

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Mirna Tokić

**UTJECAJ ANTIOKSIDANSA I SINERGISTA NA ODRŽIVOST
KONOPLJINOG ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Tehnologija ulja i masti
Tema rada je prihvaćena na IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2018./2019. održanoj 13. rujna 2019.
Mentor: prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*
Pomoć pri izradi: *Daniela Paulik*, tehnički suradnik

Utjecaj antioksidansa i sinergista na održivost konopljinog ulja

Mirna Tokić, 0113138679

Sažetak:

U ovom radu ispitan je utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa te sinergista na promjenu oksidacijske stabilnosti (održivosti) hladno prešanog konopljinog ulja. Od prirodnih antioksidanasa korišteni su ekstrakt ružmarina OxyLess CS, ekstrakt kadulje, alfa tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt maslinove komine i katehin, a od sintetskih antioksidanasa propil galat te butil hidroksianisol. Kao sinergisti korištene su askorbinska i limunska kiselina. Efikasnost dodatka navedenih antioksidanasa i sinergista u stabilizaciji ulja određena je SchaalOven testom oksidacijske stabilnosti kod konstantne temperature 63 °C. Također, primjenom standardnih metoda određeni su osnovni parametri kvalitete konopljinog ulja: peroksidni broj, slobodne masne kiseline, netopljive nečistoće i udio vlage. Rezultati pokazuju da je dodatkom prirodnih antioksidanasa postignuta bolja zaštita ulja od oksidacijskog kvarenja, nego dodatkom sintetskih antioksidanasa. Najbolje djelovanje na usporavanje oksidacijskog kvarenja konopljinog ulja pokazao je ekstrakt ružmarina. Sinergisti su dodatno povećali otpornost ulja konoplje prema oksidacijskom kvarenju, a bolje sinergističko djelovanje pokazala je askorbinska kiselina.

Ključne riječi: hladno prešano konopljino ulje, oksidacijska stabilnost, antioksidansi, sinergisti

Rad sadrži: 57 stranica
18 slika
7 tablica
46 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

1. prof. dr. sc. <i>Vedran Slačanac</i>	predsjednik
2. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i>	član-mentor
3. doc. dr. sc. <i>Antun Jozinović</i>	član
4. prof. dr. sc. <i>Stela Jokić</i>	zamjena člana

Datum obrane: 27. rujna 2019.

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 Technology
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 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 Technology Osijek Council at its session no. IX held on September 13, 2019.

Mentor: *Tihomir Moslavac*, PhD, prof.

Technical assistance: *Daniela Paulik*, technical associate

Effect of Antioxidants and Synergists on the Shelf Life of Hemp Oil

Mirna Tokić, 0113138679

Summary:

Aim of this study was to examine the influence of the addition of natural and synthetic antioxidants and synergists on the oxidative stability of cold pressed hemp oil. The natural antioxidants used were rosemary OxyLess CS extract, sage extract, alpha tocopherol, a mixture of tocopherol, olive pomace and catechin, and synthetic antioxidants propyl gallate and butyl hydroxyanisole. Ascorbic and citric acid were used as synergists. The effectiveness of the addition of these antioxidants and synergists in oil stabilization was determined by the Schaal Oven oxidation stability test at a constant temperature of 63 °C. Also, by using standard methods, basic parameters of hemp oil quality were determined: peroxide number, free fatty acids, insoluble impurities and moisture content. The results showed that the addition of natural antioxidants results in better protection of the oil from oxidative deterioration than the addition of synthetic antioxidants. Rosemary extract showed the best effect in slowing down the oxidative degradation of hemp oil. Synergists further increased the resistance of hemp oil to oxidative degradation, and ascorbic acid showed better synergistic activity.

Key words: cold pressed hemp oil, oxidative stability, antioxidants, synergists

Thesis contains: 57 pages
18 figures
7 tables
46 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | <i>Vedran Slačanac</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. | <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, prof. | supervisor |
| 3. | <i>Antun Jozionović</i> , PhD, assistant prof. | member |
| 4. | <i>Stela Jokić</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 27, 2019.

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. PODJELA I SVOJSTVA ULJA BILJNOG PODRIJETLA	4
2.2. SASTAV MASTI I ULJA	5
2.3. INDUSTRIJSKA KONOPLJA	13
2.3.1. Sjemenka industrijske konoplje.....	14
2.3.2. Ulje industrijske konoplje	15
2.4. PROCES PROIZVODNJE HLADNO PREŠANOG BILJNOG ULJA.....	18
2.4.1. Priprema sirovine za preradu	18
2.4.2. Prešanje	19
2.4.3. Čišćenje sirovog ulja	21
2.5. PAKIRANJE I SKLADIŠTENJE BILJNIH ULJA	22
2.6. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA	23
2.6.1. Enzimski i mikrobiološki procesi.....	23
2.6.2. Kemijske reakcije	25
2.7. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA	29
2.7.1. Antioksidansi	29
2.7.2. Sinergisti	33
2.8. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA	34
2.8.1. SchaalOven test.....	34
2.8.2. AOM test	34
2.8.3. Rancimat test	34
2.8.4. Test održivosti na 98 °C.....	35
3. EKSPERIMENTALNI DIO	36
3.1. ZADATAK	37
3.2. MATERIJALI I METODE	37
3.2.1. Materijali	37
3.2.2. Metode	39
3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja	39
3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja	42
4. REZULTATI.....	45
5. RASPRAVA.....	49
6. ZAKLJUČCI.....	52
7. LITERATURA	54

Popis oznaka, kratica i simbola

A• - slobodni radikal antioksidansa

AH – antioksidans

AI – antioksidacijski indeks

BG – butil galat

BHA – butil hidroksianisol

BHT – butil hidroksitoluen

DHA – dokosaheksaenska kiselina

EPA – eikosapentaenska kiselina

IP – indukcijski period

KI – kalijev jodid

NaOH – natrijev hidroksid

NMK – nezasićene masne kiseline

Na₂S₂O₃ – natrijev tiosulfat

Pbr – peroksidni broj

PG – propilgalat

R• - slobodni radikal masne kiseline

ROO• – slobodni radikal peroksida

SMK – slobodne masne kiseline

THC – tetrahidrokanabinol

ZMK – zasićene masne kiseline

1. UVOD

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) jestivo ulje se dijeli na tri kategorije: rafinirano, djevičansko i hladno prešano ulje. Hladno prešano ulje dobiva se postupkom prešanja bez primjene temperature, a nečistoće mu se uklanjaju jednostavnim postupcima kao što su sedimentacija i filtracija. Ne prolazi proces rafinacije, stoga su mu sačuvane sve prirodno prisutne tvari poput vitamina, esencijalnih masnih kiselina i antioksidanasa, što ga čini nutritivno visokovrijednim proizvodom.

Konoplja (*Cannabis sativa L.*) je jednogodišnja zeljasta biljka porijeklom iz središnje Azije, gdje se prvenstveno uzgajala za dobivanje vlakana i medicinske svrhe. U Hrvatskoj i većini europskih zemalja isključivo je dozvoljen uzgoj sorti konoplje kojima sadržaj THC u suhoj tvari biljke ne prelazi 0,2%. Hladno prešano konopljinolje je ugodnog orašastog okusa, a boja mu varira od svijetlozelene do tamnozeleno, a potječe od klorofila i karotenoida iz ljuske. Osim u prehrani, ulje konoplje također se koristi i u kozmetici zbog antimikrobnog i antiupalnog djelovanja kao i u ljekovite svrhe. Iako ga bogat sastav nezasićenih masnih kiselina čini nutritivno vrlo vrijednim uljem, oksidacijska stabilnost hladno prešanog konopljinog ulja pokazala se lošom prilikom skladištenja i procesiranja.

Oksidacijska stabilnost ili održivost jedno je od najznačajnijih svojstava biljnih ulja, a predstavlja vrijeme za koje se ulje može sačuvati od procesa autooksidacije. Pomoću tog podatka može se unaprijed utvrditi rok trajanja te vrijeme skladištenja za koje se kvaliteta ulja neće znatno promijeniti. Oksidacijska stabilnost određuje se metodama koje se zasnivaju na ubrzanoj oksidaciji ulja utjecajem jednog ili više čimbenika koji ubrzavaju taj proces, a to je najčešće toplina. Stabilnost ulja prema oksidacijskom kvarenju može se poboljšati dodatkom raznih prirodnih i sintetskih antioksidanasa kao i sinergista, a njihovo će djelovanje ovisiti o koncentraciji, vrsti te uvjetima čuvanja ulja.

Glavni zadatak ovoga rada bio je ispitati utjecaj dodatka prirodnih i sintetskih antioksidanasa te sinergista na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog konopljinog ulja. Također, primjenom standardnih metoda ispitani su parametri kvalitete proizvedenog ulja koji su morali biti u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19). Utjecaj dodatka antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnost proizvedenog ulja ispitan je Oven testom u sušioniku pri temperaturi 63 °C.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PODJELA I SVOJSTVA ULJA BILJNOG PODRIJETLA

Ulja biljnog podrijetla proizvodi su dobiveni iz sjemenki ili plodova biljaka. Sastoje se od triglicerida masnih kiselina, a mogu sadržavati i druge lipide, kao i neznatne količine negliceridnih komponenti.

Prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19), ovisno o primijenjenom tehnološkom postupku u proizvodnji, ulja se razvrstavaju u sljedeće kategorije:

1. Rafinirana ulja,
2. Hladno prešana ulja,
3. Djevičanska ulja.

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

- „ulje“ nadopunjeno nazivom biljne vrste za ulja dobivena postupkom rafinacije jedne vrste sirovog ulja biljnog podrijetla,
- „biljno ulje“ za ulje dobiveno postupkom miješanja i rafinacije više vrsta sirovih ulja biljnog podrijetla.

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, bez primjene topline. Za razliku od hladno prešanih ulja, djevičanska ulja također se dobivaju mehaničkim postupcima, ali uz primjenu topline. Za obje kategorije jestivih ulja može se provesti postupak čišćenja odnosno bistrenja pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Hladno prešana i djevičanska ulja na tržište se stavljaju pod nazivima „ulje“ nadopunjeno nazivom biljne vrste, a uz nazive ulja obvezno je navođenje izraza „hladno prešano“, odnosno „djevičansko“.

Iako je danas poznato oko 100 vrsta uljarica, za proizvodnju ulja i masti značajan je tek mali broj uljarica, a to su uglavnom one koje u svom sastavu sadrže 15 do 70% ulja te udovoljavaju sljedećim uvjetima:

- da je biljka pogodna za masovnu proizvodnju,
- da imaju minimalan sadržaj ulja koji omogućava njihovo ekonomsko i racionalno izdvajanje (Čorbo, 2008.).

S obzirom na dio biljke koji se koristi za dobivanje ulja te podrijetlu same biljke, ulja se dijele u sljedeće skupine:

1. Ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: ulje avokada, maslinovo ulje, palmino ulje...
2. Ulja i masti iz sjemena ploda prema dominirajućim masnim kiselinama:
 - laurinske masti i ulja (uljana palma, kokosov orah, ...),
 - masti palmitinske i stearinske kiseline (kacao maslac, shea maslac, ...),
 - ulja palmitinske kiseline (pamukovo ulje, palmino ulje, ...),
 - ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, šafranjika, kukuruzne klice, repica ...),
 - ulja linolenske kiseline (soja, lan, konoplja, ...).
3. Ulja prema podrijetlu biljke:
 - ulja iz leguminoza (kikiriki, soja, ...),
 - ulja krstašica (repica, slačica-senf, ...) (Bockish, 1998.; Čorbo, 2008.).

2.2. SASTAV MASTI I ULJA

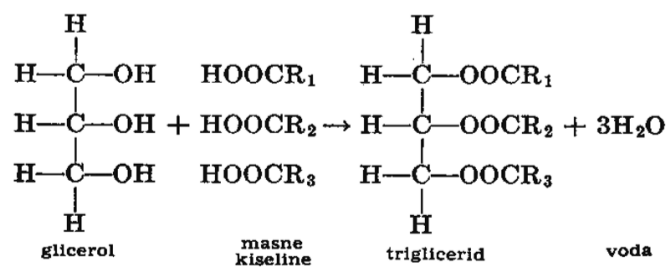
Masti i ulja sastavni su dio naše svakodnevne prehrane, a zajedno s bjelančevinama i ugljikohidratima spadaju u makronutrijente. Mogu biti biljnog ili životinjskog podrijetla, a među namirnicama predstavljaju najkoncentriraniji izvor energije, s obzirom da jedan gram masti daje 9 kcal (Čorbo, 2008; Ljubisavljević, 1897.). Također su esencijalni nutrijenti jer pomažu u očuvanju mentalnog zdravlja, izvor su vitamina topljivih u mastima, esencijalnih masnih kiselina koje su prekursori nekih bitnih hormona te čine hranu ukusnijom (Saini, 2017.).

Kemijski gledano, predstavljaju u vodi netopljive estere alkohola glicerola i masnih kiselina, odnosno triacilglicerola. Manje su prisutni diacilgliceroli, monoacilgliceroli, slobodne masne kiseline te negliceridne komponente u količinama 1-3% (Gunstone, 2013.).

Pod pojmom ulje obično se označavaju oni triacilgliceroli koji su na sobnoj temperaturi u tekućem stanju, dok pojam mast označava triacilglicerole koji su na istoj temperaturi u polučvrstom i čvrstom stanju (Swern, 1972.).

Triacilgliceroli

Triacilgliceroli (ranije zvani trigliceridi) esteri su trovalentnog alkohola glicerola i triju molekula masnih kiselina, pri čemu nastaje jedna molekula triacilglicerola i tri molekule vode. Reakcija nastajanja triacilglicerola prikazana je na **Slici 1**. Kada su na molekulu glicerola vezane tri jednake masne kiseline onda takve triacilglicerole nazivamo jednostavnima, a ukoliko su masne kiseline različite tada ih nazivamo mješovitima (Čorbo, 2008.).



Slika 1 Reakcija nastajanja triacilglicerola (Moslavac, 2015.)

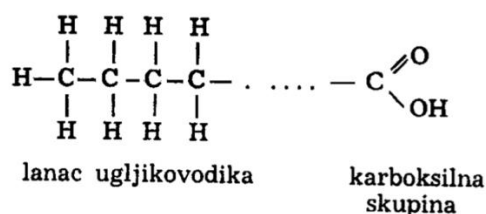
U znatno manjim količinama (1-3%) masti i biljna ulja mogu sadržavati mono- i diacilglicerole za koje je karakteristično da na molekuli glicerola imaju vezanu samo jednu ili dvije masne kiseline, odnosno na molekuli glicerola ostaju slobodne dvije ili jedna hidroksilna (-OH) skupina. Njihov udio u sirovim mastima i uljima ovisit će o stupnju nastalih hidrolitičkih promjena jer ovi spojevi nastaju hidrolizom triacilglicerola. Monoacilgliceroli se zbog dobrih emulgirajućih svojstava koriste kao emulgatori (Moslavac, 2015.).

Masne kiseline

S obzirom na to da masne kiseline čine najveći dio ukupne težine (94-96%) triacilglicerolate su ujedno reaktivni dio molekule, svojstva masnih kiselina u velikoj mjeri određuju kemiju masti i ulja (Swern, 1972.).

Kemijski gledano, građene su od ravnog alifatskog ugljikovodičnog lanca na čijem je kraju vezana karakteristična karboksilna skupina (-COOH) (Čorbo, 2008). Strukturna formula masne kiseline prikazana je na **Slici 2**.

U prirodnim uljima i mastima broj ugljikovih atoma u molekuli masne kiseline može iznositi 4 do 22, ali su najzastupljenije masne kiseline sa 18 ugljikovih atoma (Scrimgeour, 2005.).



Slika 2 Strukturna formula molekule masne kiseline (Moslavac, 2015.)

Podjela masnih kiselina izvršena je prema sljedećim kriterijima:

1. Prema broju ugljikovih atoma:

- masne kiseline kratkog lanca koje imaju do 8 ugljikovih atoma,
- masne kiseline srednjeg lanca koje imaju 8 do 12 ugljikovih atoma,

- masne kiseline dugog lanca koje imaju više od 12 ugljikovih atoma.
2. Prema prostornoj orijentaciji kiselinskih ostataka oko nezasićene veze:
 - *cis*-oblik,
 - *trans*-oblik.
 3. Prema prisutnosti, odnosno odsutnosti zasićenih veza:
 - zasićene,
 - nezasićene – mononezasićene (prisutna jedna dvostruka veza) i polinezasićene (prisutne 2 do 6 dvostruke veze) (Čorbo, 2008.).

a) Zasićene masne kiseline (ZMK)

Zasićene masne kiseline su one masne kiseline koje ne sadrže dvostruku vezu jer su na svaki ugljikov atom unutar lanca vezana dva vodikova atoma (Swern, 1972.).

Što je ugljikovodični lanac duži, odnosno što je veći broj ugljikovih atoma u lancu, konzistencija masnih kiselina prelazi iz tekućeg u čvrsti oblik, a masne kiseline s najvećim brojem ugljikovih atoma imaju konzistenciju sličnu voskovima. Porastom dužine lanca refrakcijski indeks, vrelište i točka topljenja se povećavaju, dok se gustoća i topljivost masnih kiselina u vodi smanjuju (Hoffmann, 1989.).

U mliječnoj masti prevladavaju niže masne kiseline sa 4 do 10 ugljikovih atoma, dok su u biljnim i animalnim mastima najzastupljenije laurinska, miristinska, palmitinska i stearinska kiselina, prikazane u **Tablici 1**. ZMK s neparnim brojem ugljikovih atoma u prirodnim mastima prisutne su samo u tragovima (Moslavac, 2015.).

Tablica 1 Važnije zasićene masne kiseline

Naziv masne kiseline	Broj C atoma	Formula
Maslačna	4	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH
Kapronska	6	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH
Kaprilna	8	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH
Kaprinska	10	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH
Laurinska	12	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
Miristinska	14	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
Palmitinska	16	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
Stearinska	18	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH

Arahinska	20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18} \text{COOH}$
Behenska	22	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20} \text{COOH}$
Lignocerinska	24	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22} \text{COOH}$
Cerotinska	26	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24} \text{COOH}$

b) Nezasićene masne kiseline (NMK)

Nezasićene masne kiseline su one koje u molekuli imaju prisutne dvostruke veze između ugljikovih atoma. Ukoliko je prisutna samo jedna dvostruka veza onda takve masne kiseline nazivamo mononezasićenima, a polinezasićene su one sa više dvostrukih veza (dinezasićene, trinezasićene, itd.) (Hoffmann, 1989.).

Od mononezasićenih masnih kiselina najrasprostranjenije i najvažnije su oleinska i palmitoleinska, a kod polinezasićenih linolna i linolenska, prikazane u **Tablici 2**. NMK su općenito vrlo nestabilne te lako mogu prelaziti u strukturne i geometrijske oblike, a polinezasićene masne kiseline su uz to sklone oksidaciji. Ulja bogata NMK su maslinovo, repičino, suncokretovo te sojino ulje (Swern, 1972.; Saini, 2017.).

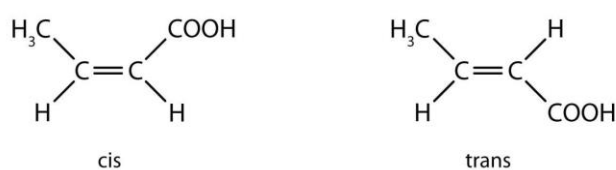
Tablica 2 Važnije nezasićene masne kiseline

Naziv masne kiseline	Broj C atoma:broj dvostrukih veza	Formula
Palmitoleinska	16:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Oleinska	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolna	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolenska	18:3	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}=\text{CH}\cdot(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Arahidonska	20:4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CH}\cdot\text{CH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\cdot\text{COOH}$
Eruka	22:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$

Nezasićene masne kiseline ovisno o prostornoj konfiguraciji dijelova molekule s obje strane nezasićene dvostruke veze mogu postojati u dva geometrijska izomerna oblika prikazana na **Slici 3**. Kod *cis*-oblika

vodikovi se atomi nalaze s iste strane ravnine u odnosu prema dvostrukoj vezi, dok se kod *trans*-oblika nalaze na suprotnim stranama. Iako je kemijski sastav oba oblika isti, po fizikalnim svojstvima vrlo se razlikuju pa se primjerice *trans* masne kiseline tope pri višim temperaturama nego *cis*-oblici (Hoffmann, 1989.).

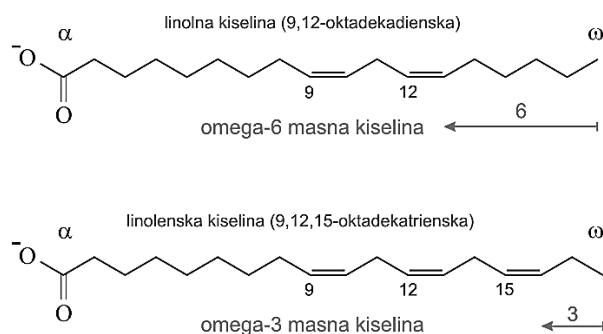
Trans-oblici stabilniji su od *cis*-oblika, a nastaju prilikom rafinacije, termičke obrade te hidrogenacije biljnih ulja. Iz tog razloga kod nerafiniranih biljnih ulja, *trans* masne kiseline ne smiju biti prisutne (Čorbo, 2008.). Također, *trans* oblici masnih kiselina štetni su za ljudsko zdravlje i u malim količinama jer povećavaju rizik od kardiovaskularnih oboljenja smanjujući razine HDL, dok istovremeno rastu razine LDL kolesterola, povećavaju rizik drugih kroničnih oboljenja, dijabetesa i pretilosti (Saini, 2017.).



Slika 3 Izomerni oblici masnih kiselina

Treba napomenuti da u polinezasićene masne kiseline spadaju omega-3 i omega-6 masne kiseline. Omega označava metilni kraj (-CH₃) molekule od kojeg se gleda položaj prve dvostruke veze. Ime omega-3 onda kaže da se prva dvostruka veza nalazi na trećem ugljikovom atomu brojeći od metilenskog (omega) kraja, a kod omega-6 kiselina prva dvostruka veza nalazi se između šestog i sedmog ugljikovog atoma. Primjer omega-6 masnih kiselina su linolna i arahidonska kiselina, dok skupini omega-3 masnih kiselina pripadaju alfa-linolenska kiselina (ALA, 18:3n-3), eikosapentenska kiselina (EPA, 20:5n-3) i dokosaheksaenska kiselina (DHA, 22:6n-3) (Generalić, 2018.).

Linolna i linolenska kiselina, prikazane na **Slici 4**, su esencijalne masne kiseline što znači da ih ljudski organizam ne može sam proizvesti nego ih je potrebno unositi hranom. Vrlo su bitne za normalno funkcioniranje organizma jer, osim što su važan izvor energije, predstavljaju strukturne elemente staničnih membrana, sastojci su lipoproteina krvne plazme, smanjuju koncentraciju triglicerida i kolesterola u krvi, smanjuju upalne procese, rizik srčanih oboljenja i još mnogo toga. Najviše navedenih kiselina nalazi se u ribljim uljima, a od biljnih ulja bogatija su sojino, konopljino, repičino, ulje sjemenki grožđa, bučinih koštica te pšeničnih klica (Katalenić, 2007.).



Slika 4 Strukturna formula omega-3 i omega-6 masnih kiselina (Generalić, 2018.)

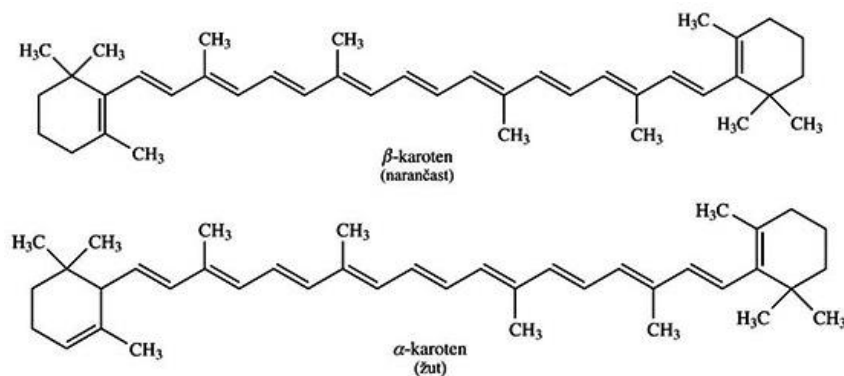
Negliceridni sastojci

Prirodna ulja sadrže oko 2% negliceridnih sastojaka, osim ulja soje i pamuka koji sadrže nešto veće količine. Većina ih se uklanja obradom vodom te u pojedinim fazama rafinacije, što je i cilj za nepoželjne negliceridne sastojke kao što su primjerice tragovi metala jer umanjuju kvalitetu ulja. S druge strane, neki od ovih sastojaka vrlo su bitni pa ih je potrebno maksimalno sačuvati prilikom prerade ulja (O'Brien, 2004.; Swern,1972.).

Negliceridni sastojci su:

- karotenoidi,
- liposolubilni vitamini,
- tokoferoli,
- steroli,
- fosfatidi,
- pigmenti,
- voskovi,
- glikozidi,
- ugljikovodici,
- masni alkoholi,
- aldehidi i ketoni,
- tragovi metala (Moslavac, 2015.).

Karotenoidi spadaju u poželjne negliceridne sastojke. To su pigmenti koji biljnim uljima daju od žute do crvene nijanse boje, a najviše ih ima u palminom ulju, ulju kukuruznih klica te suncokretovom ulju. Uglavnom su prisutni α- i β-karoteni, prikazani na **Slici 5**, koji u organizmu djelovanjem enzima prelaze u vitamin A, imaju provitaminsko djelovanje te štite od UV zračenja. Zbog velikog broja dvostrukih veza vrlo su nestabilni pa im se oksidacijom ili termičkom obradom struktura lako narušava, pri čemu gube svoja kromogena svojstva (Moslavac, 2015.).



Slika 5 Strukturne formule α - i β -karotena

Liposolubilni vitamini (A,D, E i K) također su poželjni sastojci masti i ulja. Vitamini A i D prisutni su samo u životinjskim mastima poput maslaca te kod ulja jetre nekih riba, dok vitamina K ima u sjemenkama soje i konoplje. Također poželjni negliceridni sastojci su tokoferoli, u koje spada vitamin E, odnosno α -tokoferol. Sadržaj tokoferola znatno je veći u biljnim uljima nego životinjskim mastima. Osim α -tokoferola, postoje još tri važna oblika, β -, γ - i δ - tokoferol. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α -tokoferol, a najbolje antioksidacijsko djelovanje δ -tokoferol, što je vidljivo iz **Tablice 3**. Sadržaj tokoferola veći je u ulju dobivenom prešanjem, nego u ulju dobivenom metodom ekstrakcije. S obzirom na to da na prirodan način usporavaju proces oksidacije ulja, potrebno je pažljivo provoditi proces rafinacije, naročito postupke neutralizacije i dekoloracije ulja, kako bi se njihov gubitak sveo na minimum (Čorbo, 2008.; Moslavac, 2015.).

Tablica 3 Biološki aktivitet i antioksidacijsko djelovanje važnijih tokoferola

	Vitaminsko djelovanje (biološki aktivitet)	Antioksidacijsko djelovanje
α-tokoferol	100	100
β-tokoferol	33	110
γ-tokoferol	1	160
δ-tokoferol	1	170

Steroli su policiklički alkoholi, derivati ciklopentanofenantrena, koji dolaze u svim uljima i mastima u koncentraciji do 1%. Prema podrijetlu se dijele na životinjske zoosterole čiji je glavni predstavnik kolesterol, te biljne fitosterole od kojih su najvažniji β - sitosterol, stigmasterol, brasikasterol tekampesterol. Prema vrsti i količini fitosterola moguće je indentificirati pojedino ulje, a također su

bitni zbog sinteze pojedinih hormona. Prilikom rafinacije najviše se gube kod neutralizacije i dezodorizacije (Moslavac, 2015.).

Fosfatidi se sastoje od polivalentnog alkohola glicerola na kojem su vezane masne kiseline te fosforna kiselina esterificirana nekom baznom amino grupom. U biljnim uljima najpoznatiji su lecitin, kefalin te inozitol. Nepoželjni su sastojci ulja jer kao emulgatori prilikom rafinacije povećavaju gubitke na ulju, dovode do potamnivanja ulja, vežu se na površinu opreme te smanjuju rok trajanja ulja. Zbog svega navedenog važno ih je u potpunosti ukloniti (O'Brien 2004.; Moslavac, 2015.).

Pigmenti su poželjni sastojci koji uljima daju boju karakterističnu za sirovinu od koje su dobivena. Najvažniji su klorofil koji daje zelenkastu boju uljima poput ulja konoplje, sojinom, maslinovom i drugim uljima te gosipol, najviše prisutan u pamukovom ulju kojem daje crveno-smeđu boju. Pigmenti se djelomično uklanjaju rafinacijom kako bi ulje dobilo svijetlo-žutu boju koja je prihvaćena od strane potrošača (Čorbo, 2008.).

Voskovi su prema kemijskom sastavu esteri viših masnih kiselina i viših masnih alkohola. Netopljivi su u vodi i prisutni su u uljima u količini do 0,15%. U biljnom ulju pri temperaturama nižim od +5°C kristaliziraju i talože se, a pri višim od +40°C se otapaju i uzrokuju zamućenje. Stoga ih je potrebno ukloniti procesom vinterizacije koji uključuje kristalizaciju i filtraciju voskova.

Od glikozida najpoznatiji su sinalbin prisutan u ulju gorušice te sezamol iz sezamovog ulja. Zbog antioksidacijskih svojstava sezamola, sezamovo ulje ima dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju (Moslavac, 2015.).

Alifatski ugljikovodici prirodno su prisutni u manjim količinama u uljima i mastima. Često imaju neparan broj C atoma, te mogu postojati i u nerazgranatom i u razgranatom obliku. Od polinezasićenih ugljikovodika treba spomenuti skvalen koji je prirodno prisutan u maslinovom ulju te služi za dokazivanje krivotvorenja (Bockish, 1998.).

Od masnih alkohola u uljima i mastima najzastupljeniji su cetil, stearil, oleil, miricil, i butil alkohol.

Aldehidi i ketoni produkti su razgradnje masnih kiselina. Oksidiranim mastima i uljima daju neugodan užegli okus i miris, stoga ukazuju na pad kvalitete ulja (Čorbo, 2013.).

Tragovi metala mogu biti prisutni u sirovim uljima ukoliko ih biljka apsorbira prilikom rasta, ali i u rafiniranim uljima u koja dospijevaju tijekom proizvodnog procesa. Najštetniji su bakar, nikal, željezo i mangan jer ubrzavaju proces oksidacije. Najviše ih se uklanja dekolacijom primjenom aktivne zemlje, a moguće je i korištenje kelatnih spojeva poput limunske i fosforne kiseline (O'Brien 2004.).

2.3. INDUSTRIJSKA KONOPLJA

Konoplja je jednogodišnja zeljasta biljka porijeklom iz središnje Azije, gdje se prvenstveno uzgajala za dobivanje vlakana i medicinske svrhe (Unicomb, 2017.). Pripada rodu *Cannabis* koji uključuje dvije vrste, običnu (industrijsku) konoplju (*Cannabis sativa* L.), prikazanu na **Slici 6**, i konoplju za proizvodnju hašiša (*Cannabis Indica* L.), pri čemu se obična konoplja dijeli na europsku te istočno-azijsku. Jako se dobro prilagođava klimi i tlu pa je njezin uzgoj moguć diljem svijeta. Optimalna temperatura za intenzivan vegetativni rast iznosi oko 20 °C, a može izdržati niske temperature do -4°C (www.agroklub.com). U južnim sunčanim područjima nastala je konoplja za ljekovite i narkotičke svrhe, dok je u sjevernim hladnijim klimatskim uvjetima nastala konoplja za proizvodnju vlakana (Gross-Bošković, 2017.).

Konoplja je uspravna biljka, visine 1-1,5m, ponekad i puno višlja, uglavnom razgranata i dvodomna, rjeđe jednodomna. Dok je biljka mlada stabljika je nježna i zeljasta, pokrivena čekinjastim dlačicama koje kasnije otpadnu te stabljika odrveni. U predjelu cvata listovi su gusto postavljeni, a cvjetovi su smješteni na vrhovima stabljike i bočnih grana. Muški cvjetovi imaju oblik grozda, dok su ženski sjedeći, bez peteljki (De Padua i sur., 1999.).



Slika 6 Industrijska konoplja

Ovisno o sadržaju psihoaktivne komponente Δ -9-tetrahidrokanabinola (poznatiji kao THC), postoje tri tipa konoplje: konoplja s visokim udjelom THC (2-6% THC), konoplja s manjim udjelom THC te konoplja za uzgoj vlakana (manje od 0,25% THC) (Brckan i Katić, 2013.). Uzgoj konoplje u europskim je zemljama bio zabranjen do 1996. godine nakon čega je dozvoljen uzgoj kultivara s udjelom THC nižim od 0,3% (Aladić, 2015.). Industrijska konoplja s udjelom THC manjim od 1% se prema podacima FAO iz 2011. godine uzgaja u 14 zemalja svijeta, primjerice u Kini, Čileu, Francuskoj, Njemačkoj i Ukrajini, a

proizvodnja i korištenje sjemena i ulja konoplje raste u Sjevernoj Americi, Turskoj i Španjolskoj (Brckan i Katić, 2013.; Moslavac i sur., 2019.). Uzgoj konoplje u svijetu otežavaju zakonski propisi koji su za svaku državu različiti pa je tako u Kanadi dozvoljen uzgoj konoplje sa sadržajem THC do 0,3%, dok je na području Europske Unije dopušten uzgoj kultivara sa sadržajem THC ispod 0,2%. Izuzetak je Švicarska u kojoj sadržaj THC smije iznositi i do 1% (Hazekamp, 2018.).

Što se tiče Republike Hrvatske konoplja se može proizvoditi za prehranu ljudi i hranidbu životinja samo uz dozvolu Ministarstva poljoprivrede, sukladno Pravilniku o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje i promet opojnih droga u veterinarstvu (NN 18/12, 57/16 i 39/19 - Zakon o izmjenama i dopunama zakona o suzbijanju zlouporabe droga). Isključivo je dozvoljen uzgoj sorti konoplje kojima sadržaj THC u suhoj tvari biljke ne prelazi 0,2% i to one koje su upisane u Sortnu listu Republike Hrvatske u skladu sa Zakonom o sjemenu, sadnom materijalu i priznavanju sorti poljoprivrednog bilja (NN140/05, 35/08, 25/09, 124/10, 55/11) (Gross-Bošković, 2017.).

Unatoč svim zakonskim zaprekama, interes za proizvodnju industrijske konoplje sve više raste. U svim industrijskim granama konoplja ima jako veliku primjenu, a postoji podatak da se cijela biljka može koristiti za dobivanje više od 25000 različitih proizvoda. Drvenasti dio konoplje koristi se za proizvodnju papira iznimne kvalitete koji se onda koristi u proizvodnji papira za cigarete, filter papir za kavu i čaj ili kao posebni papir za slikarstvo. Također se koristi za proizvodnju plastičnih dijelova automobilske industrije, u tekstilnoj industriji, kao termalna izolacija i u drugim proizvodima građevinskog materijala te u proizvodnji elektroničke opreme. Prisutna je i u životinjskoj hrani, ljudskoj prehrani u obliku ulja ili kapsula, medicinskim preparatima te proizvodima za njegu tijela (Small i Marcus, 2002.).

2.3.1. Sjemenka industrijske konoplje

Plod konoplje je sjemenka sivo zelenkaste boje, izvana obavijena sjajnom ovojnicom, odnosno perikarpom na kojem je vidljiva mrežasta struktura (Dimić, 2005.). Oblik sjemenke varira od kuglastog do izduženog, u punoj zrelosti ovojnica joj je prilično tvrda, a veličina sjemenke najčešće je približna glavi šibice (Aladić, 2015.). Sjemenka sadrži 20-25% visoko probavljivih bjelančevina, 20-30% ugljikohidrata, 10-15% vlakana, a sadržaj ulja varira od 28 do 35% (**Tablica 4**), ovisno o agroekološkim uvjetima (Aladić i sur., 2014.; Čorbo, 2008.; Oomah i sur., 2002.). Također je bogata mineralima osobito fosforom, kalijem, magnezijem, sumporom, kalcijem, željezom, cinkom, te sadrži vitamine A (β -karoten), B1, B2, B3, B6, D i E (α - i γ -tokoferol), koji su dostupni u lako probavljivom obliku (Aladić 2015.; Callaway i Pate, 2009.). Proteini konoplje sadrže svih 20 poznatih aminokiselina, uključujući 9 esencijalnih aminokiselina, što ju, uz sve navedeno čini nutritivno vrlo vrijednom namirnicom (Moslavac i sur., 2019.). Iz sjemenki je moguće dobiti 60-80% ulja što je vrlo dobro iskorištenje u

usporedbi s proizvodnjom drugih prešanih ulja poput primjerice repičinog ili maslinovog ulja (Gross-Bošković, 2017.). Pogača konoplje koja zaostaje nakon prešanja također je bogata mineralima poput fosfora, kalija, magnezija, kalcija i željeza, ali i proteinima što ju čini pogodnom za proizvodnju životinjske hrane ili kao dodatak nekim funkcionalnim proizvodima (Radočaj i sur., 2011.).

Tablica 4 Prosječni kemijski sastav sjemenke konoplje (Callaway, 2010.)

	Cijela sjemenka	Oljuštena sjemenka	Pogača
Ulje (%)	36	44	11
Bjelančevine (%)	25	33	34
Ugljikohidrati (%)	28	12	43
Vlaga (%)	6	5	5
Pepeo (%)	5	6	7
Energija (kJ/100g)	2200	2093	1700
Ukupna prehrambena vlakna (%)	28	7	43
Probavljiva vlakna (%)	6	6	16
Neprobavljiva vlakna (%)	22	1	27

2.3.2. Ulje industrijske konoplje

Kemijskom analizom konopljinog ulja u kasnom 19. stoljeću prvi je puta identificirana linolenska kiselina kao glavna komponenta ulja. To je otkriće uzrokovalo veliki interes znanstvenika za detaljniju analizu sastava masnih kiselina konopljinog ulja početkom 20. stoljeća (Callaway i Pate, 2009.).

U usporedbi s drugim nerafiniranim uljima, ulje konoplje sadrži vrlo visok udio esencijalnih masnih kiselina (**Tablica 5**), od kojih je u najvećoj mjeri zastupljena linolna kiselina (C18:2 ω 6) oko 55%, a potom α -linolenska kiselina (C18:3 ω 3) u količini oko 20% (Callaway i Pate, 2009.). Omjer poželjnih omega-3 i omega-6 masnih kiselina u konopljinom ulju iznosi 1:3 što se smatra optimalnim omjerom za ljudsku prehranu i zdravlje (Da Porto i sur., 2012.; Mikulcova i sur., 2017). Udio polinezasićenih masnih kiselina iznosi 80-81% što čini konopljino ulje jednim od bogatijih izvora, a od njih su još bitne γ -linolenska (C18:3 ω 6) i stearidonska (C18:4 ω 3) kiselina, čiji udjeli variraju ovisno o sorti te uvjetima

uzgoja. Udio mononezasićenih kiselina iznosi 10-15%, a zasićenih 9-11% od kojih su uglavnom prisutne palmitinska i stearinska kiselina (Sapino i sur., 2009.).

Tablica 5 Sastav značajnijih masnih kiselina u ulju konoplje prema nekim autorima

Masne kiseline	Ulje konoplje (%)			
	Callaway i Pate (2009.)	Da Porto i sur. (2012.)	Leizer i sur. (2000.)	Oomah i sur. (2002.)
Palmitinska (C16:0)	5,00	5,19	6	6,60
Stearinska (C18:0)	2,00	1,57	1,5	2,70
Oleinska (C18:1)	9,00	10,99	10,5	10,1
Linolna (C18:2ω6)	56,00	59,77	57	54,3
α-linolenska (C18:3ω3)	22,00	18,15	20	19,1
γ-linolenska (C18:3ω6)	4,00	3,42	3,5	3,6
Stearidonska (C18:4 ω3)	2,00	-	-	-
Arahinska (C20:0)	-	-	0,59	0,90
Eikosenoinska (C20:1)	-	0,78	0,51	-
Behenska (C22:0)	-	0,13	-	0,4
Omjer ω3/ω6	2,50	3,29	2,85	n.p.

- nije određivano; n.p - nije prikazano

Konopljino ulje je također bogat izvor bioaktivnih komponenata poput tokoferola i tokotrienola, sažetim pod pojmom vitamin E. Prisutni su u koncentraciji 100-150 mg/100 g ulja i to pretežito γ -tokoferol, dok je α -tokoferol prisutan samo u tragovima, no unatoč tome, oba imaju važnu ulogu u

sprječavanju oksidacije masnih kiselina te pridonose smanjenju rizika od kardiovaskularnih bolesti i tumora. Tokoferoli su efektivni pri niskim koncentracijama u ulju, dok pri višim postupno gube svoja antioksidacijska svojstva. Takvo ponašanje najviše pokazuje α -tokoferol, no uočeno je i kod drugih tokoferola. U biljnim uljima nalaze se u optimalnim količinama za njihovu oksidacijsku stabilnost. Vrlo je teško obogatiti biljna ulja tokoferolima zbog postojanja optimalnih granica koje osiguravaju maksimalnu zaštitu ulja. Osim toga nutritivnoj vrijednosti ulja doprinose i drugi sastojci ulja, kao što β -sitosterol, metilsalicilat, terpeni i kanabinoidi koji također imaju pozitivne učinke na zdravlje. Neki terpeni poput mircina imaju antioksidativne učinke, metil salicilat ima antiupalna i analgetska svojstva, farmakološki slična aspirinu, dok β -sitosterol smanjuje udio kolesterola u krvi te djeluje i antivirusno i antiupalno (Leizer i sur., 2000.).

Osim u prehrani, ulje konoplje također se koristi i u kozmetici zbog antimikrobnog i antiupalnog djelovanja. Dobro se upija u kožu pa je pogodno kao sastojak krema gdje pridonosi uravnoteženju pH i vlažnosti kože, sprječava starenje kože, te djeluje antioksidacijski (Brckan i Katić, 2013.).

Hladno prešano konopljinu ulje je ugodnog orašastog okusa. Boja varira od svijetlozelene do tamnozelenene, a potječe od klorofila i karotenoida iz ljuske (Aladić, 2014.). Iako ga bogat sastav nezasićenih masnih kiselina čini nutritivno vrlo vrijednim uljem, oksidacijska stabilnost hladno prešanog konopljinog ulja pokazala se lošom prilikom skladištenja i procesiranja (Unicomb., 2017.). Naime, visok udio nezasićenih veza dovodi do reakcija s atmosferskim kisikom, odnosno oksidacije, pri čemu ulja postaju užegla i gube svoja nutritivna i upotrebna svojstva (Dimić i sur., 2009). Također se ne preporuča ulje izlagati temperaturama iznad 180 °C, nego ga koristiti kao salatno, dodavati ga u preljeve, svježe sokove, proteinske i druge napitke (Dimić, 2005.). Hladno prešano konopljinu ulje treba skladištiti na hladnim i tamnim mjestima, prije, tijekom i nakon proizvodnje kako bi mu se sačuvala visoka kvaliteta. Poželjno je da se puni u staklene boce manjeg volumena, kao što se radi na većini Europskih tržišta, jer je u tim uvjetima ulje manje podložno degradaciji (Callaway, 2010).

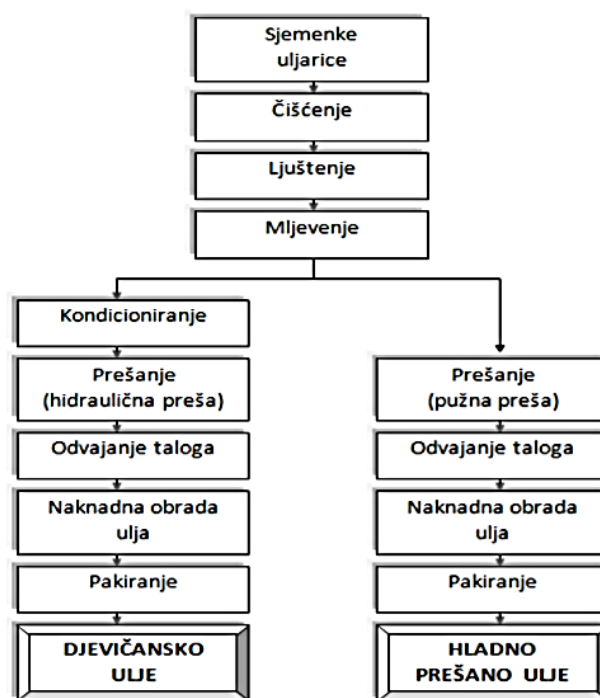
2.4. PROCES PROIZVODNJE HLADNO PREŠANOG BILJNOG ULJA

Hladno prešana ulja su proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina prešanjem bez primjene topline (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, NN 11/19).

Da bi sjemenka određene uljarice mogla ići u proces proizvodnje ulja, ona prethodno mora biti očišćena od lišća i drugih biljnih dijelova kao i stranih nečistoća koje bi mogle uzrokovati zagrijavanje tijekom skladištenja. Ukoliko će skladištenje trajati duže vrijeme, sjemenku je potrebno osušiti do odgovarajućeg udjela vlage. Skladišta moraju biti čista i osiguravati najpovoljnije uvjete za očuvanje najvrjednijih sastojaka sjemenki uljarica (Swern, 1972.).

Sam proces proizvodnje, prikazan na **Slici 7**, može se podijeliti u dvije faze:

1. Priprema sirovine za prešanje,
2. Proizvodnja ulja prešanjem.



Slika 7 Proces proizvodnje djevičanskog i hladno prešanog biljnog ulja (Aladić, 2015.)

2.4.1. Priprema sirovine za prerađu

Priprema sirovine za prerađu mora omogućiti lako izdvajanje ulja iz sirovine (sjemenke, koštice ili ploda) uz istovremeno očuvanje hranjivih tvari te biološke vrijednosti same uljarice. Operacije koje spadaju u pripremu su čišćenje, ljuštenje, mljevenje te kondicioniranje, odnosno toplinsku obradu koja se kod hladnog prešanja ne koristi jer nema primjene topline (Čorbo, 2008.).

Svrha čišćenja je potpuno uklanjanje nečistoća koje bi mogle onečistiti sirovo ulje ili oštetiti uređaje za preradu. Uređaji koji se koriste za čišćenje sjemenki rade na mehaničkim, pneumatskim ili magnetskim principima. Koriste se sita različitih oblika i izvedbi (ravna, cilindrična, vibrirajuća, rotacijska itd.), aspiratori koji odvajaju nečistoće na temelju različitih aerodinamičkih svojstava te permanentni magneti ili elektromagneti za odvajanje komadića željeza i drugih metala (Van Doosselaere, 2013.).

Kada je sjemenka očišćena od raznih nečistoća slijedi odvajanje ljuske od jezgre, pri čemu je vrlo bitno paziti da se dio jezgre ne odvoji s ljuskom jer će to uzrokovati gubitke na ulju. Nakon ljuštenja dio ljuske zaostaje uz jezgru što olakšava cijedenje ulja prilikom prešanja. Metode ljuštenja mogu biti biološke, kemijske i mehaničke. U industriji se najčešće koriste mehaničke metode, odnosno uređaji ljuštilice čija je tehnička izvedba prilagođena pojedinoj vrsti uljarice (Čorbo, 2008.). To mogu biti mlinovi čekićari, valjci, rotirajuće ploče ili noviji uređaji koji rade na principu pneumatskog udara. Prešanje je moguće odraditi i bez prethodnog ljuštenja sjemenki, no preporuča se radi bolje kvalitete ulja i pogače kao i porasta kapaciteta i iskorištenja preše.

Mljeti se može cijela sjemenka s ljuskama ili samo jezgre sjemenki, odnosno nije nužno da mljevenju prethodi operacija ljuštenja. Zadaci mljevenja su:

- razaranje biljnog tkiva radi lakšeg izdvajanja ulja,
- postizanje optimalne veličine čestica koja omogućuje lakše istjecanje ulja,
- jednolika meljava kojom se održava konstantan režim daljnje prerade.

Za mljevenje se koriste mlinovi različitih konstrukcija koji su opet prilagođeni tipu uljarice. Mlinovi mogu biti kameni i metalni, a s obzirom na konstrukciju dijele se na mlinove čekićare, mlinove na ploče te mlinove na valjke. Posljednji se najčešće koriste za mljevenje sjemenki uljarica, a mogu imati jedan, dva ili tri para valjaka ili se valjci mogu nalaziti jedni iznad drugih pa govorimo o trovaljcima i peterovaljcima (Moslavac, 2015.).

2.4.2. Prešanje

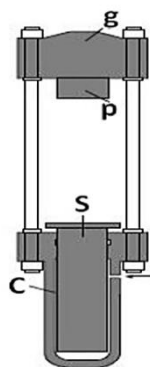
Prešanje je najstariji način proizvodnje ulja, kod kojeg se mehaničkim putem primjenom visokih tlakova vrši izdvajanje ulja iz prethodno pripremljene sirovine. Zahtjevi prešanja su:

- da ulje nakon prešanja zadrži svoja prirodna svojstva,
- da sadrži manje nepoželjnih sastojaka, kako bi se prilikom rafinacije moglo obrađivati blažim sredstvima,
- da je ulje dobre kvalitete, ugodnog mirisa i okusa karakterističnog za sirovinu (Čorbo, 2008.).

Nusproizvod prešanja koji se sastoji od ostataka sjemenki ili plodova uljarice naziva se pogača. S obzirom na to da pogače nakon prešanja uvijek sadrže određenu količinu ulja, preporučljivo je dvostruko prešanje ili još bolje ekstrakcija organskim otapalom za što veće iskorištenje ulja. Pogače sadrže znatne količine hranjivih tvari od kojih su najznačajnije bjelančevine, stoga se mogu koristiti kao hrana za ljude ili životinje (Rac, 1964.).

Hidraulične preše

Hidraulične preše (**Slika 8**) prve su strojne preše industrijskog tipa. Prema načinu slaganja materijala mogu biti otvorenog i zatvorenog tipa. Princip rada ovih preša zasniva se na Pascal-ovom zakonu koji kaže da se tlak u tekućinama širi na sve strane podjednako čime se od malih sila mogu dobiti veliki tlakovi, promjenom promjera i površine na koju te sile djeluju. Danas se hidraulične preše rijetko primjenjuju, uglavnom za proizvodnju maslinovog i bučinog ulja te preradu kakaovca (Čorbo, 2008.).

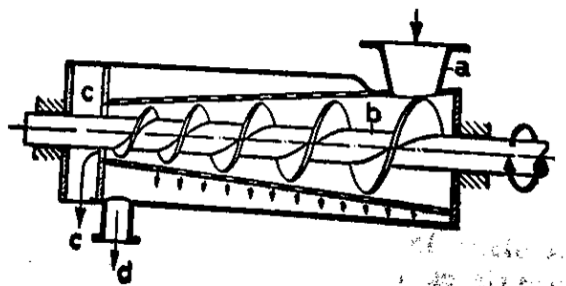


tlačni cilindar (C), stap (S) i glava preše (g) s protustapom (p)

Slika 8 Shema hidraulične preše (Aladić, 2015.)

Pužne preše

Pužne preše danas imaju najširu primjenu u industriji ulja. Sastoje se od kućišta, vodoravnog puža na glavnoj osovini, koša oko puža, uređaja za punjenje i doziranje materijala te uređaja za regulaciju debljine pogače (**Slika 9**). Snažna pužnica potiskuje sjemenke iz većeg zatvorenog prostora u manji pri čemu dolazi do porasta tlaka i cijedenja ulja. Kontinuirane pužne preše mogu se koristiti kao predpreše ili završne (jednokratne) preše. Kao predpreše koriste se u uljarama većeg kapaciteta kod dvostrukog prešanja ili kombinacije prešanja i ekstrakcije. Način pripreme materijala, konstrukcija preše te procesni parametri poput temperature, tlaka i vremena trajanja najvažniji su čimbenici koji utječu na uspješnost prešanja (Moslavac, 2015.).



Slika 9 Shema kontinuirane pužne preše (a-ulaz materijala, b-perforirano konusno kućište s pužnom osovinom, c-izlaz pogače, d-izlaz ulja) (Stričević, 1977.)

Kod proizvodnje hladno prešanih ulja temperatura ulja ne smije prelaziti 50 °C, no zbog trenja materijala prilikom prešanja dolazi do porasta temperature. Iz tog je razloga bitno pažljivo kontrolirati proces korištenjem posebno konstruiranih preša ili provoditi prešanje pri nižim tlakovima (Bockisch, 1998.).

2.4.3. Čišćenje sirovog ulja

Sirovo ulje nakon prešanja sadrži razne netopljive nečistoće, vodu i sluzne tvari koje je potrebno ukloniti kako bi se spriječilo njihovo nepovoljno djelovanje na senzorska svojstva i kvalitetu ulja. U netopljive nečistoće ubrajaju se masna prašina i dijelovi sjemenki uljarica različitih veličina. Iz ulja se uklanjaju taloženjem (sedimentacijom) i filtracijom koja se može provesti na više načina.

Taloženje (sedimentacija) odvija se na prirodan način u rezervoarima u kojima se netopljive čestice kao specifično teže od ulja talože na dno. Zbog velike viskoznosti ulja kao i male razlike u specifičnim težinama, ovaj proces može trajati danima pa čak i tjednima.

Kod filtracije se sirovo ulje propušta kroz filtere uređaja različitih konstrukcija pri čemu se nečistoće zadržavaju na njegovoj površini. Filter može biti izrađen od različitih tkanina, sintetičkih vlakana, metalnih sita, azbesta i drugih materijala. Vibracijska sita rade kontinuirano, a odvajaju grublje nečistoće. Sirovo ulje ulazi u sito i vibracijom prolazi kroz njega, a talog zaostaje na površini i ispada van na višoj strani sita. Filter preše sastoje se od niza ploča ili okvira na kojima se nalazi filtracijsko platno. Rade diskontinuirano jer se moraju čistiti od nakupljenog taloga, a za filtraciju se koriste pumpe. Imaju veliku površinu za filtriranje, jednostavnih su konstrukcija i jednostavno je rukovati njima.

Brzina filtracije veća je na filtracijskim centrifugama koje rade na principu centrifugalne sile. Sastoje se od rotirajućeg perforiranog bubnja preko kojeg je prebačeno filtracijsko metalno platno. Koriste se za grubu filtraciju, a postoje dva tipa centrifuga za filtriranje tj. s okomitom osovinom kod koje talog ide van kroz dno centrifuge te s vodoravnom osovinom kod koje se talog direktno izbacuje iz bubnja.

Najbrže i najfinije odvajanje postiže se centrifugalnim separatorima koji rade na principu taloženja centrifugalnom silom. Oni mogu biti s rotorom u obliku bubnja, u obliku tanjura ili u obliku cijevi. Rade kontinuirano, imaju veliki kapacitet, no cijena im je visoka (Čorbo, 2008.).

2.5. PAKIRANJE I SKLADIŠTENJE BILJNIH ULJA

Jestiva biljna ulja osjetljiv su prehrambeni proizvod čija se kvaliteta vrlo lako mijenja utjecajem kisika, temperature, svjetlosti i drugih čimbenika. Osim toga lako upijaju razne mirise pa je bitno upotrijebiti odgovarajući ambalažni materijal te ih pravilno skladištiti. Pakiranje i skladištenje provodi se pri niskim temperaturama, u odsutnosti svjetla i bez mogućnosti ulaska stranih tvari bilo iz okoline ili ambalažnog materijala. Skladišta moraju biti suha, prozračna, toplinski izolirana i bez direktnog dnevnog svjetla. Prije punjenja u ambalažu ulja se drže u rezervoarima, koja mogu biti od različitih materijala, no najčešće su od inoksa. Rezervoare treba redovito čistiti i ne držati ih polupraznima jer ulje na stjenkama brže oksidira (Rac, 1964.).

Kvalitetna ambalaža mora zadovoljiti sljedeće uvjete:

- onemogućiti interakciju s proizvodom,
- potpuno zaštititi proizvod,
- imati dobra barijerna svojstva prema plinovima, vodenoj pari i svjetlosti,
- imati odgovarajuću termokemijsku otpornost pri preradi i punjenju,
- imati dobra fizičko-mehanička svojstva,
- lako se otvarati,
- pružiti sve potrebne informacije na deklaraciji.

Za pakiranje ulja najčešće se upotrebljavaju staklo, polimerni materijali te kombinacije materijala. Staklo je dobro prihvaćeno od strane potrošača, kemijski je inertno i nepropusno za vlagu i plinove. No unatoč tim pozitivnim svojstvima, ne primjenjuje se često zbog lake lomljivosti, težine i stalnog prikupljanja i pranja, a također je i selektivno propusno za svjetlost. Često se koristi za pakiranje visokovrijednih ulja kao što su hladno prešana, i to staklo smeđe ili zelene boje kako bi se onemogućio prolazak ultraljubičastih zraka (Čorbo, 2008.).

Danas ćemo većinu ulja u trgovačkim centrima pronaći u plastičnim prozirnim bocama, uglavnom od polivinilklorida (PVC), jer je proizvodnja automatizirana i jeftina, ambalaža je lagana te može biti različitih oblika. Boce se nakon punjenja prebacuju na čepljenje, etiketiranje i pakiraju se za daljnji transport ili skladištenje (Rac, 1964.).

2.6. VRSTE KVARENJA BILJNIH ULJA

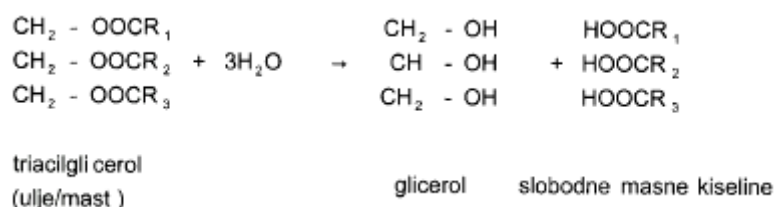
Neovisno o tome jesu li sastavni dio neke sirovine ili prehrambenog proizvoda, ulja podliježu nepoželjnim promjenama, što ograničava vrijeme njihovog trajanja te dolazi do kvarenja, a kada će ono nastupiti ovisi o vrsti sirovine, kemijskom sastavu, uvjetima prerade te skladištenju. Neovisno o vrsti kvarenja, rezultat je u konačnici isti – dolazi do promjena ogranoleptičkih svojstava i promjene nutritivne vrijednosti, uslijed promjene ili gubitka jednog dijela biološki aktivnih tvari poput esencijalnih masnih kiselina, provitamina, vitamina i dr., čiji produkti razgradnje (ketoni) uzrokuju neugodan miris i okus ulja. S obzirom na negativne posljedice po zdravlje, ulja promijenjene kakvoće ne koriste se u prehrani, već se upotrebljavaju u tehničke svrhe, zbog čega je vrlo važno da se od trenutka proizvodnje do konačne potrošnje sačuva njihova kvaliteta. Kvarjenje masti predstavlja vrlo važno područje lipida, koje se i danas proučava.

Danas su poznata dva osnovna tipa kvarenja biljnih ulja:

- Enzimski i mikrobiološki procesi (hidrolitička razgradnja i β -ketooksidacija) i
- Kemijske reakcije (autooksidacija, termooksidacijske promjene, reverzija).

2.6.1. Enzimski i mikrobiološki procesi

Ova vrsta kvarenja javlja se kod ulja koja posjeduju odgovarajuće uvjete za njihov razvoj, kao npr. vodu ili određenu pH vrijednost itd. U prisutnosti vode lipolitički enzimi uzrokuju hidrolizu esterske veze triacilglicerola (TAG) uz oslobađanje 1 – 3 molekule masnih kiselina i glicerola, što posljedično dovodi do povećanog udjela slobodnih masnih kiselina (SMK) u ulju, kao što je prikazano na **Slici 10**. Proces koji uzrokuju enzimi značajno se razlikuju od procesa do kojih dolazi djelovanjem mikroorganizama. Prvi su karakteristični za ulja i masti u samoj sirovini, dok se drugi odnose na ulja, masti te proizvode koji ih sadrže u velikoj mjeri.



Slika 10 Hidroliza triacilglicerola (izvor Čorbo, 2008.)

HIDROLITIČKA RAZGRADNJA

Do ove vrste kvarenja dolazi u prisutnosti vode i lipolitičkih enzima (lipaze), a ubrzava ga porast temperature. Za aktivnost lipaze optimalna temperatura iznosi 45°C, dok se proces ubrzava već pri

temperaturama iznad 55°C, a pri temperaturama višim od 80°C i nižim od -20°C dolazi do inaktivacije enzima te je hidrolitička razgradnja spriječena. Enzimsko kvarenje tipično je za ulja i masti u samoj sirovini, maslacu, margarinu, životinjskom masnom tkivu te nekim vrstama mesnih i mliječnih proizvoda s većim udjelom vode. Stupanj nastalih hidrolitičkih promjena prati se određivanjem sadržaja slobodnih masnih kiselina (SMK). Stoga se prilikom rafiniranja višak slobodnih masnih kiselina u uljima mora odstraniti, odnosno svesti na dozvoljenu razinu propisanu Pravilnikom. Vrlo je važno spriječiti povećanje sadržaja SMK u ulju sjemena, jer se neutralizacijom (faza rafiniranja u kojoj se uklanjaju SMK) gubi i određena količina neutralnog ulja pa je iskorištenje na jestivom ulju značajno smanjeno. Usporedbe radi, maksimalni sadržaj slobodnih masnih kiselina kod masti životinjskog porijekla iznosi 0,85%. Budući da u masnom tkivu ubrzo dolazi do porasta SMK, ono se mora odmah otopiti ili uskladištiti pri nižoj temperaturi. Ukoliko dođe do povećanja SMK u gotovim proizvodima, odnosno maslacu, margarinu i dr., one postaju neupotrebljive u prehrani, promijenjenog neugodnog okusa i mirisa. Maslac, primjerice, sadrži niskomolekularne kiseline (C₄ do C₁₀), koje slobodne čak i u malim količinama daju neugodan, sapunasti okus. Istraživanja su pokazala da već 1 µg kaprilne ili 10 µg kaprinske kiseline u 1 g masti uzrokuje značajne promjene organoleptičkih svojstava. Sve namirnice koje sadrže masti/ulja, kod kojih se mogu pojaviti ove promjene, potrebno je čuvati na temperaturi od +5°C.

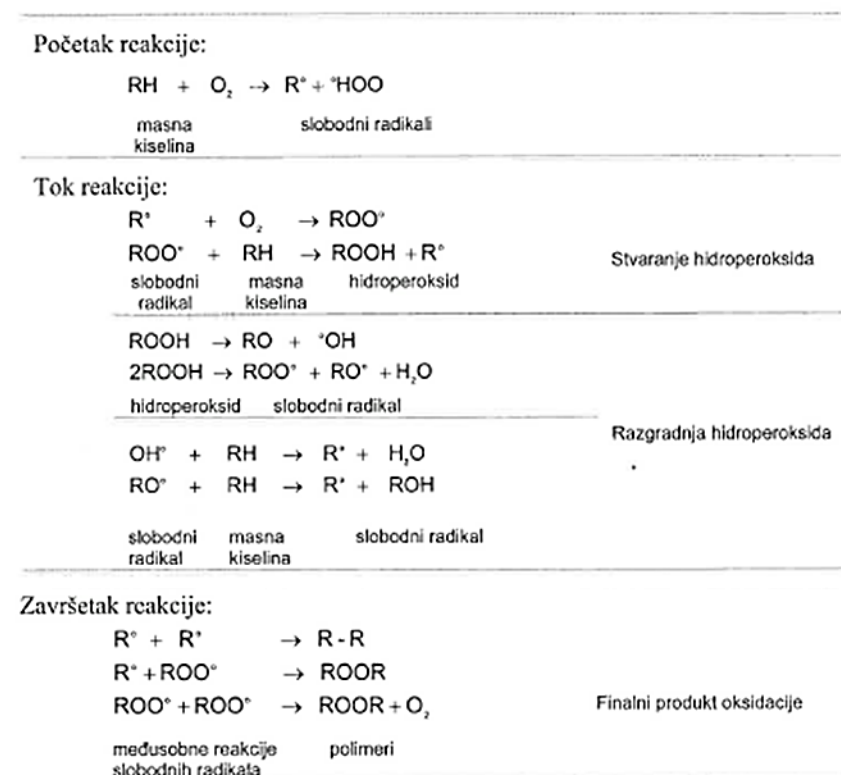
MIKROBIOLOŠKO KVARENJE

Mikrobiološko kvarenje karakteristično je za sve vrste masnoća, odnosno proizvode koji sadrže veću količinu masti, a okarakterizirano je hidrolitičkom razgradnjom i β-ketooksidacijom. Gljivice roda *Aspergillus* i *Penicillium* te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis* uzrokuju kvarenje β-oksidacijom kod masti koje u svom sastavu sadrže kiseline kratkih ili srednje dugih lanaca, pri čemu dolazi do pojave neugodnog mirisa i okusa (užeglost), a neki mikroorganizmi također stvaraju i žute, crvene ili plavozelene pigmente, što rezultira obojenjem masti. U prisutnosti kisika iz zraka, mikroorganizmi „napadaju“ zasićene masne kiseline i to metilensku skupinu u β – položaju prema karboksilnoj skupini, otkuda i potječe naziv reakcije. Ovakvim djelovanjem mikroorganizama dolazi do nastanka β – keto kiselina kao primarnih produkata i metil ketona kao sekundarnih produkata reakcije. U prisutnosti vode, iz β – keto kiseline mogu nastati i dvije masne kiseline, umjesto metil ketona (npr. nastanak maslačne i octene kiseline iz kaprinske kiseline), na temelju čega je moguće zaključiti da tip nastalih produkata ovisi i o uvjetima sredine. Za ovu vrstu kvarenja karakterističan je vrlo neugodan miris – miris užeglosti. Postupkom pasterizacije i/ili sterilizacije te regulacijom pH vrijednosti ulja do vrijednosti 5, uz dodatak određenih aditiva poput konzervansa, sprječava se razvoj mikroorganizama, odnosno β-oksidacija.

2.6.2. Kemijske reakcije

AUTOOKSIDACIJA

Proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masnih kiselina naziva se autooksidacija i najvećim je dijelom odgovoran za kvarenje masti, odnosno ulja. Autooksidacija ulja i masti zapravo predstavlja lančastu reakciju stvaranja slobodnih radikala, kako je prikazano na **Slici 11**.



Slika 11 Autooksidacija masti (Izvor: Čorbo, 2008.)

Reakcija se (**Slika 12**) odvija na način da kisik iz zraka u pvoj fazi, koja se naziva inicijacija, djeluje na nezasićene masne kiseline (RH) te se stvaraju slobodni radikali (R^\bullet). U drugoj fazi (propagaciji) iz slobodnih se radikala stvaraju hidroperoksidi (ROOH) i slobodni radikali peroksida (ROO^\bullet) vezivanjem kisika na slobodne radikale masnih kiselina (R^\bullet). Primarni produkti oksidacije, odnosno hidroperoksidi, koji su katalizatori ove reakcije, dalje se razgrađuju na slobodne radikale pod utjecajem temperature (RO^\bullet , ROO^\bullet i dr.) i razgradne produkte oksidacije (aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, oksimasne kiseline, epoksidi i dr.). U završnoj fazi (terminaciji) međusobnom reakcijom slobodnih radikala nastaju polimeri, poput R-R i ROOR, koji nisu nestabilni kao slobodni radikali pa njihovim nastankom proces autooksidacije usporava. Produkti autooksidacije već u malim količinama uzrokuju neugodan okus i miris, a također dolazi i do gubitka esencijalnih masnih kiselina, vitamina i provitamina. Tako oksidirane masti imaju toksičan učinak te je preporučljivo izbjegavati dugu upotrebu masti/ulja kod

dubokog prženja velike količine hrane. Količina hidroperoksida vrlo je mala u prvoj fazi oksidacije te ne ostvaruje utjecaj čak niti na organoleptička svojstva, kao ni na prehrambenu vrijednost, a naziva se još i period indukcije. Kako se količina peroksida povećava, reakcija ubrzava, hidroperoksidi se razgrađuju složenim reakcijama te dolazi do stvaranja sekundarnih produkata oksidacije, koji mogu biti stabilni intermedijarni produkti ili stabilni produkti oksidacije – aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, epoksidi i dr. Uslijed navedenog dolazi do pojave neugodnog mirisa i okusa oksidirane masti.



Slika 12 Faze autooksidacije masti (Izvor: Čorbo 2008.)

Hoće li do autooksidacije doći prije ili kasnije, ovisi o sastavu masti, uvjetima čuvanja te prisutnim sastojcima koji mogu ubrzati ili usporiti ovu reakciju. Mogu ju ubrzati određeni faktori, koji se nazivaju prooksidansi, a to su temperatura, svjetlo i tragovi metala (Cu, Fe, Ni i dr.). Autooksidacija ubrzava se poratom temperature, a snižavanjem se smanjuje, no unatoč tomu ne može se u potpunosti spriječiti, zbog čega npr. masno tkivo užegne nakon određenog vremena, bez obzira što se čuvalo na vrlo niskim temperaturama. Autooksidacija se naglo ubrzava pri temperaturi od 100°C (čak do 300 puta), ovisno o količini dostupnog kisika. Utjecaj temperature naročito je naglašen kod biljnih ulja s visokim sadržajem polinezasićenih masnih kiselina, jer povišena temperatura ubrzava djelovanje kisika na nezasićene masne kiseline i razgradnju hidroperoksida. Proces se može usporiti čuvanjem na niskim temperaturama, u tamnim i hladnim prostorijama na temperaturi od 0 do 4°C.

Svjetlost također ubrzava reakciju te se preporučuje čuvanje ulja u tamnoj ambalaži i zatamnjenom prostoru, bez prisutnosti dnevnog svjetla. Svjetlost kraće valne duljine < 380 nm u većoj mjeri ubrzava oksidaciju jer pospješuje reakciju autooksidacije i razgradnju hidroperoksida. Utjecaj vidljivog dijela spektra važan je za održivost jestivih ulja i masti, ali u manjoj mjeri u usporedbi s nižim valnim duljinama. Jedan od načina sprječavanja utjecaja svjetla na autooksidaciju masti i povećanje održivosti ulja je pakiranje u ambalažu nepropusnu za svjetlo.

Kod već nastalih hidroperoksida, ioni metala poput Cu, Fe i Ni, čak ako su prisutni u malim količinama, imaju prooksidativno djelovanje, što se pak može spriječiti dodavanjem određenih sinergista poput

limunske kiseline, lecitina i sl. Kod djelovanja iona metala na hidroperokside dolazi do oksidacije iona metala i stvaranja hidrosil iona i slobodnog radikala. Prooksidativno djelovanje pojedinih iona metala nije jednako, no iako postoje razlike u mišljenjima, jedan od prijedloga za intenzitet katalitičkog djelovanja metala je: $Cu > Mn > Fe > Cr > Ni > Zn > Al$. Njihov negativan utjecaj može se spriječiti dodavanjem kemijskih spojeva, inaktivatora metala, koji se vežu na tragove metala u komplekse, poznatije pod nazivom kelati. Nastaje prstenasta struktura, gdje je metal vezan između dva atoma jedne molekule i kao takav više ne djeluje katalitički na razgradnju hidroperoksida. Biljna i animalna tkiva sadrže veći broj tvari koje su prooksidanski (klorofil, hem-spojevi, hem-spojevi, enzimi, lipoksidaze i dr.). Klorofil, primjerice, djeluje kao prooksidans samo u prisustvu svjetla (fotokemijska oksidacija) (Oštrić– Matijašević i Turkulov, 1980.).

TERMOOKSIDACIJSKE PROMJENE MASTI

Osim oksidacije, pri zagrijavanju masti i ulja na više temperature iznad 150° , u prisustvu zraka, dolazi i do termooksidacijskih promjena. Stupanj termooksidacijskih promjena ovisi i o vrsti masti/ulja, temperaturi i dužini zagrijavanja. Nakon određenog vremena, kada su ulja izložena višim temperaturama, u njima će se uz produkte oksidacije naći i produkti termooksidacije (cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri triglicerida, oksipolimeri i dr.). Više produkata termooksidacije nastaje ukoliko je stupanj nezasićenosti veći, pa tako kod ulja s većim sadržajem linolne kiseline (preko 50%) stvaranje novih spojeva nastupa vrlo brzo te već nakon 10 – 20 sati zagrijavanja pri $170 - 180^{\circ}$ ova ulja više nisu upotrebljiva. Paralelna istraživanja termooksidativnih promjena nekoliko vrsta ulja prilikom prženja krumpira, pokazala su da je suncokretovo ulje najosjetljivije, jer sadrži čak 60 – 75% linolne kiseline. Kako bi stupanj termooksidativnih promjena ostao što niži, preporučljivo je za prženje radije koristiti masti, bilo biljnog ili animalnog porijekla ili pak ulja koja imaju niži sadržaj linolne kiseline (npr. ulje kikirikija). Produkti termooksidacije izrazito su nepogodni za ljudski organizam pa je vrlo važno tijekom prženja pratiti stupanj ovih promjena i na vrijeme ulje, odnosno mast zamijeniti novom, svježom, jer tijekom prženja namirnice apsorbiraju 25 do 40% masnoće. Osim promjene sastava ulja, termooksidacija uzrokuje i vizualne promjene, poput promjene boje te porasta viskoziteta. U nekim su zemljama dozvoljeni aditivi, koji mogu znatno usporiti termooksidativne promjene, a najviše se u tu svrhu primjenjuju silikoni (polidimetilsiloksan) u koncentraciji 2 ppm. Upotreba aditiva još je uvijek predmet brojnih rasprava, zbog mogućih negativnih posljedica po ljudsko zdravlje.

REVERZIJA

Reverzija je pojava karakteristična za neka biljna ulja, poput sojinog i repičinog, a neki izvori navode i goveđi loj, gdje već nakon kraćeg vremena čuvanja dolazi do pojave vrlo naglašenog neugodnog mirisa (poput mirisa ribe), čiji se intenzitet pojačava zagrijavanjem ulja. Ovaj je problem posebno izražen kod

ulja soje, koje se nalazi na prvom mjestu u proizvodnji biljnih ulja u svijetu i najzastupljenije je u prehrani ljudi u brojnim zemljama. Tri su aspekta ovog problema:

- financijski, postiže nižu cijenu na tržištu u odnosu na druga ulja, zbog smanjene održivosti,
- direktna primjena u prehrani je ograničena te se najviše koristi kao biljna mast, dobivena hidrogenacijom direktno ili u izradi margarina (reverzija je tako značajno ublažena),
- ukoliko je namijenjeno direktno za prehranu, ulje se specijalno obrađuje kako bi se usporila reverzija i to djelomičnom selektivnom hidrogenacijom u svrhu uklanjanja linolenske kiseline ili dodavanjem aditiva koji povećavaju održivost; kako bilo, važno je da se rafinacija, posebno dezodorizacija provode u posebnim uvjetima rada, kako bi proizvedeno ulje bilo visoke kvalitete.

Veći broj autora smatra kako je reverzija posljedica produkata razgradnje linolenske kiseline, jer ju sojino ulje sadrži u količini od 6 – 9%. Utvrđeno je i kako miris reverzije nije posljedica autooksidacije, jer se mirisi značajno razlikuju, no osim toga, do reverzije dolazi i kod sojinog ulja koje se čuva u struji dušika, gdje inače ne dolazi do pojave autooksidacije. Unatoč intenzivnim naporima utrošenima u istraživanje ovog problema, još nije pronađen točan uzrok pojave reverzije, kako niti način na koji se može spriječiti, no trenutno postoje dva praktična načina, uz pomoć kojih se ovaj problem ublažava te se produljuje održivost ulja soje. Prvi način odnosi se na pravilno odabrane uvjete rafiniranja, kako bi se proizvelo kvalitetno ulje te dodavanje limunske kiseline u količini od 0,01% pri završetku ili poslije dezodorizacije, što znatno usporava reverziju. Pretpostavlja se da limunska kiselina veže tragove metala, povećavajući tako održivost ulja. Drugi način je djelomična selektivna hidrogenacija, kojom se uklanja linolenska kiselina. Vinterizacijom se uklanja čvrsta frakcija (zasićene i trans-kiseline nastale tijekom hidrogenacije) kako bi se dobilo bistro ulje. Ulje proizvedeno na ovaj način ima bolju održivost, no problem reverzije i dalje je prisutan.

Svjetlost značajno smanjuje održivost ulja, odnosno ubrzava pojavu reverzije pa se preporučuje pakiranje u ambalažu koja ima mogućnost zaštite od utjecaja svjetla, čemu idu u prilog brojna istraživanja. Primjena fluorescentnog testa pokazala je da je ulje soje već nakon 20 sati imalo naglašenu reverziju, dok su kod ulja suncokreta i kukuruznih klica organoleptičke promjene nastupile nakon 100, odnosno 120 sati čuvanja (Oštrić – Matijašević i Turkulov, 1980.).

2.7. STABILIZACIJA BILJNIH ULJA

Kao što je ranije navedeno, jedna od najvažnijih značajki kvalitete ulja je sastav masnih kiselina, koje su u njima sadržane te je upravo iz tog razloga važno spriječiti, odnosno odgoditi negativne promjene koje dovode do njihove degradacije i smanjenja kvalitete i nutritivne vrijednosti ulja.

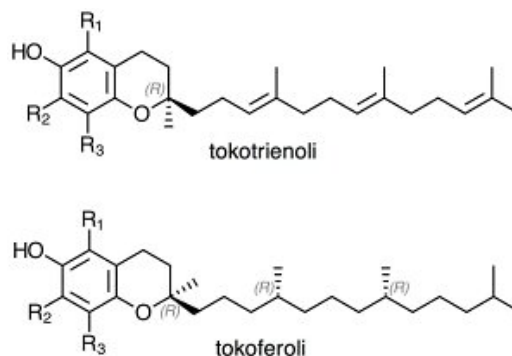
Za stabilizaciju masti i ulja koriste se antioksidansi, koji mogu biti prirodni ili sintetski spojevi te synergisti, kemijski spojevi koji nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali produljuju djelovanje antioksidansa 1 do 3 puta.

2.7.1. Antioksidansi

Primjena antioksidansa u stabilizaciji jestivih ulja i masti potječe još od 2. svjetskog rata, kada su se u rezervi čuvale veće količine masti, u nepovoljnim uvjetima te je bilo važno povećati održivost. Danas je poznat veći broj antioksidansa, koji se koriste kao inhibitori oksidacije, no u početku nije bilo lako pronaći spojeve koji zadovoljavaju sve uvjete, kako bi se mogli koristiti za prehrambene proizvode. Dok je u nekim zemljama dozvoljena primjena većeg broja antioksidansa, druge pak dozvoljavaju nekolicinu i to često samo prirodne antioksidanse. Pojedini su antioksidansi već uklonjeni s liste dozvoljenih, jer se pretpostavljalo da se nakuplja u određenim organima. Antioksidansi sprječavaju proces oksidacije sve dok traje njihovo djelovanje, koje može biti jače ili slabije, ovisno o vrsti i koncentraciji u kojoj je dodan, ali također i o vrsti masti/ulja te uvjetima skladištenja. Da bi se održivost povećala 3 do 6 puta, dozvoljeno je dodavati antioksidanse u koncentraciji od 0,005 do 0,02%. Biljnim uljima potrebno je dodavati manje količine antioksidanasa, budući da sadrže dovoljno prirodno prisutnih, odnosno tokoferole i neke fenolne antioksidanse. U prevelikoj količini mogu biti kontraproduktivni te djelovati prooksidativno. Nasuprot biljnim uljima, životinjske masti ne sadrže prirodne antioksidanse te im se moraju dodavati, kako i svim proizvodima koji sadrže masnoće. Budući da antioksidans ne može regenerirati već oksidiranu mast, potrebno ih je dodati u svježju mast, s niskim peroksidnim brojem (< 1), a proces usporavanja autooksidacije traje sve dok se dodani antioksidans potpuno ne utroši.

Najpoznatiji prirodni antioksidansi su tokoferoli i tokotrienoli (**Slika13**), zatim oni dobiveni iz začina poput žalfije, a posebno ružmarin, koji se zadržavaju i pri visokim temperaturama od 98 do 194°C. Prirodnim antioksidansima smatraju se i karotenoidi, naročito β -karoten koji je prema istraživanjima pokazao jače djelovanje u kombinaciji s vitaminom E (Percival, 1996.). Flavonoidni spojevi od kojih su najpoznatiji kvercetin i kampferol također pripadaju prirodnim antioksidansima no rijetko se mogu

pronaći kao komercijalno dostupni proizvodi (Schuler, 1990.). Najzastupljeniji sintetski antioksidansi su BHA (butil hidroksianisol), BHT (butil hidroksitoluen), PG (propil galat), BG (butil galat), OG (oktil galat) i DG (dodecil galat), a primjenjuju se u koncentraciji od 0,005 do 0,02%. Općenito, dodani antioksidansi imaju bolje djelovanje u životinjskim mastima, nego u biljnim uljima.



Slika 13 Strukturne formule tokoferola i tokotrienola

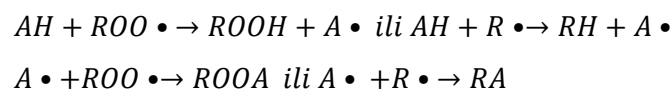
Općenito je prihvaćeno da prirodni antioksidansi imaju efikasnije i zdravstveno sigurnije djelovanje nego sintetski koji su jeftiniji (Moslavac i sur. 2010.) te se u posljednje vrijeme istražuju različiti biljni materijali koji sadrže fenolne spojeve, imaju učinkovita antioksidacijska svojstva za stabilizaciju biljnih ulja, kao primjerice razni ekstrakti začinski biljaka (klinčić, cimet, origano, crni biber, kadulja, zeleni čaj, ružmarin itd.).

Da bi se neki antioksidans mogao koristiti u ljudskoj prehrani, mora zadovoljavati sljedeće uvjete (Čorbo, 2008.):

- dobro se otapa u mastima i uljima,
- ima aktivno djelovanje prilikom dodavanja u vrlo malim koncentracijama (0,001 do 0,02%),
- ne smije uzrokovati stran okus, miris ili boju ulja, niti nakon dužeg skladištenja ili zagrijavanja,
- antioksidacijsko djelovanje ne smije biti ograničeno samo na mast, već mora biti preneseno i na proizvod u kojemu se mast nalazi,
- ne smije biti previše skup, niti povećavati cijenu proizvoda,
- identifikacija i određivanje antioksidansa u proizvodima mora biti jednostavno.

Neke vrste jestivih ulja iz novijih izvora vrlo su važne, jer mogu biti korištene u zdravstvene svrhe, ali također i za proizvodnju formulacija, a sadrže fitokemikalije sa značajnim antioksidativnim svojstvima (Uluata i Özdemir, 2012.). Dokazano je da se ulja i masti koja sadrže prirodne antioksidanse mogu čuvati čak 6 mjeseci do godinu dana, bez opasnosti od kvarenja. Prema Oštrić – Matijašević i Turkulov (1980.) na temelju dosadašnjih istraživanja, smatra se da antioksidans sprječava oksidaciju preko dvije reakcije:

1. Antioksidans (AH) daje vodik (H), koji se veže na slobodni radikal peroksida (ROO•) ili radikal masne kiseline (R•),
2. Slobodni radikal antioksidansa (A•) se veže na slobodni radikal (ROO• ili R•):



U oba slučaja prekida se lančana reakcija oksidacije i na taj način antioksidans produžuje održivost masti. Za antioksidanse je vrlo važno da imaju mogućnost lakog otpuštanja vodika i upravo je zbog toga najveći broj antioksidansa fenolnog tipa, koji imaju aktivni vodikov atom. Antioksidans ne veže kisik, već slobodne radikale, sprječavajući na taj način autooksidaciju. Antioksidativno djelovanje nekog antioksidansa izražava se antioksidativnim indeksom (AI), koji pokazuje koliko je puta povećana održivost neke masti njegovom primjenom:

$$(AI) = \frac{S_2}{S_1} \begin{array}{l} \longrightarrow \text{održivost masti s antioksidansom} \\ \longrightarrow \text{održivost masti bez antioksidansa} \end{array}$$

Pojedini antioksidansi se razgrađuju pri temperaturama iznad 150°C te se oni ne mogu koristiti za stabilizaciju masti, koja se koristiti u proizvodnji namirnica za pečenje ili prženje pa u tom slučaju treba koristiti „carry-trough“ antioksidanse, koji zadržavaju svoja svojstva i nakon navedenog temperaturnog praga. Kao što je ranije spomenuto, tragovi metala poput Cu i Fe, osim što ubrzavaju oksidaciju, također smanjuju i učinak antioksidansa te je u tom slučaju dobro dodati neki aktivator tragova metala, koji djeluje kao sinergist uz antioksidans. Za stabilizaciju masti bolje je dodati smjesu antioksidansa nego samo jedan antioksidans, zbog međusobnog sinergističkog djelovanja, no pri tome treba pripaziti da oni doista tako i djeluju, što treba dodatno ispitati. Na tržištu postoje i gotove smjese antioksidansa, koje obično uz antioksidanse sadrže i neki sinergist, poput limunske kiseline.

Moslavac i sur. (2010.) proučavali su utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. U svome su istraživanju primijenili Rancimat test kojim su ispitivali oksidacijsku stabilnost različitih smjesa biljnih ulja, s dodanim sintetskim antioksidansom – propil galat (0,01%), prirodnim ekstraktom ružmarina Oxy'Less°Clear (0,5%) i prirodnim ekstraktom zelenog čaja (0,3%) te bez antioksidansa. Ispitivano ulje predstavljalo je kombinaciju suncokretovog (50%) i ostalih pojedinih vrsta biljnih ulja (50%): repičino ulje, ulje kukuruzne klice, sojino ulje i ulje pšeničnih klica. Rezultat oksidacije ulja izražen je s indukcijskim periodom (IP) na bazi kojih je računat i zaštitni faktor (PF). Rezultati istraživanja pokazali su da je ekstrakt zelenog čaja imao veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na ekstrakt ružmarina Oxy'Less°Clear i sintetski propil galat, odnosno više je usporio oksidacijsko kvarenje

i rezultirao boljim povećanjem održivosti smjese ulja. Također, primjena ekstrakta zelenog čaja (0,3%) dovela je do veće vrijednosti indukcijskog perioda u svim smjesama biljnih ulja.

Prirodne antioksidanse, njihovo djelovanje i izvore proučavali su Shebis i sur. (2013.). Vodili su se definicijom antioksidansa koju je 2007. godine dao Halliwell, a to je da je antioksidans svaka tvar koja odgađa, sprječava ili uklanja oksidativna oštećenja ciljnih molekula. Navode kako oksidativne reakcije uzrokuju slobodne radikale koji mogu potaknuti niz lančanih reakcije, koje na poslijetku uzrokuju oštećenja ili čak smrt stanica. Antioksidansi djeluju tako da uklanjaju navedene slobodne radikale oksidirajući sami sebe i tako inhibiraju druge reakcije oksidacije, koje su opasne za sve žive stanice, osobito one koje se nalaze u blizini mjesta gdje se aktivni kisik oslobađa fotosintezom. Spominju i kako spontana oksidacija uzrokuje kvarenje hrane i lijekova te da je oksidativni stres također, između ostalog, značajan uzročnik mnogih bolesti kod ljudi, zbog nedostatno dobre prehrane i tjelovježbe, zagađenja zraka, izloženosti duhanskome dimu i dr., što sveukupno može dovesti do letalnih bolesti, poput raka. Upravo zbog toga naglašavaju kako je potrebno uvesti antioksidanse u ljudsku prehranu. Napominju i kako se zbog primjene brojnih sintetičkih antioksidansa u prehrambenim proizvodima ulaže sve više napora u pronalazak dostatnih, dostupnih i efikasnih prirodnih izvora antioksidansa kako bi se zamijenili oni sintetski te se na taj način umanjila šteta koja se nanosi stanicama ljudskog organizma. Zaključno navode da iako još nije dokazano da sintetski antioksidansi ostvaruju negativan učinak na ljudske stanice, EFSA (European Food Safety Authority) nadzire njihove količine i sprječava njihovu prekomjernu primjenu u prehrambenoj industriji. Istraživanjem se došlo do zaključka kako morske alge i mikro alge potencijalno predstavljaju dostupan i vrijedan izvor prirodnih antioksidansa, koji je ujedno relativno povoljan za masovnu proizvodnju i iskorištenje.

Istodobno određivanje 5 sintetskih antioksidansa u jestivom biljnom ulju istraživali su Guo i sur. (2006.) uz pomoć GC-MS metode (plinska kromatografija s masenom spektrometrijom). Koristili su jednostavnu, brzu i netoksičnu metodu, kako bi odredili butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), tercijarni butil hidrokinon (TBHQ), etoksikvin (EQ) i 2,6-di-terc-butil-4-hidroksimetilfenil (IonoX 100) u jestivom biljnom ulju. Uzorci su ekstrahirani uz pomoć etanola, zatim razdvojeni i detektirani uz pomoć GC-MS uređaja. Svih pet sastojaka bilo je zastupljeno u koncentracijama između 0,100~20,0 mg/L, odnosno u sljedećim granicama detekcije: BHA 1,00, BHT 0,92, TBHQ 11,5, EQ 0,83 i IonoX-100 1,39 µg/L. Test je uspješno obavljen na uzorcima sojinog ulja, ulja čajevca, jestivog miješanog ulja, ulja repice, ulja kikirikija, miješanog ulja kikirikija i sezamovog ulja iz lokalnih trgovina. Autori zaključuju kako eksperimentalni rezultati ukazuju da je predložena metoda vrlo učinkovita za determinaciju više vrsta antioksidansa istovremeno te da je sigurna za korištenje prilikom ispitivanja jestivih biljnih ulja, a ujedno i štedi vrijeme.

2.7.2. Sinergisti

Sinergisti su kemijski spojevi, koji produžuju djelovanje antioksidanasa od 1 do 3 puta, no sami nemaju antioksidacijsko djelovanje. U kombinaciji s antioksidansima najviše se koriste limunska, askorbinska, vinska i octena kiselina te lecitin. Prema Čorbo (2008.) količina sinergista koja se dodaje regulirana je zakonskim propisima te kreće od 0,005% do 0,02%. Nije potpuno razjašnjeno na koji način sinergisti potpomažu djelovanje antioksidansa, no do sada je utvrđeno da imaju tri načina djelovanja:

- vežu tragove metala, inaktiviraju ih, odnosno onemogućuju njihovo prooksidativno djelovanje na proces autooksidacije,
- predaju atom vodika antioksidansu i time ga regeneriraju te produžuju vrijeme njegova djelovanja,
- sprječavaju utjecaj antioksidansa na razgradnju peroksida, tj. veže se radikalom antioksidansa i tako onemogućuje njegov utjecaj na razgradnju peroksida.

Budući da nisu svi sinergisti kompatibilni sa svim antioksidansima, potrebno je o tome voditi računa prilikom njihove primjene i dodatno ispitati međudjelovanje. Za sada se kao dobar sinergist uz tokoferole pokazala askorbinska kiselina, askorбил palmitat i limunska kiselina, koje se jestivim uljima redovito dodaju pri završetku procesa dezodorizacije.

2.8. OKSIDACIJSKA STABILNOST BILJNIH ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost predstavlja vremenski period za koji se ulja mogu sačuvati od autooksidacijskog kvarenja. Održivost najviše ovisi o sastavu masnih kiselina ulja, a važno ju je poznavati zbog određivanja uvjeta i načina skladištenja te utvrđivanja roka trajanja samog ulja. Postoje različite metode pomoću kojih se može odrediti oksidacijska stabilnost. Metode se temelje na ubrzanoj oksidaciji ulja ili masti utjecajem nekog od čimbenika koji ubrzavaju proces kvarenja, a u praksi je to najčešće toplina. Provode se tako da se uzorak u termostatu neko vrijeme izlaže određenoj temperaturi te se prati porast peroksidnog broja ili senzorska svojstva ulja.

2.8.1. Schaal Oven test

Jedna od najstarijih i najjednostavnijih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja i masti je Oven ili Schaal Oven test. Uzorci ulja drže se u sušioniku ili termostatu na 60 °C ili 63 °C te se prati porast Pbr ili oksidacijom nastale senzorske promjene na ulju.

Rezultat dobiven ovom metodom može se izraziti kao:

- vrijednost peroksidnog broja (Pbr) nakon određenog vremena trajanja testa (npr. 4 dana),
- vrijeme u danima za koje Pbr dosegne određenu vrijednost,
- vrijeme u danima za koje se organoleptičkim ispitivanjima utvrdi pojava užglosti (Čorbo, 2008).

2.8.2. AOM test

Primjenom AOM metode (Active Oxygen method) ili Swift testa, uzorci ulja ili masti zagrijavaju se u Swift uređaju na temperaturi od 97,8°C dok kroz njih prolazi struja zraka. U određenim vremenskim intervalima uzorcima ulja se određuje vrijednost peroksidnog broja sve dok on ne postigne unaprijed utvrđenu vrijednost, koja najčešće iznosi 5 mmol O₂/kg. Kod kvalitetnih biljnih ulja dobre održivosti nakon 8 sati testa vrijednost Pbr mora iznositi manje od 5 mmol O₂/kg. Metoda je standardizirana i daje ponovljive rezultate, a jedan sat AOM testa odgovara približno 20 dana čuvanja ulja na sobnoj temperaturi (Rade i sur., 2001.).

2.8.3. Rancimat test

Rancimat test se slično AOM testu bazira na ubrzanom kvarenju ulja povišenjem temperature i propuhivanjem zraka kroz uzorak. Kod novijih Rancimat uređaja opseg temperature iznosi od 100 °C do čak 200 °C. Mjeri se inudkcijski period (IP) na osnovi izdvojenih nižemolekularnih hlapivih kiselina koje nastaju prilikom autooksidacije, a u najvećoj količini je prisutna mravlja kiselina. U manjim količinama nastaju i octena, propionska, maslačna te kapronska kiselina. Kada se ove kiseline iz

reakcijske posude uvedu u destiliranu vodu dolazi do porasta provodljivosti, koju uređaj automatski registrira u funkciji vremena, pa se tako na indirektan način može pratiti tijek oksidacije ulja. IP u satima zapravo ukazuje na otpornost ulja prema oksidaciji i što je on duži, to ulje ima bolju oksidacijsku stabilnost (Dimić i Turkulov, 2000.).

2.8.4. Test održivosti na 98 °C

Ovaj se test može koristiti ukoliko nedostaje originalna Swift aparatura, a postoji dobra korelacija između rezultata ovog testa te rezultata dobivenih AOM i Oven testom pri sobnoj temperaturi. Uzorci se drže u sušioniku na temperaturi 98°C te se vade svakih sat vremena kako bi im se odredio Pbr do unaprijed određene i utvrđene vrijednosti. Jedan sat provedbe testa održivosti na 98°C odgovara 10-15 dana čuvanja ulja na sobnoj temperaturi. Nedostatak ovog testa su neodgovarajući uvjeti procesa autooksidacije jer pri višim temperaturama proces oksidacije ulja nije isti kao na sobnoj temperaturi. Ipak, rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti ulja primjenom testa održivosti na 98°C pokazuju mogućnost korištenja za barem približno procjenjivanje održivosti ulja na sobnoj temperaturi (Moslavac, 2015.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj dodatka antioksidanasa i sinergista na promjenu održivosti hladno prešanog konopljinog ulja primjenom Oven testa kod konstantne temperature 63°C tijekom 4 dana provođenja testa. Od prirodnih antioksidanasa korišteni su ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS, ekstrakt kadulje, alfa tokoferol, mješavina tokoferola, ekstrakt maslinove komine i katehin, a od sintetskih antioksidanasa propil galat i butil hidroksianisol. Kao sinergisti korištene su askorbinska i limunska kiselina. Također su na hladno prešanom konopljinom ulju određeni osnovni parametri kvalitete ulja: vrijednost peroksidnog broja, udio slobodnih masnih kiselina, udio vode i udio netopljivih nečistoća.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Materijali

Hladno prešano konopljino ulje

Za ovo istraživanje korišteno je hladno prešano konopljino ulje proizvedeno iz osušene i neoljuštene sjemenke konoplje, primjenom kontinuirane pužne preše kapaciteta 20-25 kg/h sirovine i snage elektromotora 1,5 kW.

Antioksidansi

Za određivanje oksidacijske stabilnosti hladno prešanog konopljinog ulja Oven testom na 63 °C pripremljeno je 17 uzoraka mase 50 g (**Slika 14**). Ispitivan je uzorak ulja bez dodatka antioksidansa, a u ostalih 16 dodano je pojedinačno 8 antioksidansa ili antioksidans u kombinaciji sa sinergistima kao što su askorbinska i limunska kiselina.

Ekstrakt ružmarina tip OxyLess® CS

OxyLess CS prirodni je ekstrakt listova ružmarina (*Romarinus officinalis* L.) proizveden je u praškastom obliku u Francuskoj (tvrtka NATUREX). Udio karnosolne kiseline je od 18 % do 22 %, zaštitni faktor (PF) je veći od 12 %, suha tvar ekstrakta je od 92 % do 98 %.

U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu 0,05 % i 0,15% računato na masu ulja. Dodatno je ispitan učinak OxyLess CS u udjelu 0,15% u 2 uzorka, u kombinaciji sa sinergistima askorbinskom i limunskom kiselinom koje su upotrijebljene u udjelu 0,01% računato na masu ulja.

Limunska kiselina je bijela kristalna tvar u obliku praha, topljiva u vodi. Proizvođač je GRAM-MOL, d.o.o., Hrvatska.

Askorbinska kiselina također je bijela kristalna tvar topljiva u vodi. Proizvođač je T.T.T. d.o.o., Hrvatska.

α -tokoferol

α -tokoferol ili prirodni vitamin E proizveden je u Hrvatskoj (tvrtka KEMIG d.o.o.). U ispitivanju je upotrijebljen u udjelu 0,05% i 0,15% računato na masu ulja.

Mješavina tokoferola

Mješavina tokoferola je žuto do smeđe-crveno, bistro, viskozno ulje bez karakterističnog mirisa. Minimalni udio tokoferola je 95%. Sadrži 0-15% α -tokoferola, manje od 5% β -tokoferola, 55-75% γ -tokoferola i 20-30% δ -tokoferola. Netopljiv je u vodi, ali je dobro topljiv u lipofilnim otapalima kao što je ulje.

U ispitivanju je mješavina tokoferola upotrijebljena u udjelu 0,05% i 0,15% računato na masu ulja.

Ekstrakt kadulje

Ekstrakt kadulje pripremljen je na fakultetu postupkom ekstrakcije sa 65% etanolom tijekom 96 sati te naknadnim isparavanjem otapala iz ekstrakta.

Korišten je u dva uzorka u udjelima 0,05% i 0,15% računato na masu ulja, a u trećem uzorku u udjelu 0,15% u kombinaciji sa sinergistom limunskom kiselinom u udjelu 0,01% računato na masu ulja.

Katehin

Proizvođač je SIGMA ALDRICH, a čistoća mu je veća od 99%. Sekundarni je metabolit biljaka iz skupine flavanola. U ispitivanju je katehin upotrijebljen u udjelu 0,1% računato na masu ulja.

HP β CD

HP β CD je ekstrakt maslinove komine, a u istraživanju je upotrijebljen u udjelu 0,1% računato na masu ulja.

RAMEB

RAMEB je također ekstrakt maslinove komine, a u istraživanju je upotrijebljen u udjelu 0,1% računato na masu ulja.

Propil galat(PG)

Propil galat sintetski je antioksidans, a u istraživanju je dodan u ulje u udjelu 0,01 %.

Butil hidrosianisol (BHA)

BHA sintetski je antioksidans, a u istraživanju je također dodan u ulje u udjelu 0,01 %.



Slika 14 Pripremljeni uzorci i korišteni antioksidansi za provođenje Oven testa (Izvor: autor)

3.2.2. Metode

3.2.2.1. Određivanje parametara kvalitete ulja

Određivanje vrijednosti peroksidnog broja (Pbr)

Peroksidnim brojem određuju se primarni produkti oksidacije ulja zbog čega predstavlja indikator njihovog oksidacijskog kvarenja. U ovom ispitivanju određen je standardnom jodometrijskom metodom (ISO 3960:2007), a rezultati su izraženi kao mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O₂/kg).

Uzorak ulja otopi se u smjesi ledene octene kiseline i kloroforma, promiješa se te mu se doda otopina kalij jodida (KI). Točno jednu minutu uzorak se miješa rukom nakon čega se razrijedi prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom. Pripremljenom uzorku doda se par kapi otopine škroba koja služi kao indikator. Iz otopine kalij jodida jod se oslobađa djelovanjem peroksida, a tako nastali jod se zatim određuje titracijom s natrij-tiosulfatom (Na₂S₂O₃). Na isti način provodi se i slijepa proba samo bez ulja. Peroksidni broj predstavlja mL 0,1 M otopine Na₂S₂O₃ koji je potreban za redukciju one količine joda koju oslobodi 1 g ulja iz KI.

Pbr se izražava prema **formuli (1)**:

$$\text{Pbr [mmol O}_2\text{/kg]} = (V_1 - V_0) \cdot 5 / m \quad (1)$$

gdje je:

V₁ – volumen otopine Na₂S₂O₃ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka (mL),

V_0 – volumen otopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepe probe (mL),

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina (SMK)

Osim masnih kiselina vezanih u triacilglicerole masti i ulja sadrže određeni udio slobodnih masnih kiselina, nastalih kao produkti hidrolitičke razgradnje triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima. Njihov udio u ulju ovisi u upotrebljenoj sirovini, načinu dobivanja i skladištenja ulja, a mogu se izraziti kao kiselinski broj, kiselinski stupanj i % SMK izražen kao oleinska kiselina.

Udio slobodnih masnih kiselina određen je primjenom standardne metode (ISO 660:1996) koja se temelji na titraciji ulja otopinom natrij-hidroksida. Izvagani uzorak se prelije s neutralnom smjesom etera i etanola te promućka. Zatim se doda nekoliko kapi fenolftaleina koji služi kao indikator i titrira s 0,1 M otopinom NaOH do promjene boje.

Udio SMK izražava se kao % oleinske kiseline prema **formuli (2)**:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V * c * M / 10 * m \quad (2)$$

gdje je:

V – volumen utrošene otopine NaOH za titraciju uzorka (mL);

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

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

m – masa uzorka ulja (g).

Određivanje vlage u ulju

Ukoliko je prisutna vlaga u ulju pri određenim uvjetima može doći do hidrolitičkih promjena, odnosno povećanja udjela SMK, ali i do promjena senzorskih karakteristika ulja kao i smanjenja kvalitete uslijed zamućenja ulja. Zato se količina vlage smatra jednim od pokazatelja kvalitete biljnih ulja zajedno s hlapljivim tvarima.

Princip određivanja vlage u ulju temelji se na isparavanju udjela vode i hlapljivih tvari zagrijavanjem u sušioniku pri točno definiranim uvjetima. U prethodno osušenu i izvaganu posudicu izvaže se uzorak, nakon čega se staklena posudica s podignutim poklopcem i uzorkom stavlja u sušionik na 103 °C. Nakon 2 sata sušenja posudica se zatvori s poklopcem i stavlja u eksikator na hlađenje do sobne temperature. Nakon hlađenja uzorak se izvaže te se ponovno s podignutim poklopcem stavlja u sušionik 1 sat, hladi i važe. Pri zagrijavanju na 103 ±2 °C dolazi do gubitka mase (izražen u %), a postupak se provodi do konstantne mase.

Udio vlage u ulju računa se prema **formuli (3)**:

$$\% \text{ vlage i isparljivih nečistoća} = m_1 - m_2 / m_1 - m_0 * 100 \quad (3)$$

gdje je:

m_0 – masa prazne posudice (g);

m_1 – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g);

m_2 – masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g).

Određivanje netopljivih nečistoća

Netopljive nečistoće predstavljaju uglavnom mehaničke nečistoće u ulju, a mogu biti mineralne tvari ili organski sastojci za koje je karakteristično da se ne otapaju u organskim otapalima kao što se otapaju trigliceridi ulja i masti. Karakteristične su za sirova biljna ulja, a njihova je količina, kao uvjet kvalitete ulja, određena Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19). Prema navedenom Pravilniku, maksimalna vrijednost za rafinirana, djevičanska te hladno prešana ulja iznosi 0,05%, no u ulju dobre kvalitete često je niža od 0,03 %.

Udio netopljivih nečistoća u uzorcima određivan je primjenom standardne metode (ISO 663:1992) koja se temelji na tretiranju uzorka određenim organskim otapalom, kao što su n-heksan ili petrol-eter. Dobivena otopina filtrira se kroz stakleni filter lijevak sa sinteriranim dnom uz ispiranje taloga istim otapalom (**Slika 15**). Netopljivi talog koji zaostaje na filteru suši se do konstantne mase i važe.

Udio netopljivih nečistoća u ulju računa se prema **formuli (4)**:

$$\% \text{ netopljive nečistoće} = m_2 - m_1 / m_0 * 100 \quad (4)$$

gdje je:

m_0 – masa uzorka [g],

m_1 – masa osušenog filter - lijevka [g],

m_2 – masa filter - lijevka s nečistoćama nakon sušenja [g].



Slika 15 Određivanje netopljivih nečistoća petroleterom (Izvor: autor)

3.2.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Priprema uzoraka za analizu

Uzroci koji sadrže praškaste ili krute antioksidanse pripremaju se na način da se izvaže određena količina antioksidansa, doda 50 g ulja te se uzroci zagriju na 70 °C - 80 °C uz stalno miješanje 30 minuta. To su uzroci koji sadrže OxyLess CS, OxyLess CS + askorbinska kiselina, OxyLess CS + limunska kiselina, PG, BHA, RAMEB, HP β CD te katehin. Nakon toga uzorci se hlade na sobnoj temperaturi i stavljaju u ventilacijski sušionik (Binder) (**Slike 16 i 17**) na konstantnu temperaturu 63°C čime započinje ispitivanje oksidacijske stabilnosti sa i bez dodatka antioksidansa.

Uzroci

1. hladno prešano ulje konoplje
2. ulje + 0,05% ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS
3. ulje + 0,15% ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS
4. ulje + 0,15% ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS + 0,01% askorbinska kiselina
5. ulje + 0,15% ekstrakt ružmarina tip OxyLess CS + 0,01% limunska kiselina
6. ulje + 0,05% α -tokoferol
7. ulje + 0,15% α -tokoferol
8. ulje + 0,05% mix tokoferola

9. ulje + 0,15% mix tokoferol
10. ulje + 0,05% ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96 h
11. ulje + 0,15% ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96 h
12. ulje + 0,15% ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96 h + 0,01% limunska kiselina
13. ulje + 0,01% propilgalat
14. ulje + 0,01% butilhidroksianisol
15. ulje + 0,1% HP β CD
16. ulje + 0,1% RAMEB
17. ulje + 0,1% katehin



Slika 16 Pripremljeni uzorci u sušioniku za određivanje oksidacijske stabilnosti (Izvor: autor)

Oven test na 63 °C

Oksidacijska stabilnost konopljinog ulja određena je pomoću Oven testa na konstantnoj temperaturi 63 °C. Tijekom izvođenja testa tijekom 4 dana uvijek u isto vrijeme, odnosno svakih 24 sata, uzorcima ulja je određena vrijednost peroksidnog broja. Uzorci su držani ukupno 4 dana ili 96 sati u sušioniku (Binderu). Rezultati Oven testa na 63 °C prikazani su kao vrijednost peroksidnog broja [mmol O₂/kg] u vremenskom intervalu od 96 sati.



Slika 17 Sušionik (Binder) zagrijan na 63 °C (Izvor: autor)

4. REZULTATI

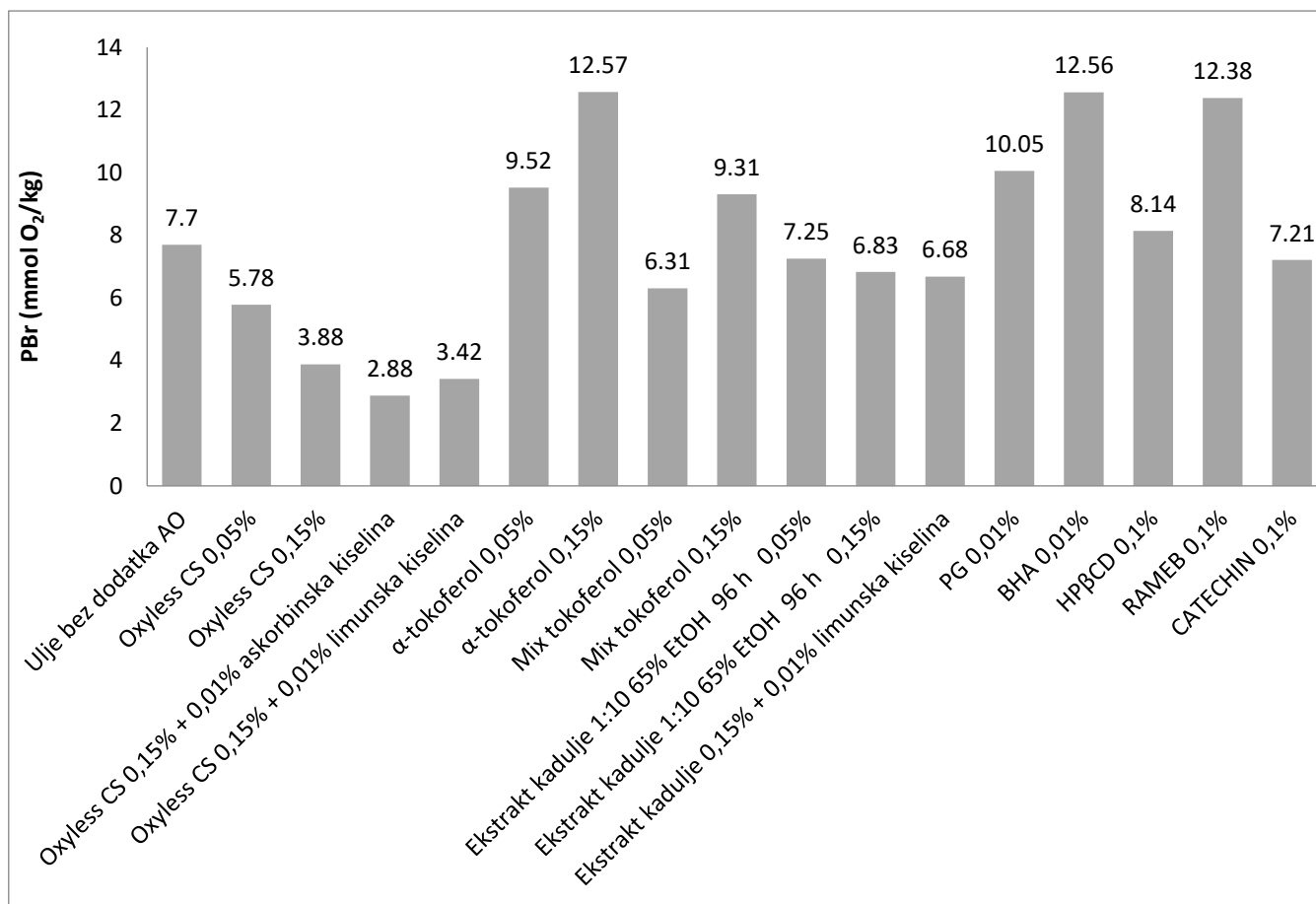
Tablica 6 Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog ulja konoplje usporedno s maksimalnim dopuštenim vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19)

Parametar kvalitete	Rezultat	Pravilnik o jestivim uljima i mastima (max. vrijednost)
Peroksidni broj, Pbr (mmol O ₂ /kg)	0	7
Slobodne masne kiseline, SMK (izraženih kao oleinska) (%)	0,56	2
Udio vode (%)	0,048	0,4
Udio netopljivih nečistoća (%)	0,51	0,05

Tablica 7 Oksidacijska stabilnost hladno prešanog ulja konoplje, sa i bez dodatka antioksidansa, određena Oven testom na 63 °C

Uzorci	Pbr (mmol O ₂ /kg)				
	0. DAN	1. DAN	2. DAN	3. DAN	4. DAN
Konopljino ulje (kontrolni uzorak)	0	0,49	0,93	4,33	7,70
OxyLess CS 0,05%		0,72	1,47	3,94	5,78
OxyLess CS 0,15%		0,98	1,93	3,42	3,88
OxyLess CS 0,15% + 0,01% askorbinska kiselina		0,49	0,99	2,43	2,88
OxyLess CS 0,15% + 0,01% limunska kiselina		0,97	1,45	2,47	3,42
α-tokoferol 0,05%		0,99	4,33	6,80	9,52
α-tokoferol 0,15%		2,96	3,87	8,82	12,57
Mješavina tokoferola 0,05%		0,72	1,95	4,90	6,31
Mješavina tokoferola 0,15%		0,97	3,87	6,28	9,31
Ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96 h 0,05%		0,49	1,44	3,96	7,25
Ekstrakt kadulje 1:10, 65% EtOH, 96 h 0,15%		0,49	1,67	4,13	6,83
Ekstrakt kadulje 0,15% + 0,01% limunska kiselina		0,25	1,94	3,87	6,68
PG 0,01%		3,96	5,27	7,70	10,05
BHA 0,01%		4,93	6,05	9,71	12,56
HPβCD 0,1%		1,22	2,94	6,28	8,14
RAMEB 0,1%		4,90	7,25	8,82	12,38
KATEHIN 0,1%	1,19	1,92	4,19	7,21	

PG – propil galat; BHA – butil hidroksianisol; HPβ CD i RAMEB – ekstrakti maslinove komine; OxyLess CS – ekstrakt ružmarina



Slika 18 Utjecaj dodatka različitih antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnost hladno prešanog ulja konoplje nakon 4 dana provođenja Oven testa na 63 °C

5. RASPRAVA

U **Tablici 6** prikazani su osnovni parametri kvalitete svježeg proizvedenog hladno prešanog ulja konoplje: peroksidni broj (Pbr), slobodne masne kiseline (SMK), udio vode i udio netopljivih nečistoća. Usporedno su prikazane maksimalne dopuštene vrijednosti navedenih parametara prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19). Dobivene vrijednosti ovih parametara u skladu su s Pravilnikom, osim udjela netopljivih nečistoća koji je iznosio 0,51%, a maksimalno dopuštena vrijednost prema Pravilniku je 0,05%. S obzirom na to da se udio netopljivih nečistoća može jednostavno smanjiti taloženjem, filtracijom ili centrifugiranjem, može se smatrati da je ulje dobre kvalitete.

Tablica 7 i **Slika 18** prikazuju oksidacijsku stabilnost odnosno održivost proizvedenog hladno prešanog ulja konoplje, sa i bez dodanih antioksidanasa i synergista, koja je određena Oven testom na 63 °C. Test se provodio 4 dana, odnosno 96 sati pri čemu je mjerena vrijednost peroksidnog broja (Pbr) i to svaki dan u isto vrijeme, znači svakih 24 sata.

Rezultati u **Tablici 7** pokazuju da je tijekom 4 dana, odnosno 96 sati provođenja Oven testa na 63 °C došlo do određenog porasta vrijednosti Pbr kod svih ispitivanih uzoraka konopljinog ulja. Nakon 96 sati testa ulje konoplje bez dodanog antioksidansa (kontrolni uzorak) pokazuje vrijednost Pbr 7,70 mmol O₂/kg što je nešto veća vrijednost od dozvoljene i propisane Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) koja iznosi maksimalno 7 mmol O₂/kg, no može se smatrati da pokazuje dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju. Nadalje, prilikom dodatka pojedinih antioksidanasa može se primijetiti da je Pbr još niži nego kod kontrolnog uzorka što ukazuje na to da su dodani antioksidansi u ovom slučaju imali značajnu ulogu u zaštiti i usporavanju oksidacijskog kvarenja, odnosno u povećanju oksidacijske stabilnosti konopljinog ulja.

Dodatkom ekstrakta ružmarina tipa OxyLess CS postignuta je najbolja zaštita od oksidacijskog kvarenja s obzirom na najnižu vrijednost peroksidnog broja nakon 96 sati provođenja testa. OxyLess CS kao samostalan antioksidans bolji utjecaj ima u udjelu 0,15% (Pbr 3,88 mmol O₂/kg) nego 0,05% (Pbr 5,78 mmol O₂/kg), no oba su rezultata puno niža od Pravilnikom dopuštene maksimalne vrijednosti. Još bolji stabilizacijski učinak OxyLess CS ima uz dodatak synergista limunske i askorbinske kiseline, dodanih u udjelu 0,01%. S obzirom na najnižu vrijednost Pbr koja iznosi 2,88 mmol O₂/kg može se zaključiti da uz OxyLess CS (u udjelu 0,15%) askorbinska kiselina sinergistički dodatno povećava otpornost ulja konoplje prema oksidacijskom kvarenju.

Znatno slabiju zaštitu pružili su mješavina tokoferola u udjelu 0,05%, čija je vrijednost Pbr nakon 96 sati iznosila 6,31 mmol O₂/kg te ekstrakt kadulje u udjelu 0,15% (Pbr 6,83 mmol O₂/kg) koji je nešto bolji stabilizacijski učinak imao u kombinaciji sa synergistom limunskom kiselinom dodanom u udjelu 0,01%. Kao rezultat njihovog sinergističkog djelovanja Pbr vrijednost je nakon 96 sati iznosila 6,68

mmol O₂/kg. Navedene vrijednosti su i dalje ispod Pravilnikom dopuštene, no znatno su više u usporedbi s vrijednostima dobivenim upotrebom ekstrakta ružmarina.

Vrijednosti Pbr slične kontrolnom uzorku dobivene su sa katehinom upotrijebljenim u udjelu 0,1% kojeg je Pbr iznosio 7,21 mmol O₂/kg te za ekstrakt kadulje upotrijebljen u udjelu 0,05%, gdje je vrijednost Pbr iznosila 7,25 mmol O₂/kg. S obzirom da su dobivene vrijednosti nešto ispod vrijednosti Pbr kontrolnog uzorka može se smatrati da nisu znatno pridonijeli oksidacijskoj stabilnosti ispitivanog ulja.

α-tokoferol niti u jednom udjelu nije doprinio poboljšanju oksidacijske stabilnosti. Za udio α-tokoferola 0,05% Pbr je iznosio 9,52 mmol O₂/kg, dok je kod većeg udjela 0,15% Pbr dosegao vrijednost 12,57 mmol O₂/kg, što je ujedno najviša dobivena vrijednost u ovom ispitivanju. Također, mješavina tokoferola u udjelu 0,15% za razliku od udjela 0,05% nije poboljšala oksidacijsku stabilnost ulja. Vrijednost peroksidnog broja u tom slučaju, nakon 96 sati provođenja testa, bila je 9,31 mmol O₂/kg. Može se zaključiti da mješavina tokoferola ima veći utjecaj na stabilizaciju konopljinog ulja nego α-tokoferol. To se može objasniti činjenicom da mješavina tokoferola sadrži 55-75% γ-tokoferola i 20-30% δ-tokoferola za koje je poznato da imaju veće antioksidacijsko djelovanje od samog α-tokoferola. Također je poznato da tokoferoli pri višim koncentracijama gube svoja antioksidacijska svojstva i djeluju suprotno.

Sintetski antioksidansi propil galat ibutil hidroksianisol (udio 0,01%) nisu se pokazali efikasnim u stabilizaciji konopljinog ulja s obzirom na visoke vrijednosti Pbr 10,05 mmol O₂/kg, odnosno 12,56 mmol O₂/kg za butilhidroksianisol, kao niti ekstrakti maslinove komine HPβCD i RAMEB (udio 0,1%), čije vrijednosti Pbr iznose 8,14 mmol O₂/kg, odnosno 12,38 mmol O₂/kg za RAMEB. Navedene vrijednosti peroksidnog broja daleko su iznad Pravilnikom dopuštene.

Na **Slici 18** jasno se vidi utjecaj dodatka navedenih antioksidanasa na oksidacijsku stabilnost konopljinog ulja nakon 4 dana provođenja testa te se može jasnije primijetiti upotrebom kojeg antioksidansa je značajno poboljšana, odnosno koji nije efikasan, u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Iako konopljino ulje samo po sebi ima relativno dobru oksidacijsku stabilnost, sudeći prema vrijednostima Pbr, može se primijetiti da prirodni antioksidansi imaju bolju funkciju u zaštiti od oksidacijskog kvarenja, nego sintetski antioksidansi poput propil galata te butil hidroksianisola.

Dodatak antioksidansa u ulje ne bi smio utjecati na senzorske karakteristike samog ulja, poput boje, okusa i mirisa. S obzirom na tamnu boju konopljinog ulja promjena boje nije uočena niti kod jednog uzorka, kao niti značajnije promjene u mirisu ulja za vrijeme provođenja testa.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju određivanja osnovnih parametara kvalitete te ispitivanjem utjecaja dodatka antioksidanasa i sinergista na oksidacijsku stabilnost proizvedenog hladno prešanog ulja konoplje, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Prema ispitanim osnovnim parametrima kvalitete proizvedenog ulja i usporedbom s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (NN 11/19) utvrđeno je da je proizvedeno hladno prešano ulje konoplje dobre kvalitete.
2. Nakon provođenja Oven testa na 63 °C tijekom 96 sati, utvrđeno je da proizvedeno hladno prešano ulje konoplje ima dobru otpornost prema oksidacijskom kvarenju.
3. Ispitivani prirodni antioksidansi pokazuju bolju funkciju u zaštiti ulja konoplje od oksidacijskog kvarenja, nego sintetski antioksidansi propil galat i butil hidroksianisol.
4. Dodatak ekstrakta ružmarina (0,15%) bez sinergista više je povećao stabilnost ulja konoplje prema oksidacijskom kvarenju u odnosu na udio 0,05%.
5. Najbolja zaštita konopljinog ulja od oksidacije postignuta je dodatkom ekstrakta ružmarina (OxyLess CS 0,15%) i sinergista askorbinske kiseline (0,01%), a nakon toga dodatkom ekstrakta ružmarina (OxyLess CS 0,15%) i sinergista limunske kiseline (0,01%).
6. Sinergisti dodatno povećavaju otpornost ulja konoplje prema oksidacijskom kvarenju, a askorbinska kiselina pokazuje bolje sinergističko djelovanje od limunske kiseline.
7. Dodatkom mješavine tokoferola (0,05%) postignuta je zaštita ulja konoplje od oksidacije, ali kod udjela 0,15% nema zaštite ulja.
8. Primjenom α -tokoferola (0,05% i 0,15%) nije došlo do zaštite ulja konoplje od oksidacijskog kvarenja.
9. Porastom udjela dodanog ekstrakta kadulje sa 0,05% na 0,15% kao i kombinacija sa sinergistom limunskom kiselinom došlo je do postepenog porasta zaštite ulja od oksidacijskog kvarenja.
10. Korištenjem ekstrakta maslinove komine (HP β CD i RAMEB) nije postignuta dodatna otpornost ulja konoplje prema oksidacijskom kvarenju.
11. Katehin neznatno uspijeva povećati stabilnost i održivost ulja konoplje.
12. Sintetski antioksidansi propil galat i butil hidroksianisol nisu se pokazali efikasni u zaštiti ulja konoplje od oksidacijskog kvarenja.

7. LITERATURA

- Aladić K: Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis sativa* L.) ulja superkritičnim CO₂ iz pogače nakon hladnog prešanja. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
- Aladić K, Jokić S, Moslavac T, Tomas S, Vidović S, Vladić J, Šubarić D: Cold Pressing and Supercritical CO₂ Extraction of Hemp (*Cannabis sativa*) Seed Oil. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 28(4):481-490, 2014.
- Bockish M: *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Brckan J, Katić M: Utjecaj parametara proizvodnje na kemijski sastav nerafiniranih ulja konoplje. *Rad za rektorovu nagradu*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2013.
- Callaway JC: Hemp seed oil in a nutshell. *Inform, AOCS* 21:130-132, 2010.
- Callaway JC, Pate DW: Hemp seed oil. U *Gourme tand Health Promoting Specialty Oils*, str. 185-213. American Oil Chemists Society Press, Urbana, Illinois, 2009.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.
- Da Porto C, Decorti D, Tubaro F: Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial crops and products* 36:401–404, 2012.
- De Padua LS, Bunyaprafatsara N, Lemmens RHMJ: *Cannabis sativa* L. U *Plant Resources of South-East Asia: Medicinal and Poisonous Plants*, str. 167-175. BackhuysPublishers, Leiden, 1999.
- Dimić E: Konoplja. *Hladno ceđena ulja*. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2005.
- Dimić E, Romanić R, Vujasinović V: *Essential fatty acids, nutritive value and oxidative stability of cold pressed hemp seed (Cannabis sativa L.) oil from different varieties*. *Acta Alimentaria* 38(2):229-236, 2009.
- Dimić E, Turkulov J: Rancimat test- za određivanje održivosti ulja. U *Kontrola kvalitete ulja*, str. 138-139. Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2000.
- Gross-Bošković A: *Ulje od sjemenki industrijske konoplje- rizik ili izvor hranjivih tvari?* 10. stručni skup Funkcionalna hrana u Hrvatskoj. Hrvatska agencija za hranu, Osijek, 2017.
- Gunstone FD: Composition and properties of edible oils. U *Edible oil processing, second edition*. Wiley-Blackwell, Chennai, 2013.
- Guo L, Xie MY, Yan AP, Wan YQ, Wu YM: Simultaneous determination of five synthetic antioxidants in edible vegetable oil by GC–MS. *Analitycal and bioanalytical chemistry* 386:1881–1887, 2006.

- Hazekamp A: The trouble with CBD oil. *Medical Cannabis and Cannabinoids* 1:65–72, 2018.
- Hoffmann G: *The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their High Fat Products*. Academic Press, London, 1989.
- Katalenić M: Masti i ulja u prehrani. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo* 3:9, 2007.
- Leizer C, Ribnický D, Poulev A, Dushenkov S, Raskin I: The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods* 2:35-51, 2000.
- Ljubisavljević M: *Prehrambeni proizvodi i pića*. Privredni pregled, Beograd, 1987.
- Mikulcová V, Kašpárková V, Humpolíček P, Buňková L: Formulation, Characterization and Properties of Hemp Seed Oil and Its Emulsions. *Molecules* 22:700, 2017.
- Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*, Narodne novine 11/19, 2019.
- Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje opojnih droga u veterinarstvu*, Narodne novine 18/12, 2012.
- Moslavac T: *Tehnologija ulja i masti, nastavni materijali*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno – tehnološki fakultet Osijek, 2015.
- Moslavac T, Jokić S, Šubarić D, Kelnerić L, Berović N: Utjecaj prešanja i mikrovalnog zagrijavanja na proizvodnju i održivost ulja konoplje sorte *Finola*. *Glasnik zaštite bilja* 4:56-67, 2019.
- Moslavac T, Pozderović A, Pichler A, Pašić M, Lenart L: Utjecaj antioksidansa na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. *Glasnik zaštite bilja* 5:34-42, 2010.
- O'Brien RD: *Fats and Oils: Formulating and Processing for Application*. CRC Press, Washington, 2004.
- Oomah BD, Busson M, Godfrey DV, Drover JCG: Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seedoil. *Food Chemistry* 76:33–43, 2002.
- Oštrić – Matijašević B, Turkulov J: *Tehnologija ulja i masti*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1980.
- Percival M: Antioxidants. *Clinical nutrition insights*, NUT031 1/96 Rev. 10/98, 1996.
- Rade D, Mokrovčak Ž, Štrucelj D: *Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida*, Zagreb, 2001.
- Radočaj O, Dimić E, Vujasinović V: A comparative study of the chemical and nutritional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) and hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil press-cakes. *Uljarstvo* 42:23-34, 2011.

Saini RD: Chemistry of oils&fats and their health effects. *International Journal of Chemical Engineering Research* 9:105-119, 2017.

Sapino S, Carlotti ME, Peira E, Gallarate M: Hemp-seed and olive oils: Their stability against oxidation and use in O/W emulsions. *Journal of cosmetic science* 56:227-251, 2009.

Schuler P: Natural Antioxidants Exploited Commercially. U *Food Antioxidants*, str.99-170. Springer, 1990.

Scrimgeour C: Chemistry of Fatty Acids. U *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, str. 1-43. John Wiley&Sons Inc., 2005.

Shebis Y, Iluz D, Kinel-Tahan Y, Dubinsky Z, Yehoshua Y: Natural Antioxidants: Function and Sources. *Food and Nutrition Sciences* 4:643-649, 2013.

Small E, Marcus D: Hemp: A New Crop with New Uses for North America. U *Trends in new crops and new uses*, str. 284-326. ASHS Press, Alexandria, VA, SAD, 2002.

Stričević N: *Tehnologija s poznavanjem robe*. Školska knjiga, Zagreb, 1977.

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

Uluata S, Özdemir N: Antioxidant activities and oxidative stabilities of some unconventional oil seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89:551-559, 2012.

Unicomb A: Storage and Thermal Effects on the Oxidative Stability and Emulsion Characteristics of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Oil-in-Water Emulsions. *Doktorska disertacija*. Dalhousie University Halifax, Nova Scotia, 2017.

Van Doosselaere P: Vegetable-oil Separation Technology. U *Edible oil processing, second edition*. Wiley-Blackwell, Chennai, 2013.

Web 1: Agroklub: *Industrijska konoplja*. <https://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/konoplja-80/> [15.08.2019.]

Web 2: Generalić, Eni. "Omega3 masne kiseline." *Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar*. KTF-Split, 2018. <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega3+masne+kiseline> [10.08.2019.]

Web 3: Rac, M: *Ulja i masti*, Privredni pregled, Beograd, 1964.

<https://www.tehnologijahrane.com/knjiga/ulja-i-masti#toc-xix-skladitenje-i-pakovanje-ulja-i-masti> [26.08.2019.]