

PRAĆENJE ODRŽIVOSTI BILJNOG ULJA S DODATKOM ANTIOKSIDANSA PRIMJENOM SCHAAL-OVEN TESTA

Stokić, Dajana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Polytechnic in Pozega / Veleučilište u Požegi**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:112:656421>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-08**



VELEUČILIŠTE U POŽEGI
STUDIA SUPERIORA POSEGANA

Repository / Repozitorij:

[Repository of Polytechnic in Pozega - Polytechnic in Pozega Graduate Thesis Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U POŽEGI



DAJANA STOKIĆ, MBS: 1389/14

**PRAĆENJE ODRŽIVOSTI BILJNOG ULJA S
DODATKOM ANTIOKSIDANSA PRIMJENOM
SCHAAL-OVEN TESTA**

ZAVRŠNI RAD

Požega, 2017. godine.

VELEUČILIŠTE U POŽEGI
POLJOPRIVREDNI ODJEL
PREDDIPLOMSKI STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

**PRAĆENJE ODRŽIVOSTI BILJNOG ULJA S
DODATKOM ANTIOKSIDANSA PRIMJENOM
SCHAAL-OVEN TESTA**

ZAVRŠNI RAD

IZ KOLEGIJA TEHNOLOGIJA ULJA I MASTI

MENTOR: dr. sc. Maja Ergović Ravančić

STUDENT: Dajana Stokić

Matični broj studenta: 1389/14

Požega, 2017. godine

SAŽETAK

Biljna ulja, posebice nerafinirana, podložna su oksidacijskim i hidrolitičkim promjenama pod utjecajem povišene temperature, svjetlosti i povećane vlažnosti. S obzirom da su brojna istraživanja pokazala povećanje stabilnosti biljnih ulja s dodatkom prirodnih i sintetskih antioksidansa, cilj ovoga rada je prvenstveno odrediti kakva je oksidacijska stabilnost biljnog ulja koje se nalazi na tržištu, s i bez dodatka sintetskih antioksidansa (2,6 –di-tert-butil-4-metilfenol 99,8 % (BHT), butilirani hidroksianisol 96 % (BHA), propil-galat 98 % (PG), (+)- α -tokoferol) primjenom Schaal-Oven testa u trajanju od 96 sati, u termostatu pri temperaturi 63 ± 2 °C. Promjene u analiziranim uljima praćene su određivanjem kiselinskog broja, kiselinskog stupnja, udjela slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina te peroksidnog broja. Rezultati analize stabilnosti biljnog ulja s i bez dodatka sintetskih antioksidansa primjenom Schaal-Oven testa pokazali su minimalno povećanje vrijednosti kiselinskog broja, kiselinskog stupnja i udjela slobodnih masnih kiselina, dok su vrijednosti peroksidnog broja porasle u većoj mjeri, posebice u posljednjih 24 sata.

Ključne riječi: sastav ulja i masti, autooksidacija ulja, antioksidansi

SUMMARY:

Vegetable oils, specially unrefined ones are subject to oxidation processes and hydrolytic changes under the influence of higher temperature, light and higher humidity. Considering that many researches pointed out better stability of vegetable oils with supplement of both natural and synthetic antioxidants, objective of this paper is mainly to determine vegetable oils oxidation stability which are on the market without supplement of syntetic antioxidants (2,6 –di-tert-butyl-4-methylphenol 99,8 % (BHT), butylated hydroxyanisole 96 % (BHA), propyl-galate 98 % (PG), (+)- α -tocopherol) using Schaal-Oven test which lasts 96 hours at temperature of 63 ± 2 °C. Changes are tracked by determinig acid number, acid level, proportion of free fatty acids expressed as oleic and peroxide number. Results of this analysis have shown that minumum increase in value of acid number, acid level and proportion of free fatty acid while values of peroxide number have grown more significantly, specially in last 24 hours.

Key words: composition of oils and fats, oil oxidation, antioxidants

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. PREGLED LITERATURE | 2 |
| 2.1. Sastav i struktura ulja i masti..... | 2 |
| 2.2. Sirovine za proizvodnju ulja i masti | 4 |
| 2.3. Proizvodnja biljnih ulja | 6 |
| 2.4. Kvarenje ulja i masti..... | 9 |
| 2.4.1. Enzimatsko kvarenje | 9 |
| 2.4.2. Mikrobiološko kvarenje | 10 |
| 2.4.3. Autooksidacija masti..... | 10 |
| 2.5. Određivanje oksidacijske stabilnosti i stupnja oksidacije ulja | 13 |
| 2.6. Antioksidansi | 14 |
| 2.6.1. Prirodni antioksidansi | 15 |
| 2.6.2. Sintetski antioksidansi | 16 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 20 |
| 3.1. Zadatak | 20 |
| 3.2. Metode | 20 |
| 3.2.1. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal – Oven testom..... | 20 |
| 3.2.2. Određivanje kiselinskog broja, kiselinskog stupnja i udjela slobodnih masnih kiselina | 21 |
| 3.2.3. Određivanje peroksidnog broja | 24 |
| 4. REZULTATI..... | 26 |
| 5. RASPRAVA..... | 28 |
| 6. ZAKLJUČCI..... | 30 |
| 7. POPIS LITERATURE | 31 |
| 8. POPIS TABLICA, SLIKA, KRATICA I SIMBOLA | 32 |

1. UVOD

Ulja i masti su vrlo važni u prehrani ljudi i niti jedan proizvod ne može u potpunosti nadomjestiti njihovu ulogu. Zajedno sa bjelančevinama i ugljikohidratima, pripadaju makronutrijentima. Ulja i masti sadrže esencijalne masne kiseline koje pomažu u rastu i obnovi stanica u organizmu, te na taj način ulja i masti postaju neizostavnim dijelom svakodnevne prehrane. Tek 1811. godine M. E. Chevreul je otkrio da triacilgliceroli, masne kiseline i negliceridne komponente čine sastav ulja i masti, a njihov osnovni izvor su sjemenke i plodovi biljaka, te tkiva kopnenih i vodenih životinja. Unazad sto godina su se razvitkom industrije ulja, po prvi put primjenjivali procesi dobivanja ulja odnosno, rafinacija, prešanje i ekstrakcija. Zbog svog sastava i učinkovitosti, ulja i masti se osim u prehrambenoj industriji upotrebljavaju i u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji, ali i u tehničke svrhe (Čorbo, 2006; Rac, 1964).

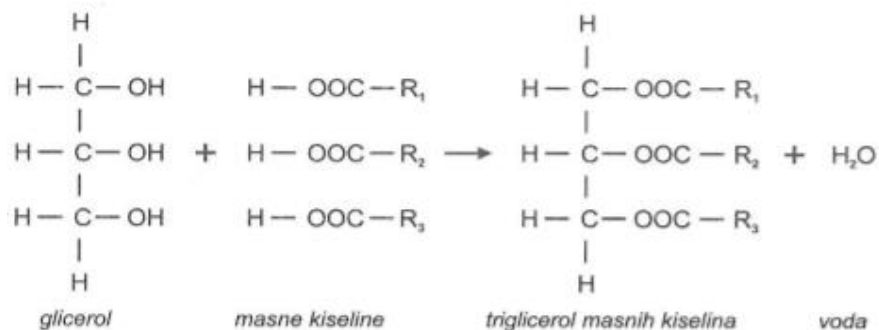
Zbog ograničenog vijeka trajanja, u sastavu ulja i masti moguće su i nepoželjne promjene koje se očituju smanjenjem prehrambene vrijednosti i promjenama organoleptičkih svojstava. Do navedenog dolazi kvarenjem ulja i masti, čime se gube esencijalne masne kiseline, vitamini i provitamini. Kod ulja i masti razlikuje se mikrobiološko kvarenje, enzimatsko kvarenje i oksidacijsko kvarenje, odnosno, autooksidacija. Najučestalije je oksidacijsko kvarenje, kod kojeg se oksidacijom nezasićenog ugljikovodičnog lanca masnih kiselina, mijenja kemijski sastav, te dolazi do narušavanja nutritivnog sastava ulja. Proces oksidacije biljnih ulja je neizbježan, a duljina trajanja procesa ovisi o samom sastavu ulja, te o prisutnosti čimbenika koji ubrzavaju odnosno usporavaju oksidaciju. Ona se može usporiti, pa čak i onemogućiti dodatkom antioksidansa koji se mogu prirodno nalaziti u ulju, a najpoznatiji prirodni antioksidansi su tokoferoli, polifenoli i steroli. Osim njih, ulogu u sprječavanju oksidacije imaju i karotenoidi i klorofili, pigmenti koji se nalaze u uljima. Ukoliko ulja i masti ne sadrže prirodne antioksidanse, učinak se može postići dodavanjem umjetnih ili sintetskih antioksidansa od kojih su najpoznatiji BHT (butil-hidroksitoulen), BHA (butil-hidroksianisol), propiol-galat i α -tokoferol (Čorbo, 2006; Ergović Ravančić, 2017).

Cilj ovoga rada je istražiti utjecaj prethodno navedenih sintetskih antioksidansa na oksidacijsku stabilnost „Zvijezda“ biljnog ulja, primjenom Schaal-Oven testa, te praćenjem promjena kvalitete pomoću odgovarajućih kemijskih analiza.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Sastav i struktura ulja i masti

Ulja i masti su tvari biljnog ili životinjskog podrijetla koje nisu topive u vodi, a sadrže pretežno estere glicerola i masnih kiselina, odnosno trigliceride. Trigliceridi koji se na sobnoj temperaturi nalaze u čvrstom stanju nazivaju se masti, a trigliceridi koji se u istim uvjetima nalaze u tekućem stanju, nazivaju se ulja. Triacilgliceroli ili trigliceridi u mastima nastaju kondenzacijom jedne molekule glicerola s tri molekule masnih kiselina pri čemu se izdvajaju tri molekule vode (Slika 1.). Ukoliko su tri masne kiseline iste, produkt je jednostavni triglicerid, a ukoliko su masne kiseline različite, produkt je mješoviti triglicerid. Jednostavni trigliceridi se mogu pripremiti iz glicerola i masnih kiselina, dok se mješoviti dobivaju samo posebnim postupcima. Mješoviti trigliceridi koji imaju tri različite masne kiseline, imaju tri izomerna oblika, a oni koji sadrže dvije različite masne kiseline imaju četiri izomerna oblika (Swern, 1972).



Slika 1. Nastajanje molekule triglicerola (Čorbo, 2008)

Monogliceridi i digliceridi su spojevi koji sadrže samo jednu ili dvije masne kiseline i stoga imaju jednu ili dvije slobodne hidroksilne skupine. U prirodi ne dolaze u većim količinama, uglavnom se nalaze u mastima koja su prošla parcijalnu hidrolizu. Smjese monoglicerida i diglicerida lako se dobivaju iz masti i glicerola tj. masnih kiselina i imaju vrlo važnu industrijsku primjenu. α -monogliceridi su puno stabilniji od svojih β -izomera, a β -izomeri se mogu lako prevesti u α -oblike. U komercijalnim proizvodima, pretežno se nalaze α -monogliceridi (Swern, 1972).

Masne kiseline su glavni gradivni elementi acilglicerola i drugih lipida kao što su fosfolipidi, glikolipidi, voskovi i dr. Masne kiseline su građene od ugljikovodika sa karakterističnom kiselinsko-karboksilnom skupinom COOH. Prema broju ugljikovih atoma, masne kiseline se dijele na višemolekularne i nižemolekularne. Također, mogu se podijeliti prema stupnju zasićenosti na zasićene i nezasićene masne kiseline.

U biljnim uljima uglavnom su zastupljene nezasićene masne kiseline, ali one mogu biti prisutne i u nekim mastima životinjskog podrijetla, kao što je npr. riblje ulje. Zasićene masne kiseline su najviše zastupljene u animalnim mastima (Tablica 1.). Nezasićene masne kiseline su prepoznatljive po tome što imaju jednu ili više nezasićenih dvostrukih veza koje uglavnom imaju cis-formu. Dvostruke veze kod polinezasićenih masnih kiselina odvojene su metilenskom (CH₂) skupinom. Nezasićene masne kiseline mogu biti u dva izomerna oblika: cis i trans-oblik (Slika 2). Trans-oblici masnih kiselina su puno stabilniji od cis-oblika i time se može objasniti stvaranje trans-izomera za vrijeme termičkog tretmana ulja prilikom rafinacije. Trans-masnih kiselina ne smije biti čak niti u tragovima (Čorbo, 2008).



Slika 2. Cis-oblik i trans-oblik masnih kiselina (Čorbo, 2008)

Tablica 1. Najvažnije zasićene i nezasićene masne kiseline u uljima (Čorbo, 2008)

| Zasićene masne kiseline | | Nezasićene masne kiseline | |
|-------------------------|--------|---------------------------|--------|
| Maslačna kiselina | C 4:0 | Palmitinska kiselina | C 16:1 |
| Kaprnska kiselina | C 6:0 | Oleinska kiselina | C 18:1 |
| Kaprilna kiselina | C 8:0 | Eladinska kiselina | C 18:1 |
| Kaprinska | C 10:0 | Eruka kiselina | C 22:1 |
| Laurinska kiselina | C 12:0 | Linolna kiselina | C 18:2 |
| Palmitinska kiselina | C 16:0 | Linolenska kiselina | C 18:3 |
| Stearinska kiselina | C 18:0 | Arahidonska | C 20:4 |
| Arahinska kiselina | C 20:0 | Klupandonska kiselina | C 22:5 |

Također, postoje i esencijalne masne kiseline koje imaju vrlo važnu ulogu u ljudskom organizmu, služe kao izvor energije, gradivni su elementi fosfolipida, sastojci su lipoproteina krvne plazme, te strukturnih elemenata staničnih membrana. Esencijalne masne kiseline su polinezasićene masne kiseline koje imaju 18, 20 i 22 ugljikova atoma. Sadrže od dvije do šest dvostrukih veza koje su u cis-konfiguraciji.

Najznačajnije esencijalne masne kiseline su one koje ljudski organizam ne može sam sintetizirati nego se trebaju unositi putem hrane, odnosno putem prirodnih ulja i masti (Tablica 2.) (Čorbo, 2008).

Tablica 2. Najznačajnije esencijalne masne kiseline u uljima (Čorbo, 2008)

| Esencijalne masne kiseline | |
|----------------------------|-------------|
| Linolna | ω -6 |
| α -Linolenska | ω -3 |
| Arahidonska | ω -6 |

Linolna kiselina je zastupljena u svim biljnim uljima, a najviše je ima u suncokretovom ulju, čak i do 70 %. Linolenske kiseline najviše ima u sojinom ulju, od 4 do 10 %, a arahidonska kiselina se nalazi većinom samo u animalnim mastima u količinama od 0,3 do 1,0 % (Čorbo, 2008).

2.2. Sirovine za proizvodnju ulja i masti

Sirovine koje se upotrebljavaju za proizvodnju ulja i masti su različite sjemenke i plodovi, kao i tkiva kopnenih, ali i morskih životinja. Uljarice su najraširenije kultivirane biljke u svijetu, a najrasprostranjenije uljarice su suncokret, soja i repica. One se uzgajaju na više od stotinu miliona hektara. Dakle, za proizvodnju ulja i masti koriste se one uljarice čija sjemenka ili plod sadrži veću količinu ulja. U svijetu postoji oko 100 vrsta uljarica, od kojih se vrlo mali dio koristi za proizvodnju ulja, svega oko 20 vrsta, a samo 12 uljarica ima nešto veći ekonomski značaj. Takve uljarice sadrže od 15 do 70 % ulja. Sirovine koje se koriste za proizvodnju ulja i masti moraju imati minimalan sadržaj ulja koji omogućuje njihovo ekonomsko racionalno izdvajanje, te sama biljka mora biti pogodna za masovnu proizvodnju. Ulja i masti se mogu podijeliti prema porijeklu sirovine ili na osnovu dominirajućih masnih kiselina.

Uljarске kulture se mogu svrstati u nekoliko skupina:

1. ulja i masti iz mesnatog dijela ploda: palmino ulje, maslinovo ulje, avokado ulje itd.
2. ulja i masti iz sjemenki ili plodova, prema dominirajućim masnim kiselinama:
 - a) ulja i masti laurinske kiseline (uljana palma, kokosov orah),
 - b) ulja linolenske kiseline (soja, lan, konoplja),
 - c) ulja palmitinske kiseline (palmino i pamukovo ulje),
 - d) ulja oleinske i linolne kiseline (suncokretovo, sezamovo, repica i dr.),
 - e) masti palmitinske i stearinske kiseline (kakao i she-a maslac).
3. ulja i masti prema porijeklu biljke:
 - a) ulja iz leguminoza (soja, kikiriki),
 - b) ulja krstašica (repica).

Najznačajnije biljne sirovine koje se koriste za proizvodnju ulja su suncokret, maslina, soja, uljana repica, uljana palma, kokosova palma, kikiriki, kukuruz, pamuk, sezam i lan. Pored njih, mogu se koristiti i neke druge sirovine koje su manje zastupljene u proizvodnji ulja, a to su badem, orah, lješnjak, mak, konoplja, gorušica, grožđe, šafranjika, ricinus, jojoba, paprika i dr. (Čorbo, 2008).

Tablica 3. Najznačajnije uljarice koje se koriste za proizvodnju ulja (Čorbo, 2008)

| Uljarica | Dio koji se koristi za dobivanje ulja | Sadržaj ulja (%) |
|-----------------|--|---------------------------|
| Soja | Sjeme | 14 – 25 % |
| Uljana palma | Mezokarp, koštice | 45 – 50 % |
| Repica | Sjeme | 38 – 45 % |
| Suncokret | Sjeme | 35 – 55 % |
| Maslina | Perikarp | 23 – 45 % |
| Kukuruz | Klica | 18 – 50 % |
| Kikiriki | Jezgra | 50 – 55 % |
| Pamuk | Sjeme | 19 – 22 % |
| Kokosova palma | Mesnati dio kokosovog oraha | 65 – 70 % |
| Sezam | Sjeme | 50 – 55 % |
| Lan | Sjeme | 30 – 45 % |

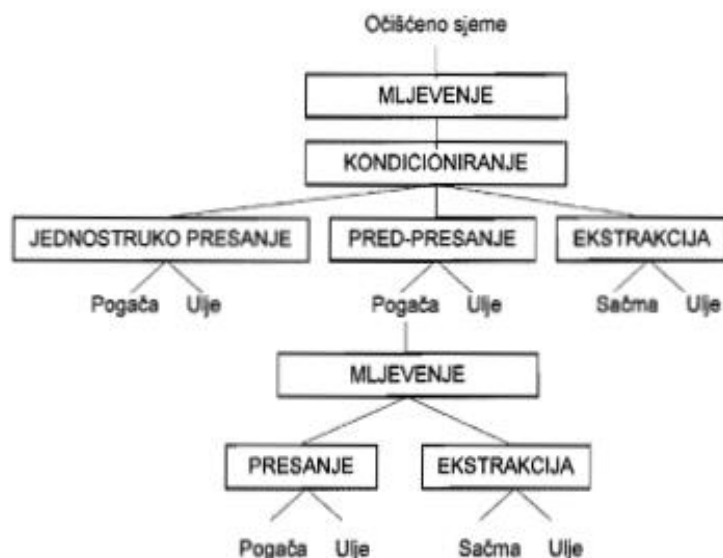
Jestivo biljno ulje je proizvod koji se dobiva rafinacijom jedne ili više vrsta sirovih biljnih ulja. Kao naziv proizvoda, na deklaraciji jestivog biljnog ulja, navodi se samo „Jestivo biljno ulje“ i trgovačko ime. Na ovakvim uljima, ne navodi se osnovni sastav i proizvod nema sliku uljarica koje su se upotrebljavale za proizvodnju takvog ulja. Jestivo biljno ulje koje se stavlja u promet mora biti svojstvene boje i bistro na 20 °C, mora biti neutralnog do svojstvenog mirisa, bez prisutnosti stranog ili užeglog mirisa i okusa, ne smije sadržavati više od 0,2 % slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj ulja ne smije biti viši od 5,0 mmol O₂/kg, te ne smije sadržavati više od 0,2 % vode i tvari koje su hlapljive na 105 °C (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, 2012; 2013).

Životinjske masti

Sirovine životinjskog podrijetla koje se koriste za proizvodnju masti su svinjska mast, goveđi loj, loj koza i ovaca, masti morskih sisavaca, te mliječne masti i maslac. Životinjsko masno tkivo se nalazi u različitim dijelovima tijela životinje. Mast se dobiva mokrim ili suhim načinom topljenja masnog tkiva. U masnom tkivu, pored masti, nalaze se još i fosfolipidi, kolesterol, pigmenti, vitamini, ugljikohidrati te mineralne tvari. Masno tkivo životinja, najviše se koristi u proizvodnji različitih mesnih proizvoda i daje im ugodan okus i miris. Mast koja se dobiva topljenjem najčešće se koristi pri izradi modificiranih čvrstih masti, a može se koristiti i u pekarskoj i konditorskoj industriji. Masti morskih sisavaca bogate su vitaminima A i D, te ω -3 i ω -6 masnim kiselinama, a dobivaju se preradom morske i slatkovodne ribe, riblje jetre te masnog tkiva kita. Ulje ili mast se dobiva preradom cijele ribe uz ekstrakciju i odvajanje ribljeg ulja. Ulja morskih sisavaca osim u prehrani, koriste se i u tehničke svrhe za dobivanje sapuna, premaza, boja i dr. (Čorbo, 2006).

2.3. Proizvodnja biljnih ulja

Prije same proizvodnje biljnih ulja, sirovine se moraju prethodno pripremiti ljuštenjem, mljevenjem i kondicioniranjem kako bi se omogućilo lakše izdvajanje ulja iz sjemenke, te kako bi se sačuvala hranjiva i biološka vrijednost ulja. Ulja ili masti iz sjemenki i plodova uljarica izdvajaju se prešanjem ili ekstrakcijom sa otapalima (Slika 3.).



Slika 3. Prerada sjemena i plodova uljarica (Čorbo, 2008)

Prešanje

Prešanje je jedna od najstarijih metoda izdvajanja ulja iz sirovine. Prešanje je mehanička ekstrakcija materijala, a najčešće se radi ekstrakcija taloga. Postoji nekoliko principa prešanja, a to su da ulje nakon prešanja zadrži svoja prirodna svojstva, da ima manje nepoželjnih sastojaka kako bi se pri rafinaciji moglo obrađivati blagim sredstvima i da je ulje dobre kvalitete, te ugodnog mirisa i okusa na sirovinu iz koje je dobiveno. Nakon prešanja, osim ulja nastaje i uljana pogača, koja se može koristiti za proizvodnju stočne hrane, u ljudskoj prehrani ili kao industrijska sirovina. Smatra se da je postupak prešanja bolji od ekstrakcije, jer ulje dobiveno prešanjem zadržava svoja prirodna svojstva i ima manje nepoželjnih sastojaka. Međutim, s obzirom da se prešanjem ne može izdvojiti cjelokupni sadržaj ulja iz sirovine, primjenjuje se i ekstrakcija sa otapalima. Nakon prešanja, najviše ulja ostaje u pogači, ali se ekstrakcijom sadržaj ulja u pogači može smanjiti na manje od 1 % (Čorbo, 2008).

Ekstrakcija

Ekstrakcija je postupak kojim se vrši izdvajanje jedne ili više komponenti iz krute ili tekuće tvari. Svrha ekstrakcije je da se nakon prešanja izdvoji što više ulja iz sirovine. Kod sirovine koja je spremna za preradu, ulje može biti slobodno ili vezano unutar stanične stjenke. Ulje koje je vezano u staničnoj stijenci, izdvaja se procesom difuzije, odnosno, procesom prijenosa tvari iz jednog sustava u drugi. Prije ekstrakcije, sjemenke se moraju pripremiti na način da se očiste od stranih primjesa, oljušte, zagriju i samelju.

Sjemenke se melju u listiće kako bi ekstrakcija bila uspješnija, tj. kako bi se postigla bolja propusnost otapala kroz materijal, bolja difuzija, kao i izmjena koncentracije ulja u otapalu. Najčešće korištena otapala za ekstrakciju su heksan, etanol, aceton, etil-eter, sumporougljik, klorirani ugljikovodici i dr. Na kraju ekstrakcije dobiva se miscela iz koje se mora destilacijom odvojiti otapalo, ali prvo ju je potrebno očistiti tj. profiltrirati kako bi se odvojile nečistoće. Kao nus-proizvod ekstrakcije nastaje sačma koja se također kao i uljana pogača može koristiti za ljudsku prehranu, za proizvodnju stočne hrane ili kao industrijska sirovina.

Nakon prešanja i ekstrakcije, ulje ide na čišćenje, nakon kojeg se dobiva sirovo ulje koje se rafinira. Nečistoće koje se mogu nalaziti u ulju su voda, mehaničke nečistoće (dijelovi sjemenja, plodova, ljuske i dr.), te sluzave tvari. Mehaničke nečistoće iz ulja se mogu ukloniti taloženjem (sedimentacijom) i filtracijom (Čorbo, 2008).

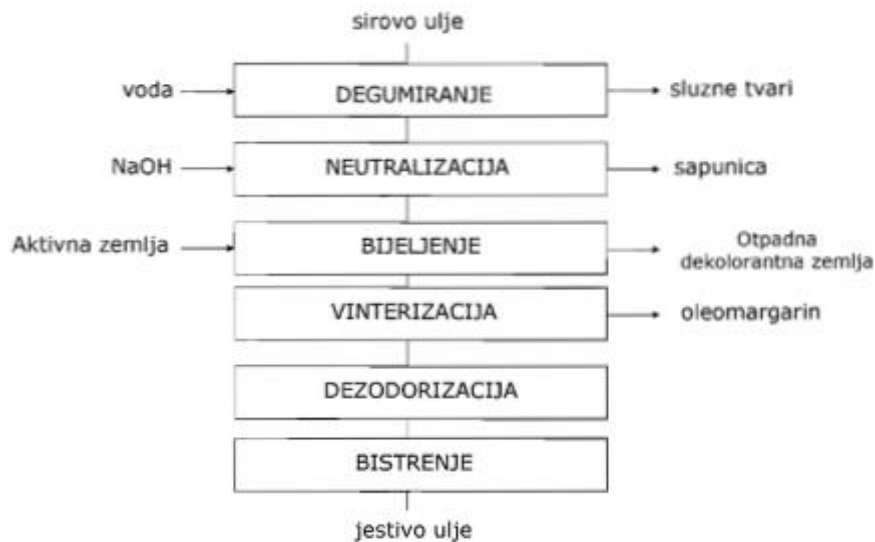
Rafinacija

Rafinacija ulja i masti je postupak kojim se uklanjaju sastojci koji smanjuju stabilnost proizvoda tj. senzorska svojstva i održivost ulja. Obuhvaća više procesa koje je potrebno napraviti kako bi proizvod bio spreman za potrošača.

Nepoželjni sastojci u ulju su različitog podrijetla, a mogu biti sastojci koji se nalaze u ulju, a rastvaraju se u ulju (proteini, pigmenti i dr.), razgradni produkti koji su prisutni u zrnu ili nastaju za vrijeme skladištenja (peroksidi, ketoni, aldehidi i dr.), te kemikalije koje su se prethodno dodavale za bolji rast biljke, onečišćenja iz opreme, iz drugih ulja i sl. Međutim, osim štetnih sastojaka, rafinacijom se mogu ukloniti i vrijedne komponente ulja (vitamini, provitamini, antioksidansi i dr.). Kako bi se to spriječilo, procesi rafinacije bi se trebali odvijati na nižim temperaturama i trajati što kraće. Postupak rafinacije obuhvaća degumiranje, neutralizaciju, bijeljenje, vinterizaciju, dezodorizaciju i bistrenje ulja (Slika 4.).

Degumiranjem se iz ulja uklanjaju sluzave tvari (fosfolipidi, bjelančevine i lipoproteini) koje otežavaju taloženje i mogu uzrokovati rafinacijske gubitke zbog emulgatorskih svojstava. Neutralizacija je postupak kojim se iz sirovog ulja uklanjaju slobodne masne kiseline. Dekoloracijom se iz ulja odvajaju obojeni pigmenti, adsorpcijom pomoću aktivne zemlje i ugljena ili kemijskih sredstava. Vinterizacija je proces frakcijske kristalizacije koja ima cilj da ulje na niskoj temperaturi ostane bistro. Dezodorizacijom se iz predrafiniranih ulja i masti destilacijom vodenom parom u vakuumu, uklanjaju nositelji neugodnih mirisa i okusa.

Nakon dezodorizacije, ulje ide na hlađenje i bistrenje. Od početka hlađenja i filtriranja treba proći od 1 do 7 dana, kako bi se talog potpuno izdvojio i time bi ulje koje je napunjeno u ambalažu ostalo bistro (Čorbo, 2008).



Slika 4. Procesi rafinacije ulja (Čorbo, 2008)

2.4. Kvarenje ulja i masti

Ulja i masti imaju ograničeno vrijeme trajanja, nakon kojeg dolazi do nepoželjnih promjena. Na stupanj kvarenja ulja i masti može utjecati vrsta sirovine, kemijski sastav te uvjeti prerade i skladištenja. Osim što dolazi do promjena u organoleptičkim svojstvima ulja i masti, mijenja se i njihova prehrambena vrijednost. Kada dođe do kvarenja ulja i masti, mijenja se i gubi dio bioloških aktivnih tvari kao što su vitamini, provitamini, esencijalne masne kiseline i druge važne tvari. Također, kao posljedica kvarenja stvaraju se razni razgradni produkti koji uljima i mastima daju neugodan miris i okus, a može doći i do užeglosti. Postoje tri osnovna tipa kvarenja ulja i masti, a to su enzimatsko kvarenje, mikrobiološko kvarenje i oksidacijsko kvarenje, odnosno autooksidacija ulja i masti (Čorbo, 2008).

2.4.1. Enzimatsko kvarenje

Enzimatsko i mikrobiološko kvarenje javlja se kod onih ulja i masti kod kojih postoje odgovarajući uvjeti za razvoj takve vrste kvarenja kao što su određena pH sredina, voda i dr.

Enzimatsko kvarenje uzrokuju lipolitički enzimi koji uz prisutnost vode uzrokuju hidrolizu triacilglicerola, pri čemu se oslobađa jedna ili više molekula masnih kiselina i glicerola, a kao posljedica toga dolazi do povećanja količine slobodnih masnih kiselina.

Optimalna temperatura za razvoj enzima lipaze je 45 °C, temperatura viša od 55 °C ubrzava proces, a temperature iznad 80 °C i ispod -20 °C dovode do inaktivacije enzima. Ova vrsta kvarenja je karakteristična za ulja i masti koja se nalaze u samoj sirovini. Prilikom hidrolitičkog kvarenja nastaju ketoni koji uljima i mastima daju neugodan miris i okus (Čorbo, 2008).

2.4.2. Mikrobiološko kvarenje

Mikrobiološko kvarenje se javlja kod svih vrsta masnoća i proizvoda koji sadrže veće količine masti. Za mikrobiološko kvarenje karakteristična je hidrolitička razgradnja i β -ketoooksidacija. Mikrobiološko kvarenje ulja i masti uzrokuju gljivice *Aspergillus* i *Penicillium*, te bakterije *Bacillus mesentericus* i *Bacillus subtilis*. Posljedica ovakve vrste kvarenja je neugodan miris i okus odnosno miris užeglosti. Također, djelovanjem nekih vrsta mikroorganizama, mogu nastati različiti pigmenti koji uzrokuju obojenje ulja i masti. Razvoj mikroorganizama i β -ketoooksidacija mogu se spriječiti primjenom sterilizacije, pasterizacije, podešavanjem pH ili dodatkom aditiva (Čorbo, 2008).

2.4.3. Autoooksidacija masti

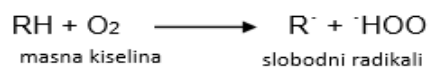
Autoooksidacija je proces oksidacije ugljikovodikovog lanca masnih kiselina i javlja se gotovo kod svih vrsta masti. Nastupa kada je ulje ili mast u kontaktu sa kisikom. Kisik djeluje na zasićene masne kiseline samo pri vrlo oštrim uvjetima ili biološkom katalizom. Tada se kisik veže na C-3, odnosno β -položaj i tu reakciju nazivamo β -oksidacija. Kao posljedica toga nastaju peroksidi koji pospješuju aktivnu oksidaciju. β -oksidaciju uzrokuju mikroorganizmi ili enzimi onda kada masti nisu čiste ili su dio neke namirnice gdje se uz masti nalazi voda ili neke druge tvari koje služe kao hranjivi supstrat mikroorganizmima. Primarni produkti koji nastaju tijekom procesa β -oksidacije su β -keto-kiseline, a sekundarni produkti ove reakcije su metil-ketoni koji uljima i mastima daju neugodan miris po užeglosti. β -oksidacija se može spriječiti sterilizacijom, pasterizacijom, podešavanjem pH sredine ili dodavanjem konzervansa (Čorbo, 2008).

Faze autooksidacije

U prvoj, odnosno početnoj fazi autooksidacije koncentracija produkata je vrlo mala te ne djeluje na prehrambenu vrijednost i na organoleptička svojstva. Ta faza se naziva vrijeme indukcije ili induksijski period. U induksijskom periodu nastaju slobodni radikali jer kisik iz zraka djeluje na nezasićene masne kiseline u molekuli triglicerida. Slobodni radikali nastavljaju reagirati sa masnim kiselinama i stvaraju nove slobodne radikale, te dolazi do ubrzavanja procesa i nastajanja lančanih reakcija.

U drugoj fazi autooksidacije, iz slobodnih radikala se stvaraju hidroperoksidi i slobodni radikali peroksida vezanjem kisika na slobodne radikale masnih kiselina. Hidroperoksidi su primarni produkti oksidacije i vrlo su nestabilni, zato se dalje razgrađuju na slobodne radikale i razgradne produkte oksidacije. Reakcija oksidacije se nastavlja sve dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno stvarajući polimere koji nisu aktivni i tako se završava proces oksidacije (Slika 5.) (Ergović Ravančić, 2017).

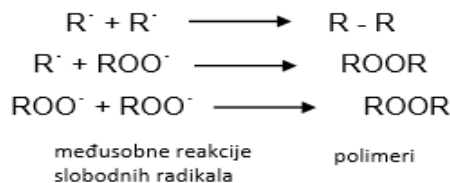
a) Početak reakcije



b) Tijek reakcije



c) Završetak reakcije



Slika 5. Faze autooksidacije (Ergović Ravančić, 2017)

Ukoliko dođe do konzumiranja hrane koja sadrži proizvode oksidacije, oksidacija se može nastaviti *in vivo*. Tada slobodni radikali i njihovi produkti mogu sudjelovati u nastanku nekih bolesti. Upravo zbog toga je vrlo važno zaustaviti reakciju oksidacije dodatkom antioksidansa koji će značajno usporiti oksidaciju.

Kvarenje ulja i masti oksidativnim procesima je najčešći oblik kvarenja koji se javlja. Tijekom oksidacije ulja i masti dolazi do promjena kemijskog sastava, te do pogoršavanja nutritivnih, ali i senzorskih svojstava ulja i masti. U prvoj fazi oksidacije, količina hidroperoksida je vrlo mala i ne djeluje na organoloptička svojstva masti niti na prehrambenu vrijednost. Razgradnjom hidroperoksida nastaju sekundarni produkti oksidacije kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi, masne kiseline, epoksidi i oksid masne kiseline koje daju uljima neugodan miris i okus. Oksidirana ulja i masti gube esencijalne masne kiseline, vitamine i provitamine te kao takva imaju toksično djelovanje. Zato je potrebno spriječiti kvarenje ulja i masti tijekom tehnološkog postupka, ali i tijekom skladištenja. Potrebno je izbjegavati dugotrajnu upotrebu masti koja se koristila za duboko prženje hrane te vršiti stalnu kontrolu masti, a oksidiranu mast ne koristiti u prehrani. Oksidacijski procesi razgradnje mogu ovisiti o više čimbenika kao što su sama sirovina od koje se proizvodi ulje ili mast, sastav ulja i masti, uvjeti čuvanja te sastojci koji mogu ubrzati ili usporiti reakciju (Ergović Ravančić, 2017; Čorbo, 2008).

Faktori koji ubrzavaju autooksidaciju su:

- temperatura,
- svjetlo,
- tragovi metala (Fe, Ni, Cu i dr.).

Oksidacija se ubrzava povećanjem temperature, a usporava se sniženjem temperature. Na temperaturi 100 °C, proces autooksidacije se naglo ubrzava, čak i do 300 puta, što ovisi o količini raspoloživog kisika. Proces se može usporiti čuvanjem na niskoj temperaturi, ali se ne može spriječiti. Zbog toga dođe do užglosti nekih proizvoda nakon određenog vremena, iako se čuvaju na nižim temperaturama. Masti i ulja se mogu sačuvati duže vrijeme ako se čuvaju u tamnim i hladnim prostorijama na temperaturi od 0 – 4 °C (Čorbo, 2008).

Pod utjecajem svjetla i metala oksidacija je ubrzana i dolazi do razgradnje hidroperoksida. Upravo zbog toga je poželjno ulja i masti čuvati u tamnoj ambalaži i u tamnijem prostoru. Metali koji su prisutni u malim koncentracijama imaju prooksidativno djelovanje kod već nastalih hidroperoksida, dok su temperatura i svjetlo uzročnici početka autooksidacije. Od metala u ulju, najčešće se mogu naći tragovi bakra i željeza, a njihovo prooksidativno djelovanje može se spriječiti dodatkom nekih antioksidansa (Čorbo, 2008).

2.5. Određivanje oksidacijske stabilnosti i stupnja oksidacije ulja

Oksidacijska stabilnost ulja je period u kojem se ulje može sačuvati od intenzivnog procesa autooksidacije. Vrlo je važno poznavati oksidacijsku stabilnost ulja kako bi se moglo unaprijed odrediti vrijeme čuvanja bez velikih promjena u kvaliteti ulja. Oksidacijska stabilnost može utjecati na senzorska, nutritivna i kemijska svojstva ulja, stoga je vrlo važna za proizvođačku i potrošačku kvalitetu ulja (Ergović Ravančić, 2017).

Jedna od najjednostavnijih metoda određivanja oksidacijske stabilnosti ulja i masti je Schaal-Oven test. Njime se ispituju oksidacijske promjene ulja, čiji su uvjeti najbliži realnim uvjetima njihovog čuvanja. Ovim testom se prati više čimbenika na temelju kojih se može zaključiti da li je došlo do oksidacijskog kvarenja i u kojoj mjeri. To se može pokazati na način da se određuju vrijednosti peroksidnog broja nakon što uzorak određeno vrijeme bude u termostatu pri temperaturi od 63 ± 2 °C ili vrijeme u danima koje je potrebno da se pojavi užeglost ili broj dana za koji se postiže određena vrijednost peroksidnog broja koja je unaprijed utvrđena (Ergović Ravančić, 2017).

Prilikom određivanja stupnja oksidacijskog kvarenja ili užeglosti ulja i masti može se koristiti više metoda. Stupnjem oksidacije može se odrediti kvaliteta ulja i masti, njihova upotrebljivost u prehrani kao i vrijeme skladištenja. Postoji veći broj metoda za praćenje oksidacijskih promjena, ali niti jedna ne obuhvaća sve produkte razgradnje i zbog toga se koristi više metoda da bi se dobio što bolji uvid u stupanj oksidacije nekog ulja ili masti (Čorbo, 2008). Metode za određivanje produkata oksidacije:

- senzorska ispitivanja,
- peroksidni broj,
- ansidinski broj,
- specifične apsorbancije.

Senzorska ispitivanja su subjektivna i nedovoljna da bi se dobila konačna ocjena proizvoda, ali su vrlo bitna kod ispitivanja kvalitete ulja. Prilikom senzorskog ispitivanja ulja, određuje se nepoželjan, užegli okus i miris koji nastaje zbog prisutstva razgradnih produkata oksidacije (Čorbo, 2008).

Određivanje peroksidnog broja je jedna od metoda koja se najčešće koristi prilikom ispitivanja primarnih produkata oksidacije pri čemu se najviše koriste jodometrijske metode. Peroksidni broj se izražava u milimolovima aktivnog kisika po kilogramu masti. Smatra se da

postoji dobra korelacija između senzorskih svojstava i između vrijednosti peroksidnog broja, ali ju je kod biljnih ulja koja nisu rafinirana teško odrediti, jer takva ulja imaju vrlo izraženu aromu (Čorbo, 2008).

Vrijednost peroksidnog broja može biti vrlo promjenjiva, te prvenstveno ovisi o vremenu uzimanja uzorka, tako da dva uzorka uzeta iz iste šarže, ali u različito vrijeme, neće imati istu vrijednost peroksidnog broja. Uzimanje uzorka za analizu također može utjecati na mjerenje peroksidnog broja, stoga je prilikom uzorkovanja potrebno uzeti uzorak sa površine, sredine i dna posude u kojoj se nalazi uzorak, kako bi uzorak bio što reprezentativniji (Ergović Ravančić, 2017).

Tablica 4. Maksimalno dopuštene vrijednosti peroksidnog broja za rafinirana i hladno prešana ulja (Pravilnik o jestivim uljima i mastima, 2012; 2013)

| Peroksidni broj | |
|------------------------|-----------------------------|
| Rafinirana ulja | < 5 mmol O ₂ /kg |
| Hladno prešana ulja | < 7 mmol O ₂ /kg |

Ansidskim brojem određuju se sekundarni produkti oksidacije ulja i masti. Određivanjem ansidskog broja može se procijeniti održivost jestivog ulja. Ukoliko je manja vrijednost ovoga broja, održivost ulja je veća i obrnuto. Iz vrijednosti peroksidnog broja i ansidskog broja, može se izračunati oksidacijska vrijednost ili totox broj koji govori o sadržaju primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Čorbo, 2008).

Specifične apsorbancije su važne kod definiranja stupnja nastalih promjena oksidacije. Ulja koja nisu oksidirana obično ne pokazuju apsorpcijske maksimume u UV-području, ali u toku oksidacije dolazi do nastanka konjugiranih sistema, te primarnih i sekundarnih produkata oksidacije i stoga je važno praćenje specifičnih apsorbancija. Primarni produkti oksidacije pokazuju maksimum apsorpcije na 232 nm, a sekundarni produkti oksidacije na 270 nm. Ulja su više oksidirana ukoliko su vrijednosti apsorbancije pri 232 i 270 nm veće (Čorbo, 2008).

2.6. Antioksidansi

Antioksidansi su tvari koje prisutne u malim količinama u odnosu na supstrat koji je sklon oksidaciji (lipidi, proteini, ugljikohidrati), inhibiraju ili čak potpuno sprječavaju njihovu oksidaciju. Antioksidansi se koriste za stabilizaciju ulja i masti. Dodani u malim

koncentracijama, u manjoj ili većoj mjeri, mogu usporiti proces autooksidacije. Danas postoji veliki broj prirodnih i sintetskih antioksidansa koji se koriste kao inhibitori oksidacije.

Antioksidansi mogu spriječiti proces autooksidacije sve dok traje njihovo djelovanje, koje može biti jače ili slabije, ovisno o vrsti antioksidansa koji se koristi, koncentraciji u kojoj se dodaje, vrsti masti i uvjetima čuvanja. Osim što produžuje održivost ulja i masti, dodatak antioksidansa također produžuje i trajnost svih proizvoda koji sadrže masnoće. Antioksidansi bi se trebali dodavati u svježe ulje koje ima nizak peroksidni broj, jer na već oksidirano antioksidans ne može djelovati. Usporavanje autooksidacije traje sve dok se prisutni antioksidans potpuno ne iscrpi. U svakoj zemlji postoje zakonski propisi kojima se određuje koji antioksidansi i u kojim količinama su dozvoljeni kao aditivi za jestiva ulja i masti. Antioksidanse je dozvoljeno dodavati u ulja i masti u koncentraciji od 0,005 % do 0,02 %, kako bi se održivost povećala za 3 do 6 puta (Čorbo, 2008).

Antioksidansi djeluju tako da doniraju vodik slobodnim radikalima i tako im smanjuju energiju te ih stabiliziraju. Konačni spojevi koji nastaju su stabilni i ne djeluju na daljnje promjene za vrijeme autooksidacije (Ergović Ravančić, 2017).

Antioksidansi koji se koriste u prehrani, moraju ispunjavati ove uvjete (Čorbo, 2008):

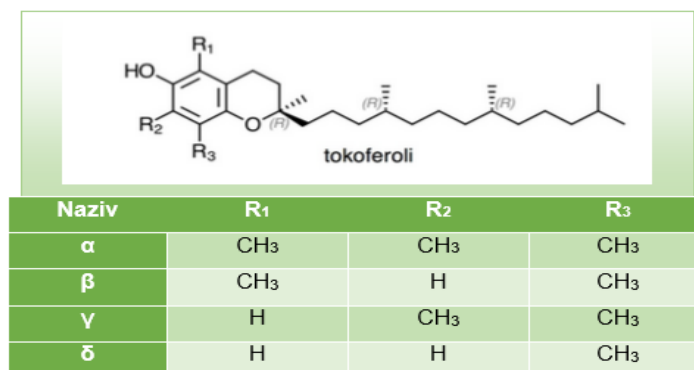
- moraju aktivno djelovati u vrlo malim koncentracijama (0,001-0,02 %),
- moraju se dobro rastvarati u uljima i mastima,
- moraju djelovati i na proizvod u kojem se mast nalazi, a ne samo na mast,
- ne smiju uzrokovati strani miris, okus i boju ulja ili masti,
- njihova identifikacija u proizvodima mora biti jednostavna,
- moraju biti jeftini.

2.6.1. Prirodni antioksidansi

Biljna ulja imaju veću stabilnost prema oksidacijskim procesima kvarenja u odnosu na životinjske masti, jer imaju veći sadržaj prirodnih antioksidansa. Tokoferoli su najvažniji i vrlo rasprostranjeni prirodni antioksidansi. Sadrže u mastima topljivi vitamin E, te imaju vrlo važno svojstvo dopunjavanja vitamina A, odnosno oni „štede“ vitamin A.

Tokoferoli su se pokazali kao vrlo učinkoviti antioksidansi. Postoje tri osnovna tokoferola, a to su α -, β - i γ - tokoferol, koji na običnim temperaturama pokazuju gotovo isto antioksidacijsko djelovanje (Slika 6.). U novije vrijeme u sojinom ulju je otkriven i δ -tokoferol, a kasnije su otkrivena još tri nova tokoferola. Tokoferoli su manje djelotvorni antioksidansi na

svjetlu nego u mraku. Kao i svi ostali antioksidansi, tako se i tokoferoli lako oksidiraju. Prilikom oksidacije tokoferola nastaju tokokinoni koji nisu antioksidansi (Swern, 1972).



Slika 6. Kemijske strukture tokoferola (Ergović Ravančić, 2017)

Pored tokoferola, vrlo važan prirodni antioksidans je lecitin koji je smjesa različitih fosfolipida. Prisutnost fosfolipida u sirovim uljima, omogućuje im veću stabilnost od rafiniranih ulja. Također, veliku ulogu u održivosti ulja i masti sve više imaju eterična ulja i ekstrakti različitog začinskog bilja poput ružmarina, kadulje, origana, timijana i dr. Oni imaju izrazito veliko antioksidacijsko djelovanje i vrlo su stabilni pri visokim temperaturama (98 – 194 °C) (Ergović Ravančić, 2017).

Prirodni antioksidansi su uglavnom skuplji od sintetskih, ali također prirodni antioksidansi su zdravstveno sigurniji u prehrani te imaju efikasnije i jače djelovanje nego sintetski antioksidansi (Moslavac et al., 2009).

Visoka stabilnost sezamovog ulja i ulja rižinih posija posljedica je prisutnosti antioksidansa značajno jačeg djelovanja od tokoferola. Sezamovo ulje sadrži oko 0,5 do 1 % sezamina i 0,3 do 0,5 % sezamolina, glukozida fenolnog spoja sezamola, a sezamol je po svojim svojstvima vrlo jak antioksidans. Smatra se da sezamol nastaje za vrijeme tehnološke obrade sezamova ulja i upravo zbog njegove prisutnosti, sezamovo ulje je natprosječne stabilnosti. Gosipol je kompleksna fenolna supstanca koja također ima vrlo jaka antioksidativna svojstva. Nalazi se samo u sirovom pamukovom ulju, dok je u rafiniranom ulju nema (Swern, 1972).

2.6.2. Sintetski antioksidansi

Sintetski antioksidansi koji se najviše koriste su butil-hidroksianisol (BHA), butil-hidroksitoulen (BHT), terc-butilhidrokion (TBHQ), propil-galat (PG), butil-galat (BG), oktil-

galat (OG) i dodecil-galat (DG). Sintetski antioksidansi mogu se dodavati u koncentracijama od 0,01 do 0,02 % (Slika 7.) (Čorbo, 2008).

Butil-hidroksianisol (BHA, E320) je sintetski antioksidans koji inhibira oksidativne promjene u uljima i mastima, te bojama i aromama, koje su uzrokovane djelovanjem kiselina. Vrlo često se koristi zajedno sa galatima (E310, E311, E312), TBHQ (E319) i BHT (E321). Na taj način se njihovi učinci međusobno povećavaju. BHA se proizvodi kemijskom sintezom iz p-metoksifenola i izobutilena. Postoji opasnost od njegovog nakupljanja u masnim tkivima, moguće kancerogenosti, te negativnih učinaka na razinu kolesterola i masnih kiselina u krvi. Često konzumiranje ovoga antioksidansa nije preporučljivo, a u hrani za djecu je zabranjen (E-brojevi, 25.4.2017. url).

Butil-hidroksitoluen (BHT, E321) je sintetski antioksidans koji također kao i BHA inhibira oksidacijske promjena u uljima, mastima, bojama i aromama koje su izazvane djelovanjem kiselina. Koristi se u kombinaciji sa galatima (E310, E311, E312), TBHQ (E319) i BHA (E320), jer se njihovi učinci međusobno povećavaju. BHT se proizvodi kemijskom sintezom iz p-krezola i izobutilena uz sumpornu kiselinu koja služi kao katalizator. Koristi se i u kozmetici i farmaceutskim proizvodima. Može imati kancerogeno djelovanje i potrebno ga je izbjegavati. BHT je dopušteno upotrebljavati u mastima i uljima za profesionalnu proizvodnju toplinski obrađene hrane, uljima i mastima za prženje (osim ulja iz komine maslina), svinjskoj masti, ribljim uljima, te masti peradi, goveda i ovaca u količini od 100 mg/kg, izraženo na masni udio. Također, upotrebljava se u gumama za žvakanje i nekim dopunama prehrani u količini 400 mg/kg (E-brojevi, 25.4.2017. url).

Propil-galat (E310) je propilni ester galne kiseline koja je prirodni biljni fenolni spoj. Esteri galne kiseline najčešće se koriste za stabilizaciju biljnih i životinjskih masti jer sprječavaju njihovu oksidaciju. Vrlo često se kombiniraju sa ostalim sintetskim antioksidansima kao što su BHA, BHT i TBHQ jer se tako njihovi učinci međusobno povećavaju. Svi galati mogu uzrokovati alergije, posebno kod osoba koje su oboljele od astme i koje su osjetljive na acetilsalicilnu kiselinu. U većim količinama mogu uzrokovati iritaciju želudca i kože. Prilikom prženja namirnica na temperaturama većim od 190 °C, galati vežu ione željeza i stoga kod djece mogu uzrokovati cijanozu tj, sniženje koncentracije kisika u krvi. Zato se ne smiju dodavati u hranu za dojenčad i djecu, te njihovo često konzumiranje nije preporučljivo (E-brojevi, 25.4.2017. url).

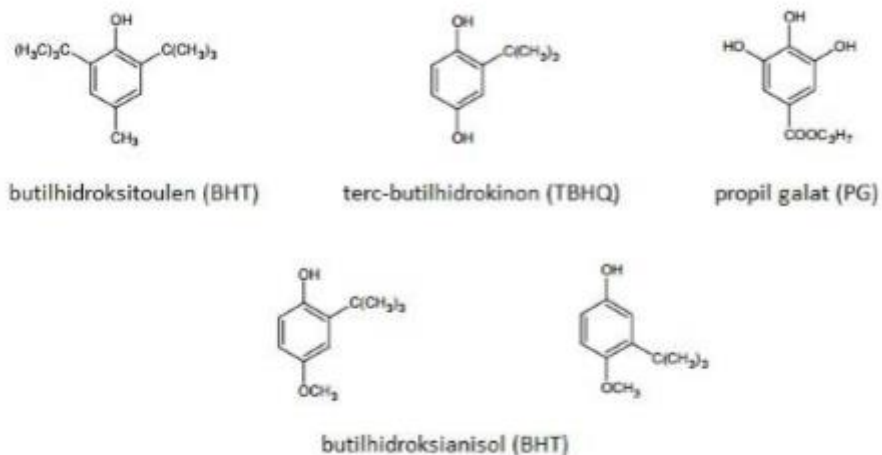
Tablica 5. Dopuštena upotreba i količine propil-galata (E-brojevi, 23.4.2017. url.)

| DOPUŠTENA UPOTREBA PROPIL-GALATA | KOLIČINA |
|---|-----------------|
| Dehidrirani krumpir | 25 mg/kg |
| Arome (osim eteričnih ulja) | 100 mg/kg |
| Masti i ulja za profesionalnu proizvodnju toplinski obrađene hrane, masti i ulja za prženje, osim ulja iz komine maslina, svinjska mast, riblje ulje, mast peradi, ovčja i goveđa mast, smjese za kolače, grickalice na bazi žitarica, pretkuhane žitarice, prerađeni orašasti plodovi, umaci, začini, dehidrirane juhe, dehidrirano meso, te mlijeko u prahu za prodajne automate. | 200 mg/kg masti |
| Guma za žvakanje | 400 mg/kg |
| Eterična ulja | 1000 mg/kg |

Oktil-galat (E311) je sintetski antioksidans koji se proizvodi kemijskom sintezom kao oktilni ester galne kiseline. Česta konzumacija ovog antioksidansa nije preporučljiva (E brojevi, 25.4.2017. url.).

Dodecil-galat (E312) je također sintetski antioksidans koji se proizvodi kemijskom sintezom kao ester galne kiseline. Njegovo često konzumiranje također nije preporučljivo (E brojevi, 25.4.2017. url.).

Prilikom korištenja, BHT i BHA djeluju sinergistički, a BHT je stabilniji na visokim temperaturama od BHA. Ova dva antioksidansa pokazuju dobru antioksidacijsku aktivnost posebno u životinjskim mastima i stoga su vrlo djelotvorni za usporavanje oksidacije takvih masti. Propil-galat je sintetski antioksidans koji se najčešće koristi, ali se razgrađuje na visokim temperaturama i stoga ga nije poželjno dodavati u ulja i masti koja su namijenjena za prženje. TBHQ se preporučuje za stabilizaciju sirovih i jestivih biljnih ulja (Ergović Ravančić, 2017).



Slika 7. Kemijske strukture sintetskih antioksidansa (Ergović Ravančić, 2017)

Također, postoje i spojevi koji sami po sebi nemaju antioksidacijsko djelovanje, ali se mogu dodavati u antioksidanse i tako produžuju njihovo djelovanje do tri puta. Ti spojevi se nazivaju synergisti i njihova količina koja se dodaje u antioksidanse regulirana je posebnim zakonskim propisima. Uz antioksidanse synergisti se dodaju u koncentraciji od 0,005 do 0,2 %. Nazivaju se i sekundarni antioksidansi jer usporavaju procese kvarenja, a pri tome ne prevode radikale u stabilne molekule. Synergisti djeluju tako da reduciraju antioksidans dajući mu vodikov atom. Tako se produžuje vrijeme njegovog djelovanja, a mogu se i vezati sa tragovima metala i tako prekinuti njihovo prooksidacijsko djelovanje na autooksidaciju. Najčešće korišteni synergisti u kombinaciji sa antioksidansima su kiseline (limunska, vinska, askorbinska i octena) te lecitin (Čorbo, 2006; Ergović Ravančić 2017).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Zadatak

Zadatak ovoga rada je ispitati utjecaj sintetskih antioksidansa na oksidacijsku stabilnost „Zvijezda“ biljnog ulja. Sintetski antioksidansi koji su se koristili su propil-galat, α -tokoferol, BHT (2,6-di-tert-butil-4-metilfenol 99,8 %), te BHA (butilirani hidroksianisol 96 %). Utjecaj navedenih sintetskih antioksidansa ispitivao se na „Zvijezda“ biljnom ulju koje je proizvedeno miješanjem suncokretovog, sojinog i repičinog ulja. „Zvijezda“ biljno ulje je miješano rafinirano ulje neutralnog okusa i mirisa (Zvijezda, 26.4.2017. url.). Oksidacijska stabilnost određivala se pomoću Schaal-Oven testa u trajanju od 96 sati, pri čemu su se svakih 24 sata uzorci vadili iz termostata, kako bi im se odredili peroksidni broj, kiselinski broj, kiselinski stupanj i postotak slobodnih masnih kiselina.

3.2. Metode

3.2.1. Određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Schaal – Oven testom

Schaal-Oven test je jedna od najjednostavnijih metoda koja se koristi prilikom ispitivanja oksidacijskih promjena ulja. Ovim testom prati se čitav niz čimbenika pomoću kojih se može vidjeti dali je došlo do oksidacijskog kvarenja ulja i u kojoj mjeri, tako što se određuju vrijednosti peroksidnog broja nakon što je uzorak određeno vrijeme bio u termostatu pri temperaturi od 63 ± 2 °C ili vrijeme u danima koje je potrebno da dođe do užeglosti ulja ili broj dana za koji se postiže određena, unaprijed utvrđena vrijednost peroksidnog broja (Ergović Ravančić, 2017).

Uzorak ulja:

- „Zvijezda“ biljno ulje

Sintetski antioksidansi u koncentraciji 0,02 %:

- 2,6 –di-tert-butil-4-metilfenol 99,8 % (BHT),
- butilirani hidroksianisol 96 % (BHA),
- propil-galat 98 % (PG),

- (+)- α -tokoferol.

Pribor:

- analitička vaga,
- vodena kupelj,
- staklena čaša,
- stakleni štapić,
- termostat.

Postupak rada:

Prilikom određivanja oksidacijske stabilnosti ulja Schaal-Oven testom, odvažuje se četiri puta 40 grama uzorka ulja u staklene čaše volumena 100 ml. U svaki uzorak se dodaje po 0,04 grama jednog od navedenih sintetskih antioksidansa, te se ulje sa dodanim antioksidansom dobro promiješa staklenim štapićem. Zatim se uzorci u koje su dodani antioksidansi zagrijavaju na vodenoj kupelji do temperature 63 ± 2 °C da bi se homogenizirali. Zatim se određuje peroksidni broj uzorka, kiselinski broj, kiselinski stupanj i postotak slobodnih masnih kiselina.

Homogenizirani uzorci stavljaju se u termostat koji je zagrijan na temperaturu od 63 ± 2 °C. Schaal-Oven test se provodi u trajanju od 96 sati na 63 ± 2 °C. Svaka 24 sata iz termostata se uzimaju uzorci ulja sa različitim antioksidansima kako bi se odredili kemijskim analizama parametri koji ukazuju na promjenu svojstava analiziranog ulja, a to su peroksidni broj, kiselinski broj, kiselinski stupanj i udio slobodnih masnih kiselina izražen kao oleinska kiselina (Ergović Ravančić, 2017).

3.2.2. Određivanje kiselinskog broja, kiselinskog stupnja i udjela slobodnih masnih kiselina

Kiselinski broj se izražava kao broj miligrama KOH (kalijevog hidroksida) koji su potrebni za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina u 1 gramu ulja ili masti. Količina slobodnih masnih kiselina ne određuje se neposredno, nego se određuje količina lužine koja je potrebna za njihovu neutralizaciju. Udio slobodnih masnih kiselina određuje se kao kiselost ulja i masti, ali se izražava kao udio oleinske kiseline ili kao kiselinski broj tj. kiselinski stupanj (Ergović Ravančić, 2017).

Pribor i kemikalije:

- dietileter-etanol neutralna smjesa (1:1),
- NaOH 0,1 M otopina (u tikvicu od 1000 ml, otopi se 4 grama NaOH i nadopuni se do oznake),
- fenolftalein u etanolu, 1 % otopina (1 gram fenolftaleina potrebno je otopiti u manjoj količini 96 % -tnog etanola, te nadopuniti do mase 100 grama),
- analitička vaga,
- vodena kupelj,
- automatska bireta.

Postupak rada:

U tikvicu se odvaži 5,0 grama uzorka ulja. Zatim se odvaganim uzorku dodaje 25 ml smjese etanola i dietiletera (1:1) koja je neutralizirana 0,1 M otopinom uz fenolftalein. Sadržaj se mora mućkati sve dok se ulje potpuno ne otopi. Zatim se otopini dodaje nekoliko kapi fenolftaleina i vrši se titracija sa 0,1 M NaOH sve do pojave ružičaste boje koja se mora zadržati najmanje 10 sekundi (Slika 8.).



Slika 8. Određivanje kiselnog broja (Izvor: autor)

Izračunavanje:

Kiselinski broj

Kiselinski broj je broj miligrama KOH (kalijevog hidroksida) koji je potreban za neutralizaciju masnih kiselina u 1 gramu ulja ili masti.

$$Kb = \frac{A \cdot 5,61}{O_u} \quad (1)$$

A – utrošak 0,1 M NaOH, ml

O_u – odmjerena masa uzorka, g

1 cm³ 0,1 M NaOH ekvivalentan je 5,61 mg KOH.

Kiselinski stupanj

Kiselinski stupanj je broj mililitara 1 M alkalnih hidroksida koji su potrebni za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina u 100 grama ulja ili masti.

$$Kst = \frac{A \cdot 100}{O_u \cdot 10} \quad (2)$$

A – utrošak 0,1 M NaOH, ml

O_u – odmjerena masa uzorka, g

Tablica 6. Preračunavanje kiselinskog broja u kiselinski stupanj ili udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina (Ergović Ravančić, 2017)

| Kiselinski broj | Kiselinski stupanj | % slobodnih masnih kiselina (% oleinske kiseline) |
|-----------------|--------------------|--|
| 1 | 1,7806 | 0,5027 |
| 0,56104 | 1 | 0,2823 |
| 1,9894 | 3,5423 | 1 |

Udio slobodnih masnih kiselina izračunava se tako da se pomnoži kiselinski broj sa faktorom 0,5027 koji se nalazi u Tablici 6.

3.2.3. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidi su glavni i početni produkti autooksidacije. Mogu se kvantitativno odrediti prema svojoj sposobnosti da iz kalij jodida u octenoj kiselini oslobađaju jod. Peroksidni broj ulja i masti zapravo je mjerilo sadržaja reaktivnog kisika, a izražava se u milimolima kisika na 1000 grama ulja ili masti. Određivanje peroksidnog broja vrši se tako da se uzorak otopi u kloroformu i octenoj kiselini i potom se tretira otopinom kalij jodida (KI). Nakon toga se vrši titracija oslobođenog joda standardnom otopinom 0,01 M natrij tiosulfata (Ergović Ravančić, 2017).

Pribor i kemikalije:

- analitička vaga,
- pipeta 50 ml,
- pipeta 1 ml,
- stakleni štapić,
- tikvica, 250 ml,
- menzura 100 ml,
- pipeta 5 ml,
- automatska bireta,
- ledena octena kiselina (CH_3COOH),
- kloroform,
- kalij-jodid (KI), zasićen i svježe pripremljen (13 grama KI otopi se u 13 ml destilirane vode),
- škrob, 1 % otopina (1 gram škroba otopi se u maloj količini hladne vode i zatim se sipa u 90 ml ključale destilirane vode, nakon miješanja škroba i destilirane vode, zagrijavanje se prekida, a otopina filtrira),
- natrij tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01 M.

Postupak rada:

3,0 grama uzorka otopi se u 50 ml smjese ledene octene kiseline i kloroforma (3:2), te se otopini dodaje 1 ml zasićene otopine kalij-jodida, nakon čega uzorak poprima žućkastu boju. Nakon 1 minute miješanja dodaje se 100 ml destilirane vode i 2,5 ml 1 % otopine škroba.

Dodatkom škroba uzorak potamni. Zatim se titrira oslobođeni jod sa 0,01 M otopinom natrij tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) sve dok ne nestane svako obojenje (Slika 9.).



Slika 9. Određivanje peroksidnog broja (Izvor: autor)

Izračunavanje:

$$\text{Peroksidni broj} = \frac{(a - b) \cdot f}{O_u} \quad (\text{mmol O}_2/\text{kg}) \quad (3)$$

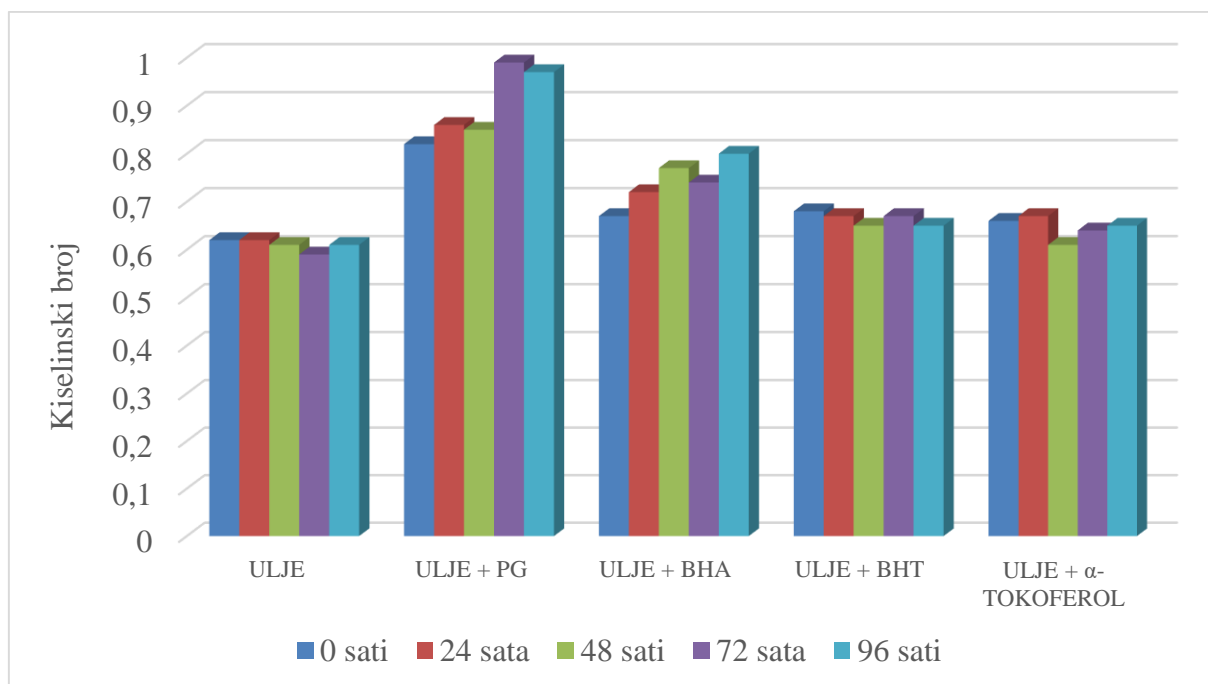
a – utrošak 0,01 M natrij tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) za titraciju uzorka, ml

b – utrošak 0,01 M natrij tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) za titraciju slijepe probe, ml

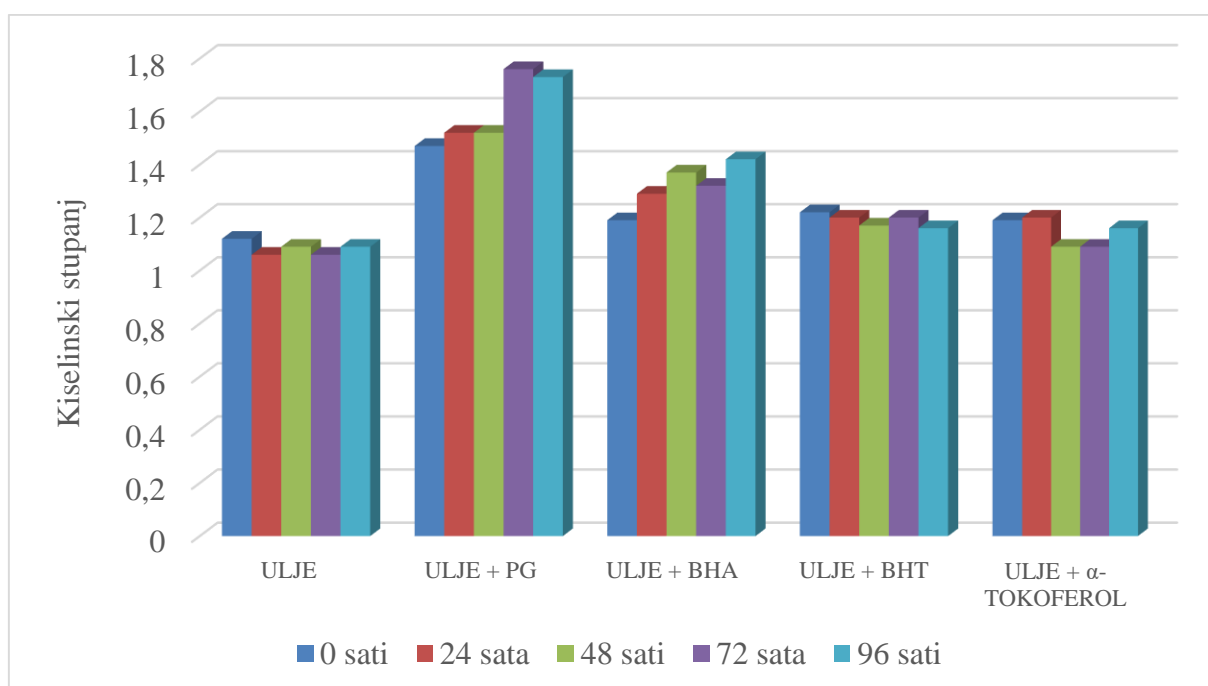
f – faktor 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$,

O_u – odmjerena masa uzorka, g

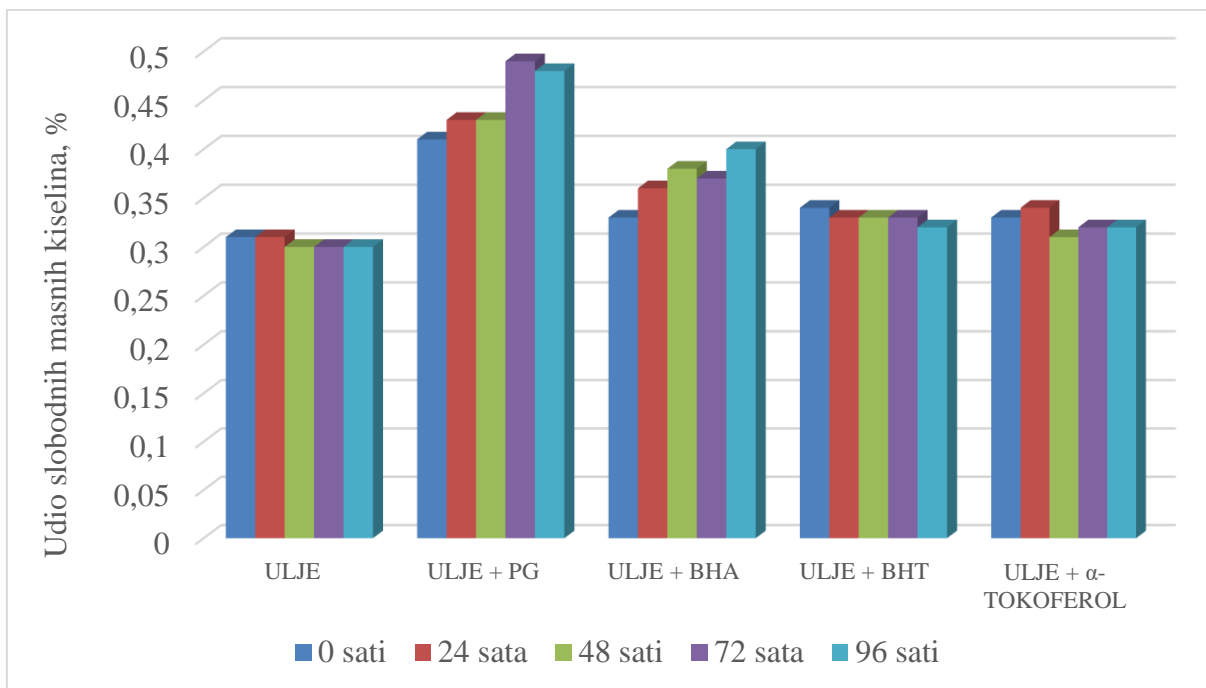
4. REZULTATI



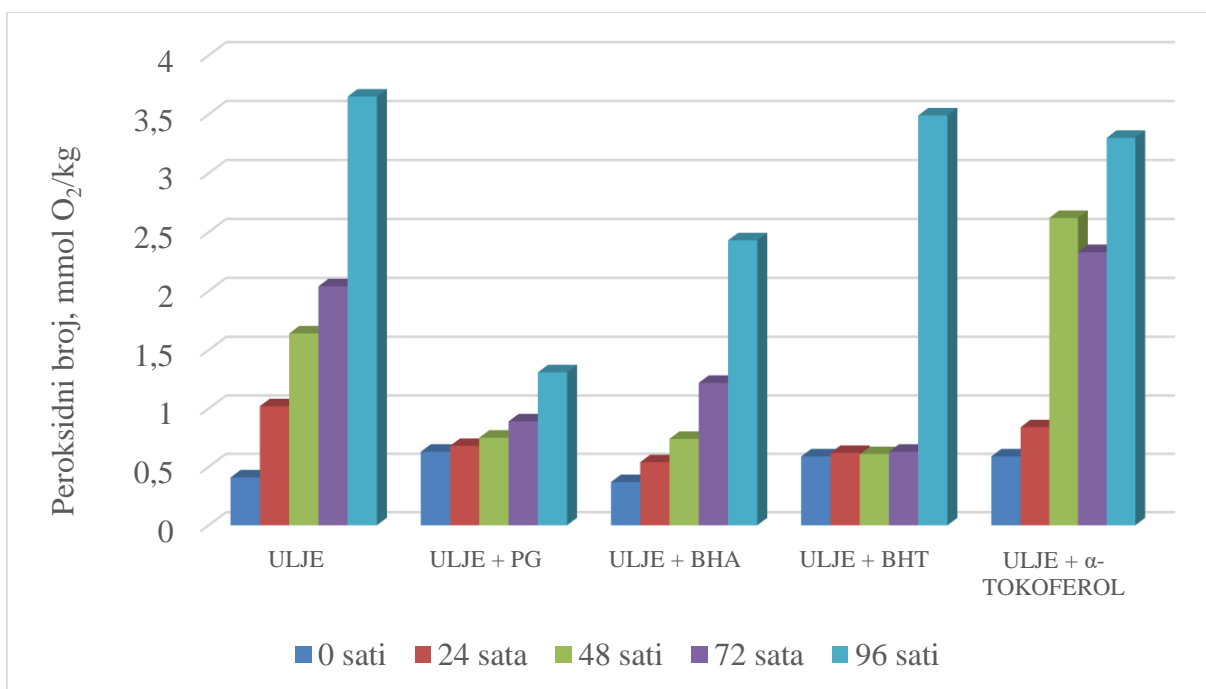
Slika 10. Vrijednosti kiselinskog broja uzoraka ulja s dodatkom različitih antioksidansa



Slika 11. Vrijednosti kiselinskog stupnja uzoraka ulja s dodatkom različitih antioksidansa



Slika 12. Udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina (%) u uzorcima ulja s dodatkom različitih antioksidansa



Slika 13. Vrijednosti peroksidnog broja (mmol O₂/kg) u uzorcima ulja s dodatkom različitih antioksidansa

5. RASPRAVA

Rezultati određivanja kiselinskog broja, kiselinskog stupnja, udjela slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina te peroksidnog broja u uzorcima biljnog ulja nakon provedbe Schaal-Oven testa održivosti prikazani su na Slikama od 10. do 13. Navedeni parametri su se određivali svakih 24 sata.

Na Slici 10. prikazane su vrijednosti kiselinskog broja uzoraka biljnog ulja s i bez dodatka antioksidansa nakon svakih 24 sata provedbe testa održivosti Schaal-Oven testom. Vidljivo je kako je do povećanja kiselinskog broja tijekom vremena došlo kod uzoraka ulja s dodatkom PG i BHA, dok ostali antioksidansi nisu utjecali u velikoj mjeri na kiselinski broj. Najveće početne vrijednosti te najveće povećanje tijekom provedbe testa pokazali su uzorci ulja u koje je dodan antioksidans PG pri čemu su se vrijednosti kretale od 0,82 do 0,99. Najmanje vrijednosti kiselinskog broja imali su uzorci bez dodatka antioksidansa (od 0,59 do 0,62).

Sukladno promjeni kiselinskog broja mijenjaju se i vrijednosti kiselinskog stupnja. Najveću promjenu i najveće vrijednosti kiselinskog stupnja pokazuju uzorci ulja s dodatkom antioksidansa PG (Slika 11.) pri čemu se vrijednosti povećavaju od 1,47 do 1,76 za svakih 24 sata mjerenja. Porast vrijednosti tijekom provedbe Schaal-Oven testa pokazuju i uzorci ulja s dodatkom antioksidansa BHA, ali s nižim vrijednostima u odnosu na onaj s dodatkom PG. Vrijednosti kiselinskog stupnja za spomenuti uzorak kreću se od 1,19 do 1,42 za svakih 24 sata mjerenja. Ulje bez dodatka antioksidansa kao i ona s dodatkom antioksidansa BHT i α -tokoferola imaju ujednačene vrijednosti kiselinskog broja bez prevelikog odstupanja tijekom cijelog vremena provedbe testa.

Udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina tijekom provedbe Schaal-Oven testa kroz 96 sati prikazan je na Slici 12. Promjena udjela slobodnih masnih kiselina najvidljivija je u uzorku ulja kojemu je dodan antioksidans PG, kod kojega svakih 24 sata mjerenja dolazi do dodatnog povećanja od 0,43 % do 0,49 %. Ulje s dodatkom antioksidansa BHA u odnosu na ono s PG pokazuje manje povećanje udjela slobodnih masnih kiselina, dok ulje s dodatkom BHT i α -tokoferola, kao i ulje bez dodatka antioksidansa nema značajnije promjene u vrijednostima udjela slobodnih masnih kiselina.

Pravilnikom o jestivim uljima i mastima propisano je kako rafinirana ulja ne smiju imati udio slobodnih masnih kiselina veći od 0,3 %, a provedbom Schaal-Oven testa tijekom 96 sati vidljivo je kako dodatak antioksidansa PG i BHA ne utječe na povećanje stabilnosti ulja tijekom provedbe testa, nego suprotno, navedenim uzorcima tijekom vremena se povećava kako

kiselinski broj tako i kiselinski stupanj te udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska, pri čemu navedeni uzorci ne udovoljavaju zahtjevima navedenog Pravilnika. Također je vidljivo da tijekom 96 sati provedbe ispitivanja stabilnosti ulja pod uvjetima Schaal-Oven testa, nema pozitivnog učinka antioksidanasa na udio slobodnih masnih kiselina s obzirom da su vrijednosti u uzorku bez dodatka antioksidansa gotovo nepromijenjene.

Rafinirana ulja, prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima, ne smiju imati vrijednosti peroksidnog broja veće od 5 mmola O_2/kg . Provedbom Schaal-Oven testa ulja s različitim antioksidansima vidljivo je kako tijekom cijelog vremena provođenja testa vrijednosti peroksidnog broja su u skladu s Pravilnikom o jestivim uljima i mastima. Najveće povećanje peroksidnog broja tijekom 96 sati provedbe testa pokazalo je ulje bez dodatka antioksidansa pri čemu je peroksidni broj porastao s početnih na 0,41 mmol O_2/kg na 3,65 mmol O_2/kg . Ulje s dodatkom PG ima najmanje povećanje peroksidnog broja od 0,63 mmol O_2/kg do 1,31 mmol O_2/kg tijekom 96 sati provedbe testa. Dodatak navedenog antioksidansa pogoduje najvećoj stabilnosti ulja gledano na oksidacijske promjene. α - tokoferol dodan u ulje najmanje je utjecao na stabilnost ulja s obzirom da se vrijednosti peroksidnog broja povećavaju od 0,59 mmol O_2/kg do 3,30 mmol O_2/kg . Dodatak BHT u ulje pogodovao je izrazitoj stabilnosti prema oksidacijskim promjenama sve do posljednjih 24 sata provedbe testa, nakon čega je vrijednost peroksidnog broja porasla na 2,33 mmol O_2/kg . Ulju s dodatkom BHA povećava se peroksidni broj tijekom cijelog perioda provedbe testa, a najviše u posljednja 24 sata. Vrijednosti peroksidnog broja za navedeni uzorak kreću se od 0,37 mmol O_2/kg do 2,43 mmol O_2/kg .

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata ispitivanja održivosti biljnog ulja s dodatkom sintetskih antioksidansa primjenom Schaal-Oven testa može se zaključiti:

- Dodatak antioksidanasa gotovo nije utjecao na promjenu kiselinskog broja, kiselinskog stupnja i udjela slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, osim kod uzoraka s dodatkom PG i BHT kada je tijekom vremena došlo do povećanja kiselinskog broja.
- Vrijednosti udjela slobodnih masnih kiselina tijekom ispitivanja održivosti uzoraka ulja s i bez dodatka antioksidansa, u skladu su s važećim zakonskim propisima, osim kod uzoraka ulja s dodatkom PG i BHA, kada se tijekom vremena provedbe testa povećavaju udjeli slobodnih masnih kiselina iznad dopuštene granice.
- Tijekom vremena provedbe testa održivosti vrijednosti peroksidnog broja rastu, a porast je najveći kod uzorka ulja bez dodatka antioksidansa.

7. POPIS LITERATURE

1. Čorbo, S. (2008) *Tehnologija ulja i masti*. Sarajevo: Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Univerziteta u Sarajevu.
2. Ergović Ravančić, M. (2017) *Tehnologija ulja i masti - priručnik za vježbe*. Požega: Veleučilište u Požegi.
3. Moslavac, T.; Volmut, K.; Benčić, Đ. (2009) *Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom antioksidansa*. Glasnik zaštite bilja 6/2009, str. 136.
4. Narodne novine (2012; 2013) *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*. Ministarstvo poljoprivrede.
5. Rac, M. (1964) *Ulja i masti*. Beograd: Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja.
6. Swern, D. (1972) *Industrijski proizvodi ulja i masti po Bailey-u*. Zagreb: Nakladni zavod Znanje.

Mrežne stranice:

1. E320 Butil-hidroksianisol – E brojevi (25.04.2017.)
URL: <https://e-brojevi.udd.hr/320.htm>
2. E321 Butil-hidroksitoluen – E brojevi (25. 04. 2017.)
URL: <https://e-brojevi.udd.hr/321.htm>
3. E310 Propil-galat – E brojevi (25. 04. 2017)
URL: <https://e-brojevi.udd.hr/310.htm>
4. E311 Oktil-galat – E brojevi (25. 04. 2017.)
URL: <https://e-brojevi.udd.hr/311.htm>
5. E312 Dodecil-galat – E brojevi (25. 04. 2017.)
URL: <https://e-brojevi.udd.hr/312.htm>
6. Biljno ulje – Zvijezda (26. 04. 2017.)
URL: <http://www.zvijezda.hr/product/biljno-ulje/>

8. POPIS TABLICA, SLIKA, KRATICA I SIMBOLA

POPIS TABLICA

Tablica 1. Najvažnije zasićene i nezasićene masne kiseline u uljima

Tablica 2. Najznačajnije esencijalne masne kiseline u uljima

Tablica 3. Najznačajnije uljarice koje se koriste za proizvodnju ulja

Tablica 4. Maksimalno dopuštene vrijednosti peroksidnog broja za rafinirana i hladno prešana ulja

Tablica 5. Dopusštena upotreba i količine propil-galata

Tablica 6. Preračunavanje kiselinskog broja u kiselinski stupanj ili udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina

POPIS SLIKA

Slika 1. Nastajanje molekule triglicerola

Slika 2. Cis-oblik i trans-oblik masnih kiselina

Slika 3. Prerada sjemena i plodova uljarica

Slika 4. Procesi rafinacije ulja

Slika 5. Faze autooksidacije

Slika 6. Kemijske strukture tokoferola

Slika 7. Kemijske strukture sintetskih antioksidansa

Slika 8. Određivanje kiselinskog broja

Slika 9. Određivanje peroksidnog broja

Slika 10. Vrijednosti kiselinskog broja uzoraka ulja s dodatkom različitih antioksidansa

Slika 11. Vrijednosti kiselinskog stupnja uzoraka ulja s dodatkom različitih antioksidansa

Slika 12. Udio slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina (%) u uzorcima ulja s dodatkom različitih antioksidansa

Slika 13. Vrijednosti peroksidnog broja (mmol O₂/kg) u uzorcima ulja s dodatkom različitih antioksidansa

POPIS KRATICA

1. BHA- butil-hidroksianisol
2. BHT- butil-hidroksitoluen
3. TBHQ- terc-butilhidrokion

4. PG- propil-galat
5. BG- butil-galat
6. OG- oktil-galat
7. DG- dodecil-galat
8. KI- kalij jodid
9. NaOH- natrijev hidroksid
10. KOH- kalijev hidroksid
11. mmol O₂/kg- milimoli kisika po kilogramu

POPIS SIMBOLA

1. Fe- železo
2. Ni- nikel
3. Cu- baker
4. α - alfa
5. β - beta
6. γ - gama
7. δ - delta
8. ω - omega

IZJAVA O AUTORSTVU RADA

Ja, **Dajana Stokić**, pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor završnog/diplomskog rada pod naslovom **Praćenje održivosti biljnog ulja s dodatkom antioksidansa primjenom Schaal-Oven testa**, te da u navedenom radu nisu na nedozvoljen način korišteni dijelovi tuđih radova.

U Požegi, _____2017.

Ime i prezime studenta
