciju biljnih ulja primjenjuju se razni prirodni (sigurniji su, bolji i lakše topivi u uljima) i sintetski antioksidansi. Najpoznatiji prirodni antioksidansi su:  $\beta$ -karoten, likopen i leutin, flavonoidi i izoflavoni, tokoli (tokoferoli i tokotrienoli), vitamin A, C i E, minerali selen i cink, te mnoge biljke koje sadrže spojeve koji djeluju kao antioksidansi (ekstrakt ružmarina, ekstrakt žalfije/kadulje, zelenog čaja...). Biljke su se prve koristile kao antioksidansi. Ekstrakt ružmarina je najbolji izvor prirodnih antioksidanasa. Ima veliku koncentraciju aktivnih tvari kao što su ružmarinska kiselina, karnosol, karnosolna kiselina i metil karnosol (Škevin, 2003.). U kombinaciji sa limunskom kiselinom pokazuje povećanje antioksidacijskog efekta, a u kombinaciji sa  $\alpha$ -tokoferolom uočen je negativan sinergistički učinak. Sintetski antioksidansi zbog cijene i ujednačenijih antioksidacijskih svojstava se češće koriste. Sintetski antioksidanski pripadaju skupini prehrambenih aditiva. Nisu prirodan sastojak hrane već se dobivaju kemijskim putem. U sintetske antioksidanse ubrajamo butil hidroksitoluen (BHT), butil hidroksianisol (BHA), alkil ester galne kiseline (propil galat-PG, oktil galat-OG, dodecil galat), tercijarni butilhidrokinon (TBHQ). Antioksidacijsko djelovanje nekog antioksidansa može se izraziti antioksidacijskim indeksom AI **(1)** koji pokazuje koliko puta se poveća održivost nekog ulja dodatkom antioksidanasa

$$AI = S_2/S_1 \quad (1)$$

gdje je:

$S_2$  -održivost masti s dodanim antioksidansom

$S_1$  -održivost masti bez dodanog antioksidansa

Antioksidans sprječava proces oksidacije ulja sve dok ga ima u ulju. Koliko dugo će neki antioksidans djelovati ovisi od vrste antioksidansa, koncentracije koja se dodaje, vrsti ulja ili masti, uvjetima čuvanja ulja i masti. U Hrvatskoj je upotreba antioksidanasa regulirana Pravilnikom o prehrambenim aditivima NN 81/2008.

#### 2.4.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali dodani uz neki antioksidans produžuju njegovo djelovanje 1 do 3 puta. Najčešće se koriste organske

kiseline (limunska, octena, askorbinska kiselina), askorbil palmitat, monoizopropil citrat i lecitin. Svaki synergist ne odgovara svakom antioksidansu. Poznata su tri načina djelovanja:

Vežu tragove metala (Cu, Fe), inaktiviraju ih i sprječavaju njihovo prooksidacijsko djelovanje.

Daju vodikov atom antioksidansu, regeneriraju ga i produžuju vrijeme njegovog trajanja.

Spriječavaju djelovanje antioksidanasa na razgradnju peroksida-synergist se veže sa radikalom antioksidansa i time zaustavlja njegov utjecaj na razgradnju peroksida (Koprivnjak, 2006.).

Synergisti se još nazivaju i sekundarni antioksidansi jer ne prevode izravno slobodne radikale u stabilne molekule.

### 2.4.3. Prooksidansi

Prooksidansi su čimbenici koji ubrzavaju proces autooksidacije ulja. Važno je održati ravnotežu antioksidans prooksidans kako prooksidansi ne bi bili štetni. Najčešći prooksidansi su: temperatura, svjetlost, kisik, tragovi metala i neki pigmenti. Proces autooksidacije se odvija polagano ukoliko se skladištenje vrši na temperaturama nižima od  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Što je viša temperatura kisik iz zraka brže djeluje na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida (kod ulja sa visokim udjelom polinezasićenih masnih kiselina- sojino ulje). Svjetlost kraćih valnih duljina ubrzava oksidaciju ulja. Kako bi spriječili djelovanje svjetlosti na ulje važno je skladištiti ga i čuvati u odgovarajućoj ambalaži. Tragovi metala djeluju kao prooksidansi kada su već prisutni hidroperoksidi. Metali imaju različito prooksidacijsko djelovanje, a intezitet djelovanja je u nizu  $\text{Cu} > \text{Mn} > \text{Fe} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Al}$ . Nerafinirana ulja sadrže određene količine metala koji se uklanjaju tijekom procesa rafinacije. Prooksidacijsko djelovanje imaju pigmenti (klorofil). Kao prooksidans klorofil djeluje samo uz prisutnost svjetla, a u mraku djeluje kao antioksidans.

## 2.5. OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja važna je da bismo odredili koliko se dugo ulja i masti mogu čuvati da ne dođe do senzorskih promjena ili naglog ubrzanja oksidacijskog procesa. Održivost ulja nam pomaže odrediti rok trajnosti i kvalitetu ulja. Primjenom više metoda koje daju ukupan sadržaj oksidacijskih promjena možemo dobiti kompletan uvid u stupanj

oksidacije ulja (Crapiste i sur., 1999). Metode kojima se određuje oksidacijska stabilnost temelje se na ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem temperature i zraka. Za održivost ulja se uzima vrijeme koje je potrebno da uzorak dostigne unaprijed utvrđenu vrijednost peroksidnog broja. Najveću primjenu u praksi imaju sljedeće metode: Schaal-Oven test (Oven test), Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method) i Rancimat test.

### 2.5.1. Schaal-Oven test (Oven test)

Oven test je jedan od najstarijih i najjednostavnijih metoda ispitivanja održivosti ulja. Uzorci ulja se u termostatu (sušioniku) zagrijavaju na temperaturi 60 ili 63°C. Pri tome se, u određenim vremenskim razmacima prati porast peroksidnog broja ili senzorske promjene. Rezultat se izražava kao:

- vrijednost peroksidnog broja nakon određenog vremena,
- vrijeme u danima za koje peroksidni broj dosegne određenu vrijednost,
- vrijeme u danima za koje se senzorskim ispitivanjima utvrdi pojava užegnosti.

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

### 2.5.2. Swift test ili AOM test (Active Oxygen Method)

Kod ove metode uzorci ulja se zagrijavaju na 98°C kroz koje prolazi struja zraka u Swift aparatu. Uzorci ulja se uzimaju u određenim vremenskim razmacima i određuje im se peroksidni broj. Uzorci se drže toliko dugo dok vrijednost peroksidnog broja ne dosegne 5 mmol O<sub>2</sub>/kg. Kvalitetna biljna ulja dobre održivosti poslije 8 sati ove metode trebaju imati peroksidni broj manji od 5 mmol O<sub>2</sub>/kg (Rade i sur., 2001.).

### 2.5.3. Rancimat test

Rancimat testom provodi se ubrzana oksidacija ulja kod točno definiranih uvjeta. Oksidacijska stabilnost određuje se primjenom Rancimat uređaja pri povišenoj konstantnoj temperaturi (100°C, 110°C, 120°C) uz konstantan dovod zraka pri čemu dolazi do ubrzane oksidacije ulja. Hlapljivi spojevi koji nastaju oksidacijom ulja pri povišenoj temperaturi (kratko lančane lako hlapljive organske kiseline) se uvode u deioniziranu vodu te se mjeri

porast vodljivosti. Indukcijski period (IP) u satima označava se kao otpornost ulja prema oksidacijskom kvarenju. Što je vrijeme indukcije dulje u satima, ulje ima bolju održivost odnosno oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986.).

### **3.EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati oksidacijsku stabilnost ili održivost suncokretovog ulja, te utjecaj dodatka prirodnih antioksidanasa u udjelimana promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog suncokretovog ulja.

Standardni uzorak (kontrolni) je čisto suncokretovo ulje, a ostali uzorci su pripremljeni s dodatkom pojedinog prirodnog antioksidanasa u koncentracijama 0,05%, 0,10% i 0,15%.

Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja s ili bez dodanog antioksidansa provedeno je Oven testom (test ubrzane oksidacije ulja).

Prije samog ispitivanja oksidacijske stabilnosti ulja, primjenom standardnih metoda, određeni su pojedini parametri kvalitete: slobodne masne kiseline (SMK) i peroksidni broj (Pbr) ulja koji su pokazatelji kvalitete ulja.

### 3.2. MATERIJALI I METODE

#### 3.2.1. Materijali

##### 3.2.1.1. Suncokretovo ulje

Za postupak ispitivanja oksidacijske stabilnosti koristilo se hladno prešano suncokretovo ulje (linolni tip) („Nowa“, Daruvar).

Suncokretovo ulje je dobiveno hladnim prešanjem iz sjemenki suncokreta. Upotrebljava se za salate, nije ga preporučljivo pržiti jer se onda gube pozitivna svojstva koje ulje ima zbog hladnog prešanja.

##### 3.2.1.2. Antioksidansi

Ekstrakt ružmarina tip OxyLess®.CS

OxyLess®.CS je proizveden u tvrtki NATUREX u Francuskoj. To je ekstrakt dobiven od listova ružmarina, koje ima botaničko ime *Romarinus officinalis L.* i u praškastom je obliku. Udio karnosolne kiseline je od 18 do 22 %, zaštitni faktor (PF) veći je od 12 . Suha tvar ekstrakta je od 92 do 98%. U ispitivanju smo ga upotrijebili u udjelima 0,05%, 0,10% i 0,15% računato na masu ulja.

$\alpha$ -tokoferol (vitamin E, prirodni)

$\alpha$ -tokoferol proizveden je u tvrtki KEMIG d.o.o. u Donjoj Zelini. Dolazi u obliku viskozne žućkaste tekućine.

Mješavina tokoferola 95

Mješavina tokoferola je proizvedena u tvrtki DSM u Sjedinjenim Američkim državama. To je viskozna tekućina žute do crveno-smeđe boje, bez prepoznatljiva mirisa. Mješavinu tokoferola čine  $\alpha$ -tokoferol (do 15 %),  $\beta$ -tokoferol (< 5%),  $\gamma$ -tokoferol (55-75%) i  $\delta$ -tokoferol (20-30%).



Slika 4 Upotrebjeni antioksidansi

### 3.2.2. Metode rada

#### 3.2.2.1. Priprema uzorka za analizu

U čašice od 100 mL se izvaže 50 g ulja. Nakon toga se izvaže određena količina antioksidanasa. Izvagani antioksidansi se dodaju u ulje, pomiješaju se staklenim štapićem, te se uz miješanje zagrijavaju na temperaturu od 70 do 80°C kako bi nastala homogena smjesa ulja sa antioksidansom. Tu temperaturu održavamo 30 minuta uz konstantno miješanje. Nakon toga uzorci se ohlade na sobnu temperaturu, pokriju satnim stakalcem i stavljaju u sušionik čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti ulja bez i s dodatkom antioksidanasa.

UZORCI:

Čisto suncokretovo ulje

Ulje+ 0,05 %  $\alpha$ -tokoferola

Ulje+0,10%  $\alpha$ -tokoferola

Ulje+0,15%  $\alpha$ -tokoferola

Ulje+0,05% mješavina tokoferola

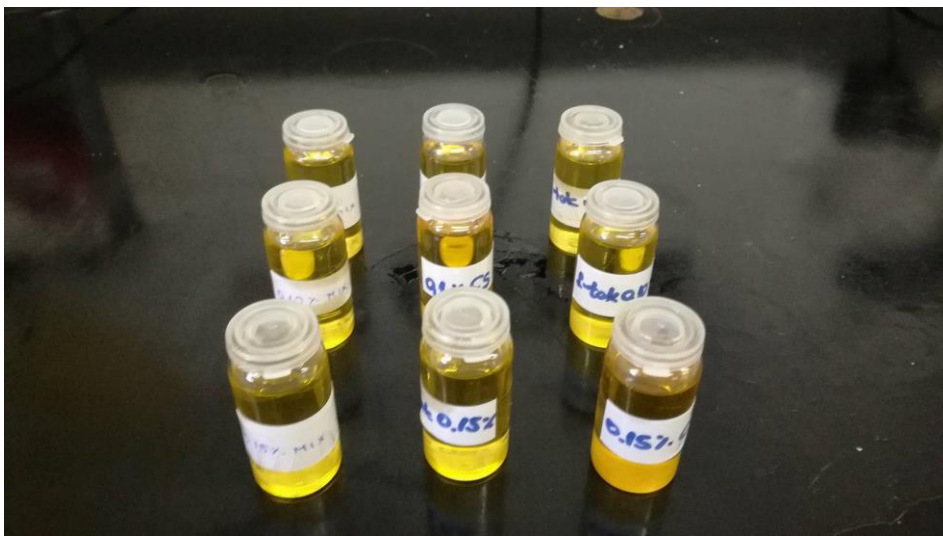
Ulje+0,10% mješavina tokoferola

Ulje+0,15% mješavina tokoferola

Ulje + 0,05% OxyLess CS (ekstrakt ružmarina)

Ulje+0,10% OxyLess CS (ekstrakt ružmarina)

Ulje+0,15% OxyLess CS (ekstrakt ružmarina)



**Slika 5** Uzorci suncokretovog ulja s i bez dodanog antioksidansa



### 3.2.2.2. Fizikalno-kemijske metode

#### Određivanje peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidni broj predstavlja indikator svježine odnosno užeglosti masti ili ulja. Djelovanjem kisika iz zraka na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina nastaju peroksidi koji se u daljnim fazama razgrađuju i uzrokuju kvarenje masti i ulja. Metoda određivanja peroksidnog broja se zasniva na sposobnosti peroksida da oslobodi jod iz otopine kalij jodida, koji se određuje titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata. U ovom ispitivanju peroksidni broj je određen standardnom metodom. Rezultat je izražen kao broj milimola aktivnog kisika koji potječe od nastalog peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O<sub>2</sub>/kg).

Postupak određivanja:

Oko 1 g suncokretovog ulja se odvaže u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 mL. Doda se 10 mL smjese ledene octene kiseline i kloroforma, promiješa i čim se ulje sjedini, iz birete se doda 0,2 mL otopine KI. Tada se rukom mućka jednu minutu, zatim razrijedi sa ili s 20 mL prethodno prokuhane i ohlađene destilirane vode, doda se 0,5 mL otopine škroba i odmah titrira sa 0,01 M otopinom Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. (Na-tiosulfat)

Peroksidni broj izračunava se prema formuli **(2)**

$$\text{Pbr} = (V_1 - V_0) \cdot 5 / m \text{ (mmol O}_2\text{/kg)} \quad \text{(2)}$$

gdje je:

**V<sub>1</sub>** - volumen otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka [mL]

**V<sub>0</sub>** - volumen otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepe probe [mL]

**m** - masa uzorka ulja [g]



**Slika 6** Određivanje Pbr u uzorcima ulja

#### Određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK)

Masti i ulja osim masnih kiselina vezanih za triacilglicerole sadrže uvijek i određenu količinu slobodnih masnih kiselina. Udio slobodnih masnih kiselina ovisi o načinu dobivanja i uvjetima skladištenja, te se može izraziti kao:

- kiselinski broj,
- kiselinski stupanj ili
- %SMK (izražen na oleinsku kiselinu).

Navedene vrijednosti se mogu dobiti istim postupkom određivanja, pa se preračunavaju jedna u drugu. Udio SMK se najčešće izražava kao % SMK (oleinska kiselina). Princip metode je titracija ulja (otopljenog u otapalu) sa otopinom natrij hidroksida  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$ . Udio slobodnih masnih kiselina je izražen kao % SMK (izražene kao oleinske kiseline), a izračunava se po formuli **(3)**:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = \frac{V \cdot c \cdot M}{10 \cdot m} \quad \mathbf{(3)}$$

gdje je:

**V** - utrošak otopine natrijevog hidroksida za titraciju uzorka [mL]

**c** - koncentracija otopine natrijevog hidroksida utrošenog za titraciju [0,1 mol/L]

**M** - molekularna masa oleinske kiseline [282 g/mol]

**m** - masa uzorka ulja (g)

### 3.2.2.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti

#### Oven test

Oven test proveden je na uzorku čistog suncokretovog ulja, te na uzorcima suncokretovog ulja kojima su dodani prirodni antioksidansi. Pripremljeni uzorci ulja su se zagrijavali u sušioniku pri konstantnoj temperaturi 63°C pri čemu se pratio peroksidni broj tijekom 4 dana. Ulje se uzorkovalo svakih 24 sata kako bi se odredila vrijednost peroksidnog broja. Prije uzorkovanja, uzorci ulja se moraju dobro homogenizirati staklenim štapićem. U pripremljene čašice se odlije 3 do 5 g ulja nakon homogenizacije, a uzorci sa uljem se ponovo vraćaju u sušionik. Kada temperatura ulja dostigne sobnu temperaturu određuje se peroksidni broj. Rezultati Oven testa su prikazani kao vrijednost peroksidnog broja (mmol O<sub>2</sub>/kg) pri temperaturi 63°C nakon četiri dana trajanja testa.

## **4. REZULTATI**

**Tablica 7** Osnovni parametri suncokretovog ulja (linolni tip)

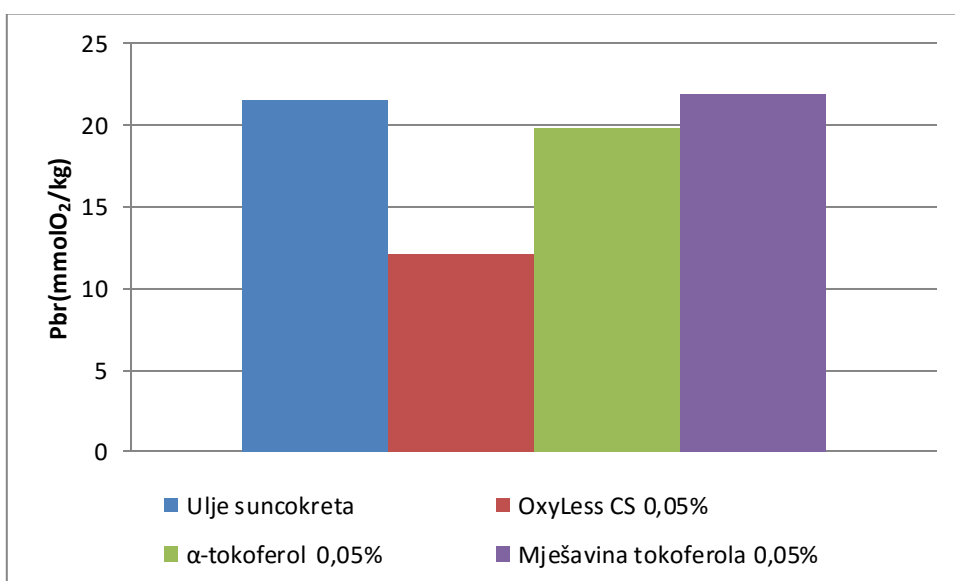
UZORAK	SMK (% oleinske kiseline)	Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)
Hladno prešano suncokretovo ulje	0,26	4,90

SMK-slobodne masne kiseline, izražene kao % oleinske kiseline

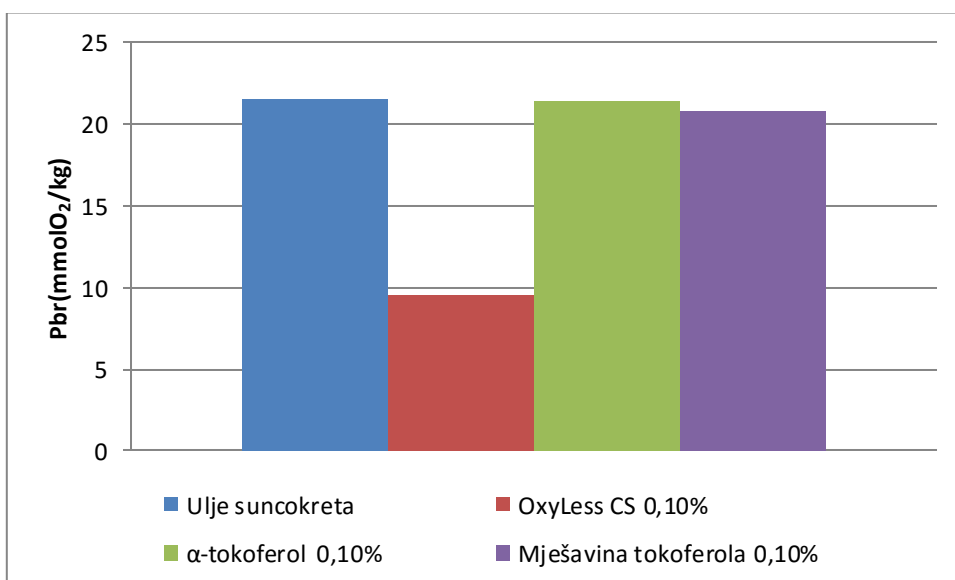
Pbr-peroksidni broj, mmolO<sub>2</sub>/kg

**Tablica 8** Okidacijska stabilnost suncokretovog ulja s i bez dodanog prirodnog antioksidansa ispitana Schaal oven testom tijekom četiri dana praćenjem Pbr svakih 24 sata te nakon 2 mjeseca skladištenja ulja pri sobnoj temperaturi

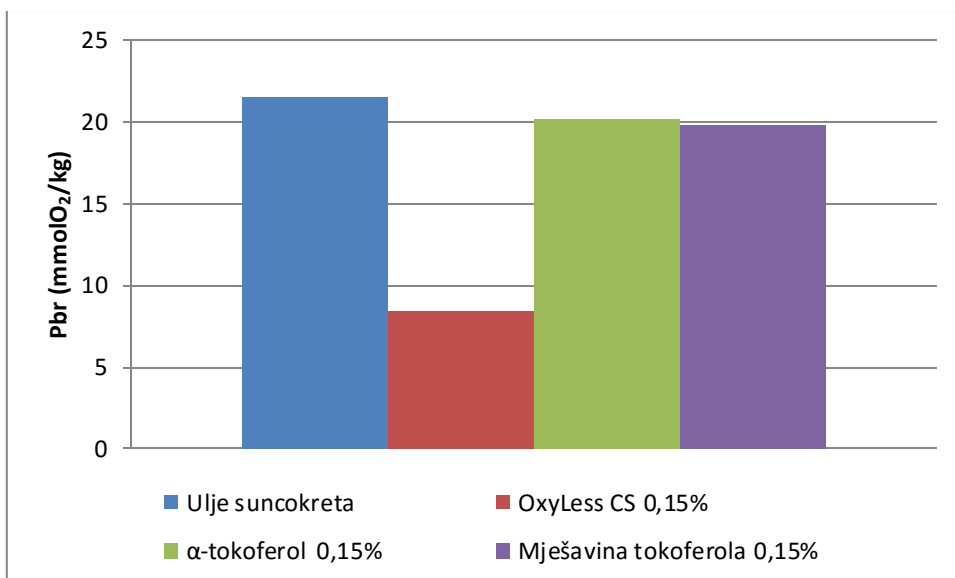
UZORCI	Koncentracija antioksidansa (%)	Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)					
		0.DAN	1. DAN	2.DAN	3.DAN	4.DAN	NAKON 2.MJESECA
Hladno prešano suncokretovo ulje	-	4,90	10,75	13,99	17,64	21,49	10,31
Ekstrakt ružmarina Oxy'Less CS	0,05%	4,90	7,04	8,51	9,18	12,13	7,57
	0,10%	4,90	6,65	7,06	9,11	9,54	7,53
	0,15%	4,90	6,97	7,25	7,82	8,49	6,60
α-tokoferol	0,05%	4,90	9,81	13,64	15,79	19,80	10,34
	0,10%	4,90	10,59	15,42	17,48	21,39	10,50
	0,15%	4,90	9,66	14,05	15,81	20,22	10,76
Mješavina tokoferola	0,05%	4,90	10,49	14,71	17,28	21,96	10,96
	0,10%	4,90	10,22	13,85	16,59	20,78	10,00
	0,15%	4,90	9,07	12,44	15,66	19,79	10,37



**Slika 7** Utjecaj dodataka prirodnog antioksidansa (0,05%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa



**Slika 8** Utjecaj dodataka prirodnog antioksidansa (0,10%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa



**Slika 9** Utjecaj dodataka prirodnog antioksidansa (0,15%) na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana Schaal oven testa

## **5. RASPRAVA**



U **Tablici 7** prikazani su osnovni parametri kvalitete suncokretovog ulja slobodne masne kiseline (SMK) i peroksidni broj (Pbr). Iz rezultata je vidljivo da ulje ima vrijednost Pbr 4,90 (mmolO<sub>2</sub>/kg) i SMK 0,26% što znači da je ulje dobre kvalitete te je u skladu s vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima NN 41/12.

Rezultati ispitivanja utjecaja dodatka prirodnih antioksidanasa na promjenu oksidacijske stabilnosti hladno prešanog suncokretovog ulja prikazani su u **Tablici 8**. Oksidacijska stabilnost ulja je ispitivana određivanjem peroksidnog broja svakih 24 sata tijekom 4 dana te nakon 2 mjeseca skladištenja ulja pri sobnoj temperaturi. Početna vrijednost peroksidnog broja (Pbr) suncokretovog ulja iznosila je 4,90 (mmol O<sub>2</sub>/kg). Tijekom 4 dana testa pri 63°C dolazi do porasta Pbr ulja te je vrijednost nakon 4 dana 21,49 (mmol O<sub>2</sub>/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%) koja lako podliježe oksidacijskom kvarenju.

Dodatkom pojedinog prirodnog antioksidansa u suncokretovo ulje došlo je do porasta održivosti ili oksidacijske stabilnosti ulja. Znatno veća stabilnost suncokretovog ulja, veća otpornost prema oksidacijskom kvarenju postignuta je dodatkom ekstrakta ružmarina (OxyLess CS) u udjelima 0,05%, 0,10% i 0,15% u odnosu na primjenu drugih ispitivanih antioksidanasa. Ekstrat ružmarina (OxyLess CS) ima veću efikasnost zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja što je vidljivo iz vrijednosti Pbr tijekom testa. Primjenom OxyLess CS ekstrakta ružmarina udjela 0,15% postignuta je veća stabilnost ulja (niži Pbr nakon 4 dana testa, 8,49 mmol O<sub>2</sub>/kg) u odnosu na primjenu udjela 0,05% i 0,10%. Dodatkom  $\alpha$ -tokoferola i mješavine tokoferola (0,05%, 0,10% i 0,15%) u suncokretovo ulje postignuta je podjednaka efikasnost zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja. Korišteni  $\alpha$ -tokoferol u udjelu 0,05% ima bolje antioksidacijsko djelovanje za razliku od primjene udjela 0,10% i 0,15%. Mješoviti tokoferoli u udjelu 0,15% imaju bolje antioksidacijsko djelovanje nakon 4 dana testa u odnosu na primjenu 0,05% i 0,10%. Iz **Tablice 8** je vidljivo da ulje s dodatkom mješavine tokoferola udjela 0,05% ima veći peroksidni broj (21,96 mmol O<sub>2</sub>/kg) nakon 4 dana testa za razliku od ulja u koje nije dodan antioksidans (kontrolni uzorak 21,49 mmolO<sub>2</sub>/kg). Ovako visoka vrijednost Pbr ukazuje na slabiju oksidacijsku stabilnost ulja. Na slikama 7-9 vidljiv je utjecaj dodataka pojedinog antioksidansa kod istog udjela na oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja nakon 4 dana testa. Uočava se niža vrijednost Pbr ulja primjenom ekstrakta ružmarina

kod koncentracije. Nakon dva mjeseca skladištenja ulja pri sobnoj temperaturi najbolju efikasnost zaštite ulja od oksidacije pokazuje ekstrakt ružmarina OxyLess CS u udjelu 0,15% gdje Pbr iznosi (6,6 mmol O<sub>2</sub> /kg). Zapaženo je da se porastom udjela dodanog ekstrakta ružmarina sa 0,05% na 0,10% i 0,15% poveća otpornost suncokretovog ulja prema oksidacijskom kvarenju. Dodatak  $\alpha$ -tokoferola kod sva tri udjela pokazuje da se tijekom 2 mjeseca skladištenja postiže veća vrijednost Pbr u odnosu na kontrolni uzorak. Stoga zaključujemo da ovaj prirodni antioksidans ne utječe na stabilizaciju suncokretovog ulja tijekom skladištenja pri sobnoj temperaturi te se ne bi trebao koristiti.

Također, primjena mješavine tokoferola za stabilizaciju suncokretovog ulja nije pokazala zadovoljavajuće rezultate. Nakon 2 mjeseca skladištenja ulja vrijednost Pbr je bila podjednaka kao kod kontrolnog ulja te se niti ovaj prirodni antioksidans ne preporučuje za stabilizaciju ovog ulja u navedenim koncentracijama.

## **6. ZAKLJUČCI**

Na temelju provedenog istraživanja u ovom diplomskom radu dobiveni su sljedeći zaključci:

1. Osnovni parametri kvalitete (SMK, Pbr) ispitivanog hladno prešano suncokretovo ulje su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima.
2. Nakon 4 dana testa suncokretovo ulje ima visok peroksidni broj što pokazuje slabu otpornost prema oksidacijskom kvarenju zbog visokog udjela linolne masne kiseline.
3. Najveću efikasnost zaštite ulja od oksidacije nakon 4 dana provođenja testa postignuta je dodatkom OxyLess CS ekstrakta ružmarina u udjelu 0,15%.
4. Mješavina tokoferola i  $\alpha$ -tokoferol manje utječu na porast stabilnosti ulja (postiču podjednaku efikasnost).
5. Porastom udjela dodane mješavine tokoferola sa 0,05 % na 0,10% i 0,15% dolazi do porasta zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja.
6. Dodatkom  $\alpha$ -tokoferola udjela 0,05% ne postiže se zaštita ulja od oksidacije, nakon 4 dana testa Pbr ima veću vrijednost od kontrolnog uzorka.
7. Skladištenjem ulja bez dodanog antioksidansa tijekom dva mjeseca pri povišenoj temperaturi došlo je do znatnog oksidacijskog kvarenja.
8. Dodatkom antioksidanasa (ekstrakta ružmarina) tijekom 2 mjeseca skladištenja postiže se veća održivost ulja prema oksidacijskom kvarenju, a primjena  $\alpha$ -tokoferola i mješavine tokoferola ne pokazuje pozitivan utjecaj u zaštiti ulja.

## **7. LITERATURA**

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

Čorbo S: Tehnologija ulja i masti. Univerzitetski udžbenik, Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, Sarajevo, 2008.

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

Fitch Haumann B: Modified oil may be key to sunflower's future, Inform 5, 1994.

Gupta KM: Advancement in sunflower oil, World Conference and Exhibition on Oil seed and Edible, Industrial, and Speciality Oils, Istanbul, 2002.

Huang CJ, Lee HJ, Hau LB: Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying, Journal of the American Oil Chemists' Society 175, 1990.

Karlović Đ, Andrić A: Kontrola kvaliteta semena uljarica, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1996.

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 ActiveOxygenMethod (AOCS cd 12-57) and the Rancimat Method, Journal of the American Oil Chemists' Society 11: 63-69, 1986

Mandić ML: Znanost o prehrani, Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2003.

NN 41/12 Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Pravilnik o jestivim uljima i mastima, 2012.

NN 81/08 Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi uz sukladnost ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Pravilnik o prehrambenim aditivima, 2008.

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.

Perko G: Važnost esencijalnih masnih kiselina u prehrani suvremenog čovjeka, Glasilo Belupo, 2006.

Putt ED: History and present world status of Sunflower in „Sunflower science and technology“, USA, 1978.

Rade D, Mokrovčak Ž, Štrucelj D: Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida. Durieux, Zagreb, 2001.

Sadadinović J, Mičević , Đonlagić N, Topčagić R, Berbić Z: Praćenje oksidacione stabilnosti masti, maslaca i kravljeg masla diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom (DSC), Mljekarstvo 55 (3), 2005.

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 biotehnološki fakultet, Zagreb, 2003.

Volmut K: Okidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom propil galata i ekstrakta ružmarina, Specijalistički rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, svibanj, 2010.

