

Optimiranje DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Hojka, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:641514>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

Ivana Hojka

0058215077

**OPTIMIRANJE DSC METODE ZA ODREĐIVANJE
OKSIDACIJSKE STABILNOSTI ULJA**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta: Utjecaj inovativnih tehnologija na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja iz hrvatskih autohtonih sorti maslina (HRZZ CROInEVOO, IP-2020-02-7553)

Mentor: izv.prof.dr.sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Optimiranje DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja

Ivana Hojka, 0058215077

Sažetak: Oksidacijska stabilnost jestivih ulja je vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od oksidacijskih promjena. Pomoću nje možemo definirati trajnost ulja i masti. Cilj ovog rada je optimirati uvjete DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Optimirane su izotermalna i ne-izotermalna (dinamička) DSC metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Za razvoj i optimiranje metode korišteno je ekstra djevičansko maslinovo ulje. Rezultati pokazuju da je DSC metoda pouzdana metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti bilo izotermalno ili dinamički. Kao optimalna temperatura za određivanje vremena indukcije (izotermalno) pokazala se temperatura od od 140 °C dok se kao optimalna brzina zagrijavanja od za određivanje temperature indukcije (dinamički) pokazala brzina od 10 °C/min.

Ključne riječi: DSC, oksidacijska stabilnost, vrijeme indukcije, temperatura indukcije, ekstra djevičansko maslinovo ulje

Rad sadrži: 26 stranice, 7 slika, 27 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: izv.prof.dr.sc. Klara Kraljić

Pomoć pri izradi: mag.ing. Katarina Filipan

Datum obrane: srpanj, 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Optimization of the DSC method for determination of the oxidative stability of oils

Ivana Hojka, 0058215077

Abstract: Oxidative stability represents time during which oils can be preserved from oxidative deterioration. With that knowledge, we can define the shelf life of oils and fats. The aim of present study was to optimize the conditions of DSC method for determination of oxidation stability of the oil. Isothermal and non-isothermal (dynamic) DSC methods were optimized. For development and optimization of methods, extra virgin olive oil was used. The results show that the DSC method is a reliable method for determining oxidation stability both isothermally or non-isothermally. For the determination of the induction time (isothermal) 140 °C were found to be an optimal temperature while an optimal heating rate of 10 °C/min has shown to be optimal for determining the induction temperature (dynamic).

Keywords: DSC, oxidative stability, induction time, induction temperature, extra virgin olive oil

Thesis contains: 26 pages, 7 figures, 27 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Klara Kraljić, PhD, Associate Professor

Technical support and assistance: Katarina Filipan, MSc

Thesis defended: July, 2022.

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA	2
2.1.1.	Oksidacija	2
2.2.	UTJECAJ SASTAVA ULJA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST	5
2.2.1.	Sastav masnih kiselina	5
2.2.2.	Fenoli	6
2.2.3.	Tokoferoli	6
2.2.4.	Steroli	7
2.2.5.	Klorofil	7
2.2.6.	Karotenoidi	7
2.2.7.	Metali	7
2.2.8.	Fosfolipidi	8
2.3.	METODE ZA ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI	8
2.3.1.	Oven test ili Schaal oven test	8
2.3.2.	AOM (Active Oxygen Method) test ili Swift test	9
2.3.3.	Rancimat metoda	9
2.3.4.	Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC)	9
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1.	Materijali	13
3.2.	Metode	13
3.2.1.	Priprema uzorka	13
3.2.2.	Određivanje vremena indukcije	13
3.2.3.	Određivanje temperature indukcije	14
3.2.4.	Kvarenje ulja	14
4.	REZULTATI I RASPRAVA	15
4.1.	Vrijeme indukcije	15
4.1.1.	Utjecaj mase uzorka	15
4.1.2.	Utjecaj poklopca	16
4.1.3.	Utjecaj temperature	18
4.2.	Temperatura indukcije	20
5.	ZAKLJUČCI	23
6.	POPIS LITERATURE	24

1. UVOD

Oksidacija lipida glavni je uzrok kvarenja jestivih ulja. Uzrokuje gubitak nutritivne vrijednosti a dolazi i do nastanka nepoželjne boje i okusa a mogu se formirati i toksične komponente što ulje čini neprihvatljivim za konzumiranje. Oksidacijska stabilnost ulja se može definirati kao otpornost na oksidaciju tijekom prerade i skladištenja ulja. Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja je važno kako bi se mogao unaprijed odrediti rok trajanja ulja. Postoje različite metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja a najčešće se temelje na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja pod utjecajem temperature i zraka te mjerenjem produkata oksidacije (primarnih ili sekundarnih). U novije vrijeme sve se više koristi Diferencijalna motridbena kalorimetrija (eng. differential scanning calorimetry - DSC). DSC metoda spada u skupinu termoanalitičkih metoda, omogućuje određivanje mnogobrojnih svojstava ulja među kojima je i oksidacijska stabilnost ulja. DSC metoda se može koristiti kao metoda za procjenu oksidacijske stabilnosti, ocjenu kvalitete jestivih ulja tijekom rafiniranja i predviđanje roka trajanja ulja. Njezina prednost pred drugim metodama je što DSC metoda zahtijeva manju količinu uzorka, brža je i ne koristi kemikalije ili otapala. Cilj ovog rada je optimizirati uvjete DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Optimirane su izotermalna i ne-izotermalna (dinamička) DSC metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. A za razvoj i optimiranje metode korišteno je ekstra djevičansko maslinovo ulje.

2. TEORIJSKI DIO

2.1.OKSIDACIJSKA STABILNOST ULJA

Oksidacijska stabilnost jestivih ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od oksidacijskih promjena. Hoće li proces oksidacije nastupiti brže ili sporije ovisi o sastavu ulja tj. o sastavu masnih kiselina u ulju i njihovom stupnju zasićenosti, rasporedu masnih kiselina u molekuli triglicerida, vrsti ulja, uvjetima čuvanja, te prisutnosti sastojaka koje utječu na stabilnost ulja (Moslavac i sur., 2009; Dimić i Turkulov, 2000). Za poboljšanje stabilnosti ulja koriste se različiti ili prirodni ili sintetski spojevi koji usporavaju kvarenje ulja koje zovemo antioksidansi (Dimić i Turkulov, 2000). To mogu biti različiti fenolni spojevi (polifenoli), steroli, tokoferoli (vitamin E) i dr. (Žanetić i Gugić, 2005). Oksidacijska stabilnost je važna prilikom skladištenja ulja kako bi znali definirati rok trajanja ulja i kako bi znali odrediti vrijeme čuvanja ulja bez promjene njegove kvalitete (Moslavac i sur., 2009).

2.1.1. Oksidacija

Oksidacija ulja je najčešći problem koji utječe na kvalitetu jestivih ulja, jer je uzrok velikih promjena njihovih svojstava (Velasco i Dobarganes, 2002; Moslavac i sur., 2009). Za procese oksidacije neophodan je kisik (Krajčinović, 1951), ali postoje i druge tvari koje utječu na reakcije oksidacije, kao svjetlost, ionizacijsko zračenje, prisutnost metala i temperatura i dr. (Žanetić i Gugić, 2005).

2.1.1.1. Autooksidacija

Autooksidacija je najčešći oblik oksidacije. Autooksidacija lipida uključuje napad kisika na alilnu poziciju što dovodi do stvaranja hidroperoksida koji se raspadaju na slobodne radikale. Slobodni radikali reagiraju s nezasićenime masnim kiselinama koje su sklonije autooksidaciji. Brzina oksidacije ovisi o stupnju nezasićenosti masnih kiselina i raste s povećanjem broja dvostrukih veza unutar molekule masne kiseline (Madhujith i Sivakanthan, 2019).

Proces autooksidacije ima tri faze: fazu inicijacije, propagacije i terminacije (Choe i Min, 2006).

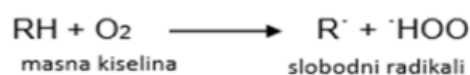
U prvoj fazi ili fazi inicijacije dolazi do reakcije kisika s nezasićenim masnim kiselinama u molekuli triglicerida i nastaju slobodni radikali. Slobodni radikali dalje reagiraju sa drugim masnim kiselinama i tako stvaraju nove radikale, time dolazi do ubrzanja procesa zbog niza lančanih reakcija. U ovoj fazi oksidacije nastaje mala koncentracija produkta koja ne djeluje na prehrambenu vrijednost ili organoleptička svojstva (Ergović Ravančić, 2017).

U fazi propagacije reakcija se nastavlja, pri čemu radikali i dalje reagiraju s kisikom, a nastaju slobodni radikali peroksida i hidroperoksida. Hidroperoksidi se zbog svoje nestabilnosti raspadaju na slobodne radikale $RO\cdot$ i $\cdot OH$. Novonastali slobodni radikali pokreću niz novih lančanih reakcija (Broadbent i Pike, 2003).

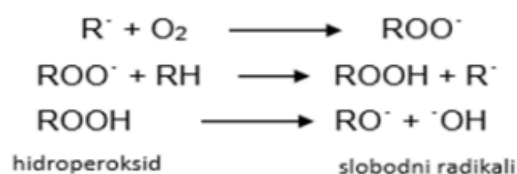
U završnoj fazi tj. u fazi terminacije, nastali slobodni radikali međusobno reagiraju u neaktivne polimere (R-R, ROOR). Njihovim nastajanjem se usporava, odnosno završava proces oksidacije (Ergović Ravančić, 2017). Faze autooksidacije i njihove reakcije se mogu vidjeti na slici 1.

Primarni produkti autooksidacije su hidroperoksidi, a sekundarni produkti nastaju razgradnjom hidroperoksida kao što su naprimjer aldehidi, ketoni, kiseline, alkoholi i dr. Oni daju neugodan i užegnut miris i okus uljima iako ih ima u malim koncentracijama. Kao što je ranije napomenuto, kisik napada nezasićene masne kiseline koje su reaktivnije i podložnije oksidaciji od zasićenih masnih kiselina. Zato polinezasićene masne kiseline smatramo ključnim komponentama u procesu oksidacije (Shahidi, 1997).

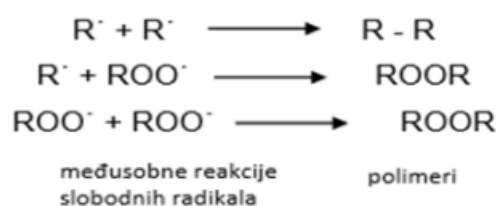
a) Inicijacija



b) Propagacija



c) Terminacija



Slika 1. Faze autooksidacije (Ergović Ravančić, 2017)

2.1.1.2. Fotooksidacija

Fotooksidacija je vrsta autooksidacijskog kvarenja. Fotooksidacija u ulju se događa zbog prisustva klorofila. U slučajevima kada je ulje izloženo svjetlu, klorofil djeluje kao prooksidans i odgovoran je za formiranje pobuđenog kisika što doprinosi ubrzanju reakcija autooksidacije. Ali ako je ulje u mraku, pigment klorofil donira vodik slobodnim radikalima i ponaša se kao antioksidans. Zbog toga je ulje, posebno ulja bogata klorofilom, potrebno čuvati i skladištiti u primjerenj ambalaži i u mraku (Mishra i sur., 2018).

2.1.1.3. Termooksidacija

Do termooksidacije dolazi zbog djelovanja visoke temperature, više od 150 °C. Termooksidacija se odvija uz prisustvo vodene pare i zraka. Proces ovisi o temperaturi, vremenu izloženosti ulja tim visokim temperaturama i o vrsti ulja. Prisustvo termooksidacijskih promjena se dokazuje osim fizikalnim i vidljivim svojstvima ulja i

kemijskim svojstvima. Nakon određenog vremena na povišenim temperaturama u ulju nastaju, osim produkta oksidacije, produkti termooksidacije kao cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina, triglicerola i dr. (Vidyasagar i sur., 1974.).

2.2.UTJECAJ SASTAVA ULJA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST

Ulja se sastoje od gliceridnog dijela ili osapunjivog dijela i negliceridnog dijela ili neosapunjivog dijela. Gliceridni dio čine uglavnom trigliceridi i slobodne masne kiseline, a ne-gliceridni dio čini preko dvjesto spojeva različitih struktura, poput alifatskih i triterpenskih alkohola, ugljikovodika, sterola, hlapljivih spojeva, karotenoida, fenolnih spojeva i dr. (Pejović, Barbarić i Jakobušić, 2014).

2.2.1. Sastav masnih kiselina

Otpornost na oksidaciju ulja primarno određuje sastav masnih kiselina i položaji masnih kiselina u glicerolskoj okosnici. Ulja koja imaju veći udio nezasićenih masnih kiselina brže oksidiraju od ulja koja imaju manji udio nezasićenih masnih kiselina. Kako se stupanj nezasićenosti masnih kiselina povećava, povećava se i brzina oksidacije. Osim toga, kako se povećava stupanj nezasićenosti masnih kiselina, nagomilavaju se primarni produkti oksidacije (Madhujith i Sivakanthan, 2019). Xu i sur. (2015) proučavali su oksidacijsku stabilnost ulja kamelije nakon prženja krumpira uspoređujući ga s palminim uljem i uljem kikirikija i objavili su da ulje kamelije ima najveću oksidacijsku stabilnost, zatim slijedi palmino ulje, dok ulje kikirikija ima najmanju oksidacijsku stabilnost. Zaključili su da važni čimbenici koji utječu na oksidacijsku stabilnost ulja su sastav masnih kiselina i sadržaj tokoferola. Ulje kamelije sadrži najveći udio mononezasićenih masnih kiselina. Jednostruko nezasićene masne kiseline relativno su stabilne i manje reaktivne u reakcijama oksidacije od polinezasićenih masnih kiselina. Iako je sastav masnih kiselina ulja glavni čimbenik koji određuje oksidacijsku stabilnost ulja, oksidacijska stabilnost ulja ovisi o još nekoliko drugih čimbenika (Madhujith i Sivakanthan, 2019).

2.2.2. Fenoli

Fenolni spojevi nalaze se u vrlo malim količinama u uljima i mastima, izuzev djevičanskog maslinovog ulja kod kojeg imaju značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost (Žanetić i Gugić, 2006). Glavna karakteristika fenolnih spojeva je njihovo antioksidacijsko djelovanje. Time, osim na stabilnost ulja, utječu i na prehrambena i biološka svojstva. Djevičansko maslinovo ulje ima vrlo specifičan sastav fenolnih spojeva od kojih su sekoiridoidi glavna skupina prisutnih fenolnih spojeva. Sekoiridoidi su spojevi specifični samo za maslinovo ulje. Uz to što su snažni antioksidansi, djeluju antimikrobno i antivirusno. Uz oleuropein kao predstavnik sekoiridoida, važni su i fenolni alkoholi tirozol i hidroksitirozol koji zajedno daju karakterističan gorak i pikantan okus djevičanskog maslinovog ulja (Žanetić i Gugić, 2006; Bakarić, 2008). Još jedno ulje koje pokazuje veliku oksidacijsku stabilnost je sezamovo ulje. To je posljedica prisutnosti lignana i tokoferola. Dominantni spoj lignana je sezamin, slijedeći je sezamolin. Iako je sezamin dominantan, spojevi sezamol i sezaminol su pokazali veću antioksidacijsku aktivnost. Sezamol djeluje kao antioksidans i na svjetlu i u mraku (Choe i Min, 2006).

2.2.3. Tokoferoli

Tokoferoli su jedni od važnijih antioksidansa prisutnih u jestivom ulju. Udio tokoferola u jestivim uljima određuje sorta, način proizvodnje i skladištenje ulja. Tako se rafinacijom ulja smanjuje udio tokoferola. Slobodni radikali mogu reagirati sa nezasićenim masnim kiselinama ili s tokoferolima, no s tokoferolima reagiraju puno brže. Jedna molekula tokoferola može zaštititi od 10^3 do 10^8 molekula polinezasićenih masnih kiselina. Tokoferoli mogu prenijeti svoj atom vodika na slobodni radikal i inaktivirati ga. Najvišu antioksidacijsku aktivnost ima δ -tokoferol, a slijede ga γ -, β - i α -tokoferol. Optimalna koncentracija tokoferola kao antioksidansa ovisi o njihovoj oksidacijskoj stabilnosti; što je oksidacijska stabilnost tokoferola niža, to je i njihova optimalna koncentracija niža. No su prisutni u visokim koncentracijama u biljnim uljima mogu djelovati i kao prooksidansi. Najveću prooksidacijsku aktivnost pokazao je α -tokoferol, a slijede ga γ - i δ -tokoferol (Choe i Min, 2006).

2.2.4. Steroli

Steroli pripadaju skupini fitosterola. Najvažniji fitosterol je β – sitosterol koji ima važnu biološku ulogu jer smanjuje apsorpciju viška kolesterola u crijevima. Steroli isto tako imaju ulogu prirodnih antioksidansa i inhibitora oksidacije ulja (Žanetić i Gugić, 2006).

2.2.5. Klorofil

Klorofil je pigment kojega se može uobičajeno naći u jestivom ulju. Uglavnom se uklanjaju tijekom prerade ulja, posebno u procesu bijeljenja. Klorofili i produkti njihove razgradnje, feofitini i feoforbidi, u prisutnosti svjetla potpomažu u stvaranju kisika, te ubrzavaju oksidaciju ulja. Iako su klorofili jaki prooksidansi pod svjetlom, oni djeluju kao antioksidansi u mraku, donirajući vodik slobodnim radikalima (Choe i Min, 2006).

2.2.6. Karotenoidi

Karotenoidi spadaju u tetraterpenske nezasićene ugljikovodike. Dijelev se u dvije skupine: karotenoide i ksantofile. Najvažniji karotenoidi su β – karoten, likopen i ksantofil (oksidirani derivat karotena) (Žanetić i Gugić, 2006). Karotenoidi, a posebno β – karoten, štite ulje od fotooksidacije. Pri nedostatku svjetla karotenoidi i njegovi oksidirani derivati se mogu ponašati kao prooksidansi (Velasco i Dobarganes, 2002).

2.2.7. Metali

Sirovo ulje može sadržavati metale poput željeza ili bakra (Choe i Min, 2006). Ti metali mogu doći u ulje putem gnojiva i tla ili onečišćenjem opreme za preradu i skladištenje ulja (Velasco i Dobarganes, 2002). Rafinacijom se njihov udio u ulju smanjuje. Jestiva ulja proizvedena bez rafiniranja, kao što su ekstra djevičansko maslinovo ulje i sezamovo ulje, sadrže relativno velike količine tih metala (Choe i Min, 2006). Ioni metala tijekom promjene oksidacijskog stanja prenose jedan elektron i time potiču stvaranje slobodnih radikala, koji dalje štetno utječu na oksidacijsku stabilnost ulja (Velasco i Dobarganes, 2002).

2.2.8. Fosfolipidi

Sirova ulja sadrže fosfolipide, ali većina njih se uklanja refinacijom. Fosfolipidi djeluju kao antioksidansi i prooksidansi ovisno o njihovoj koncentraciji i prisutnosti metala (Choe i Min, 2006). Fosfolipidi imaju sposobnost inaktiviranja metala tako da ih keliraju (Velasco i Dobarganes, 2002). Osim toga, ako se u ulju nalaze fenolni spojevi i tokoferoli zajedno mogu djelovati kao antioksidansi (Velasco i Dobarganes, 2002). S druge pak strane, fosfolipidi se sastoje od hidrofilne i hidrofobne skupine. Hidrofilne skupine fosfolipida su okrenute prema površini ulja, a hidrofobne skupine prema unutrašnjosti ulja. Fosfolipidi smanjuju površinsku napetost jestivog ulja i povećavaju brzinu difuzije kisika s površine u ulje čime se ubrzava oksidacija (Choe i Min, 2006). Pri visokim temperaturama mogu uzrokovati pjenjenje, tamnjenje i smanjiti rok trajanja ulja, ali ako se u ulju nalaze u niskim koncentracijama (<0,01%) nema takav štetni učinak na ulje i zapravo može poboljšati stabilnost ulja kod prženja (Velasco i Dobarganes, 2002).

2.3. METODE ZA ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI

Metode koje se koriste za određivanje oksidacijske stabilnosti temelje se na namjerno izazvanoj ubrzanoj oksidaciji ulja pod utjecajem temperature i zraka. Za stabilnost ulja uzima se vrijeme (sati) potrebno da uzorak postigne određenu vrijednost peroksidnog broja. Najčešće metode koje se primjenjuju su: Oven test ili Schaal oven test, Swift test ili AOM test i Rancimat test (Dimić i Turkulov, 2000). U novije vrijeme se koristi i Diferencijalna motridbena kalorimetrija ili Differential scanning calorimetry (DSC).

2.3.1. Oven test ili Schaal oven test

Ovo je jedna od najjednostavnijih i najstarijih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Uzorci se zagrijevaju na temperaturu od 60 ili 63 °C u sušioniku ili termostatu. Zatim se prati porast peroksidnog broja u određenim vremenskim razmacima ili se gledaju senzorske promjene koje nastaju procesom oksidacije. Rezultati se izražavaju kao vrijednost peroksidnog broja nakon određenog broja dana (obično četiri dana za jestiva ulja)

pri određenoj temperaturi. Izražava se i kao vrijeme u danima kada se pojavila užeglost na senzorskim ispitivanjima (Dimić i Turkulov, 2000).

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

U ovoj metodi uzorci se zagrijavaju na 98 °C i kroz njih prolazi struja kisika u Swift aparatu. Uzorcima se u određenim vremenskim razmacima određuje peroksidni broj. Peroksidni broj se najčešće određuje do 5 mmol O₂/kg jer je to granica pri kojoj se jestiva ulja mogu koristiti za prehranu. Kvalitetna ulja moraju nakon 8 sati Swift testa imati peroksidni broj manji od 5 mmol O₂/kg (Rade i sur., 2001).

2.3.3. Rancimat metoda

Metoda koja se koristi Rancimat uređajem i temelji se na određivanju vremena maksimalne promjene brzine oksidacije. Mjeri se povećanje vodljivosti destilirane vode u kojoj se otapaju produkti oksidacije. Uzorak se propuhuje strujom vrućeg zraka. Na temelju promjene provodljivosti destilirane vode radi se krivulja oksidacijske stabilnosti. Točka infleksije predstavlja indukcijsko vrijeme i oksidacijsku stabilnost uzorka. Dakle što je indukcijsko vrijeme dulje ulje ima veću oksidacijsku stabilnost (Laubli i Bruttal, 1986).

2.3.4. Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC)

Jedna od najstarijih analiza je toplinska analiza. Ljudi su kroz povijest znali koristiti jednostavne testove s toplinom kakao bi odredili da li su neki materijali lažni ili ne. Nakon puno godina istraživanja i razvoja, toplinska analiza se proširila na još puno drugih istraživanja i na puno drugih polja primjene (Almoselhy, 2020).

Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC) najraširenija je toplinska tehnika koja je jednostavna i brza, koja može pružiti mnoštvo informacija o materijalu. Ima široku primjenu koja uključuje hranu, farmaceutske proizvode, plastiku i polimere, keramiku, proteine, zapravo skoro bilo koji materijal. Diferencijalni skenirajući kalorimetar je temeljni uređaj u ovoj analizi. Koristi se u različitim industrijama od farmaceutskih do prehrambenih proizvoda. Najveća prednost DSC-a je brzina i lakoća metode i laka uočljivost prijelaza u

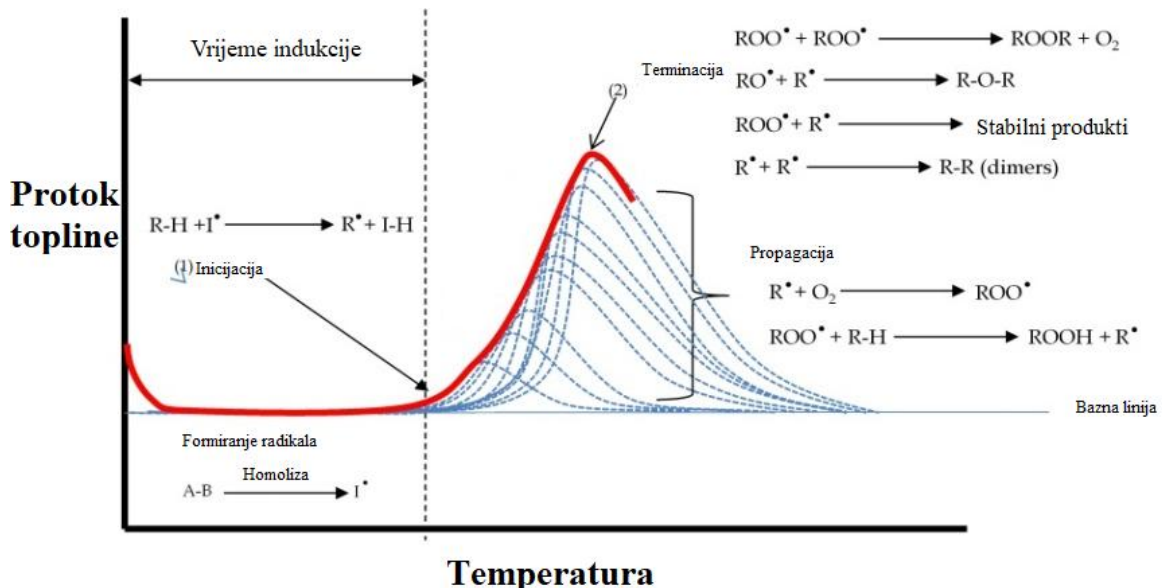
materijalima (Almoselhy, 2020). Pomoću DSC metode možemo odrediti razne fazne prijelaze (taljenje, isparavanje, sublimacija, kristalizacija), razna termofizička svojstva materijala (točka taljenja, specifični toplinski kapacitet) i analize sastava materijala (Höhne i sur., 2013). Još jedan od razloga zašto je DSC metoda poželjna je raspon temperatura koji pomaže pri kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi, a on se kreće od $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $600\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Leyva-Porras i sur., 2020).

2.3.4.1. Princip rada DSC-a

U DSC analizi se mjeri promjena energije do koje dolazi kada se uzorak zagrijava, hladi ili pak temperira na zadanoj temperaturi, zajedno s temperaturom na kojoj se promjene događaju. Promjena energije omogućuje korisniku da pronade i kvantitativno izmjeri prijelaze koji se događaju u uzorku i da zabilježi temperaturu na kojoj se događaju, te ga tako karakterizira (Almoselhy, 2020). Postoje dvije vrste DSC uređaja, to su DSC toplinskog toka i DSC kompenziranog toplinskog toka. Kod DSC toplinskog toka mjeri se signal promjene temperature između uzorka kojeg ispitujemo i referentnog uzorka (većinom obični čisti metali ili safir). Razlika je proporcionalna protoku toplinskog toka između dva uzorka čija vrijednost se dobije pomoću određenog softvera. Za razliku od DSC toplinskog toka kompenzacijski DSC sastoji se od dva identična i izolirana grijača koja griju na istu temperaturu. Na jedan grijač se stavlja uzorak koji ispitujemo, a na drugi referentni uzorak. Tijekom reakcije u uzorku događaju se promjene temperature, promjenom temperature varira električna energija koja je dovedena grijaču, ona je izravno proporcionalna apsorbiranoj toplini (Wierzbicka-Miernik, 2012). Protok energije u ili iz uzorka gledaju se kao funkcija vremena ili temperature i obično se prikazuje kao mW na y – osi. Imajući na umu da je mW jednak mJ/s možemo reći da je ovo doslovno protok energije u jedinici vremena. Protok topline može biti dvojak: jedan je endoterman i usmjerava krivulju prema dolje, a drugi je egzoterman i usmjerava krivulju prema gore. Razlog tome je što endotermne reakcije uzimaju energiju odnosno rezultiraju negativnom temperaturnom razlikom, dok egzotermne reakcije ispuštaju energiju odnosno rezultiraju pozitivnom temperaturnom razlikom. Iz ovih saznanja analitičar može lakše identificirati raspon različitih prijelaza koji se događaju kada uzorak grije ili hladi (Almoselhy, 2020).

2.3.4.2. Upotreba DSC metode za proučavanje oksidacije lipida

Važna karakteristika oksidacijskih reakcija je njihov egzotermni učinak. Oslobođena toplina se pomoću DSC-a može mjeriti izotermno ili ne-izotermno. Toplina oslobođena iz uzorka se uspoređuje sa toplinom referentne (prazne) posude zagrijavane jednakom brzinom kao i uzorak. Kada dođe do oksidacije uzorka, toplina koju on ispušta je proporcionalna toplini koju uređaj zabilježi u obliku pika. Toplina koju oslobađa oksidirano ulje bilježi se na grafu, signal protoka topline na y-os, a funkcija temperature na x-os kao što je prikazano na slici 2.. Slika 2. pokazuje idealan graf ne-izotermalne oksidacije ulja sa svim reakcijama oksidacije koje se događaju u pojedinom trenutku tijekom snimanja termograma (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013).



Slika 2. Idealan graf ne-izotermalne oksidacije ulja (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013)

Na početku termograma je jedno razdoblje u kojem se ništa ne događa sa signalom, to je područje koje se naziva vrijeme indukcije. To je razdoblje kada ne dolazi do oksidacije ulja, odnosno kad su te reakcije inhibirane antioksidansima. Što je to razdoblje duže smatra se da je ulje oksidacijski stabilnije. Točka u kojoj se signal počinje povećavati smatra se krajem vremena indukcije koja je ujedno i početak faze inicijacije. Ova faza je kratka. Radikali nastali tijekom tog vremena reagiraju sa nezasićenim masnim kiselinama. Produkti reakcije su nestabilni hidroperoksidi koji dalje ubrzavaju oksidaciju. S povećanjem brzine reakcije

oksidacije, DSC dobije signal protoka topline. Plave isprekidane crte na slici 2. su oksidacijske reakcije koje se događaju, ali DSC ne dobije signale tih reakcija jer su manje egzotermne. Na kraju pik prikazuje završnu fazu gdje nastaju stabilni produkti. Crvena linija je protok topline koju je DSC uspio zabilježiti (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013).

Osim za istraživanje oksidacijske stabilnosti ulja, DSC metoda se može koristiti za provjeru autentičnosti, karakterizaciju i otkrivanje krivotvorina ulja i masti. Isto tako može se koristiti i za predviđanje trajnosti ulja i masti i za ocjenjivanje kvalitete ulja tijekom rafiniranja. Bitna stavka za svakog analitičara je da metoda bude brza, jednostavna, ne zahtjeva puno uzorka i ne koristi štetne kemikalije, što DSC metoda pruža (Almoselhy, 2020).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za razvoj DSC metode koja će se koristiti za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja i masti korišteno je ekstra djevičansko maslinovo ulje s hrvatskog tržišta (Zvijezda plus d.d.).

3.2. Metode

3.2.1. Priprema uzorka

U aluminijsku posudicu za DSC uređaj se što točnije ($\pm 0,5$ mg) izvaže potrebna količina ulja pazeći da se ne zamasti vanjski rub posudice. Posudica se zatvori pripadajućim čepom koji je potrebno probušiti neposredno prije stavljanja u instrument. DSC uređaj 214 Polyma Differential Scanning Calorimeter (NETZSCH-Gerätebau GmbH) korišten u ovom istraživanju je prije početka rada kalibriran pomoću Indija visoke čistoće.

3.2.2. Određivanje vremena indukcije

Određivanje vremena indukcije provodilo se na DSC uređaju 214 Polyma Differential Scanning Calorimeter, NETZSCH-Gerätebau GmbH prema modificiranoj metodi opisanoj u radu Tan i sur. (2002). Uzorak DMU zagrijavan je u struji dušika (40 mL/min) do željene temperature (130, 140 i li 150 °C). Nakon postizanja zadane temperature, zagrijavanje se u cilju stabilizacije temperature provodilo još 5 minuta u struji dušika, a mjerenje vremena indukcije započinje u trenutku kada se dušik zamjeni strujom kisika (100 mL/min). Izotermalna je temperatura zadržana do pojave oksidacije, tj. do pojave strmog rasta krivulje entalpije i njezine ponovne stabilizacije. Kroz cijelo vrijeme trajanja analize kroz instrument struji dušik kao zaštitni plin protokom od 60 mL/min.

Vrijeme indukcije odredi se koristeći program NETZSCH Proteus Thermal Analysis 8.0.1 a označava sjecište ekstrapolirane bazne linije i tangente egzotermalnog dijela snimljenog termograma. Prije samog izračuna, svaka se krivulja prvo programski „zagladi“ na razinu 9/12 kako bi se olakšalo određivanje vremena indukcije.

3.2.3. Određivanje temperature indukcije

Određivanje temperature indukcije provodilo se prema metodi opisanoj u radu Ostrowska-Ligeza i sur. (2010). Uzorak DMU (4 mg) je zagrijavan u DSC uređaju od temperature 25 do 350 °C. Grijanje se provodilo koristeći 4 različite brzine porasta temperature (5, 10, 15 i 20 °C/min). Mjerenja su se provodila u struji čistog kisika (99,95 %) s protokom od 100 ml/min. Kroz vrijeme trajanja analize je uključen dušik koji struji kroz instrument (60 ml/min). Nakon provedenog mjerenja, softverski je određena temperatura indukcije (eng. onset oxidation temperature - t_{ON}) kao sjecište ekstrapolirane bazne linije i tangente egzoretermalnog dijela termograma.

3.2.4. Kvarenje ulja

U Petrijevu zdjelicu se izvaže 20 g djevičanskog maslinovog ulja, otvorena zdjelica se stavi u termostat na 98 °C. Kvarenje se provodi 2 i 24 sata. 4 mg oksidiranog ulja se pripremi prema metodi opisanoj u potpoglavlju 3.2.1. Priprema uzorka. Određuje se vrijeme indukcije na temperaturama od 140 i 150 °C prema metodi opisanoj u potpoglavlju 3.2.2. Određivanje vremena indukcije.

4. REZULTATI I RASPRAVA

DSC metoda spada u skupinu termoanalitičkih metoda te omogućuje određivanje mnogobrojnih svojstava ulja među kojima je i oksidacijska stabilnost (Almoselhy, 2020). Oksidacijska stabilnost ulja predstavlja otpornost ulja ili masti na procese oksidacije. Bitno ju je odrediti kako bi unaprijed saznali vrijeme kroz koje se ulje može koristiti u prehrani (Moslavac i sur., 2009). Oksidacijska stabilnost određena DSC metodom može se izraziti kao vrijeme indukcije ili kao temperatura indukcije nekog ulja. Cilj ovog rada je optimirati uvjete DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja. Provedene su izotermalna i dinamička (ne-izotermalna) DSC analiza ekstra djevičanskog maslinovog ulja s hrvatskog tržišta.

4.1. Vrijeme indukcije

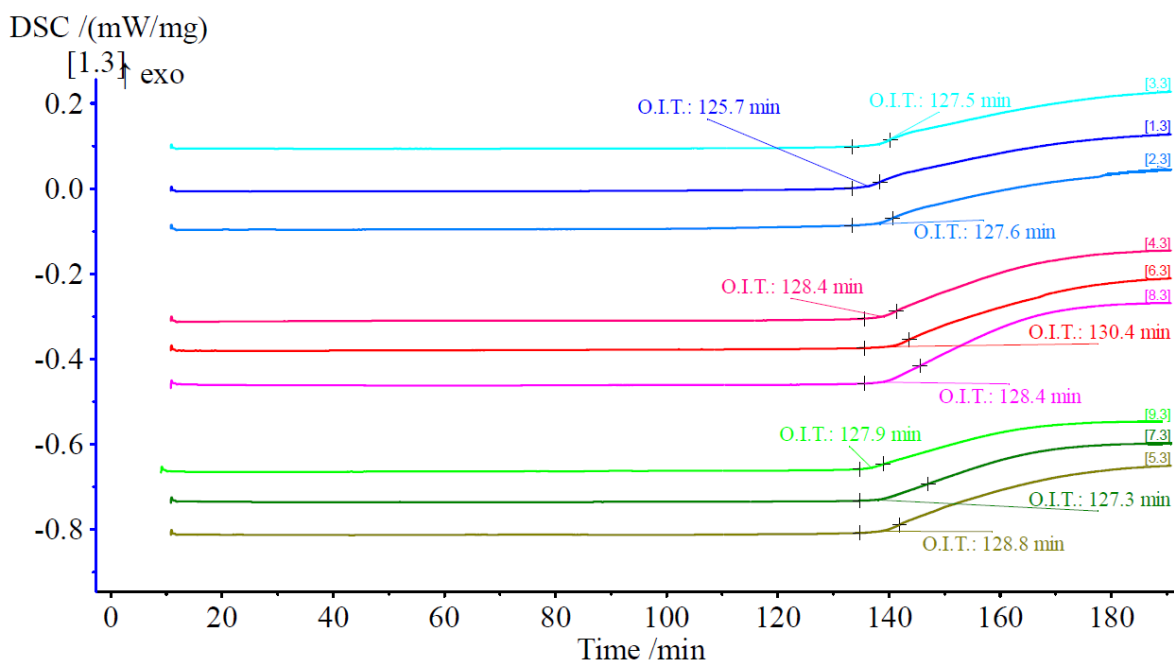
Vrijeme indukcije je vremenski period u kojem se ne događa promjena protoka u signalu DSC-a. Ono određuje izotermalnim zagrijavanjem uzorka pri zadanoj temperaturi u struji kisika. Do promjene u signalu dolazi kada se oksidacijske reakcije počnu naglo ubrzavati. Što je vrijeme indukcije duže to je oksidacijska stabilnost ulja bolja (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013).

Iako je DSC metoda brza i jednostavna tehnika, prije početka rada potrebnu ju je optimirati kako bi dobili pouzdane i ponovljive rezultate (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013). U ovom završnom radu optimirana je priprema samog uzorka (količina uzorka i korištenje poklopca za DSC posudice) i uvjeti provođenja analize (temperature pri kojoj će se provoditi izotermalne analize).

4.1.1. Utjecaj mase uzorka

U usporedbi s velikom većinom metoda DSC metoda koristi jako malo uzorka, radi se o miligramima. Pardauil i sur. (2011) zaključili su kako razlika u rezultatima između različitih metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti mogla bi se odnositi na manju količinu uzorka korištenog u DSC-u. Drugi važan čimbenik je odnos površine i volumena između ulja i kisika. Općenito, kisik i ulje bolje reagiraju kada se koristi mala količina ulja tj. ako postoji veliki

omjer površine i volumena (Pardaul i sur., 2011). Saldaña i Martínez-Monteagudo (2013) su objavili kako je ulje sa manjom masom više u kontaktu s kisikom, što olakšava difuziju kisika unutar uzorka ulja. Omjer od 1:3 (ulje:kisik) omogućuje da molekule pare nastale tijekom oksidacijske reakcije brzo izađu iz posude. Kako bismo utvrdili utjecaj količine korištenog uzorka istraživanja su provedena s masom od 4 mg, 8 mg i 12 mg. Na slici 3. je prikazan graf utjecaja masa uzorka na vrijeme indukcije.



Slika 3. Utjecaj mase oksidacije djevičanskog maslinovog ulja na vrijeme indukcije (plavo označene linije su uzorci s 12 mg, crveno s 8 mg, a zeleno s 4 mg)

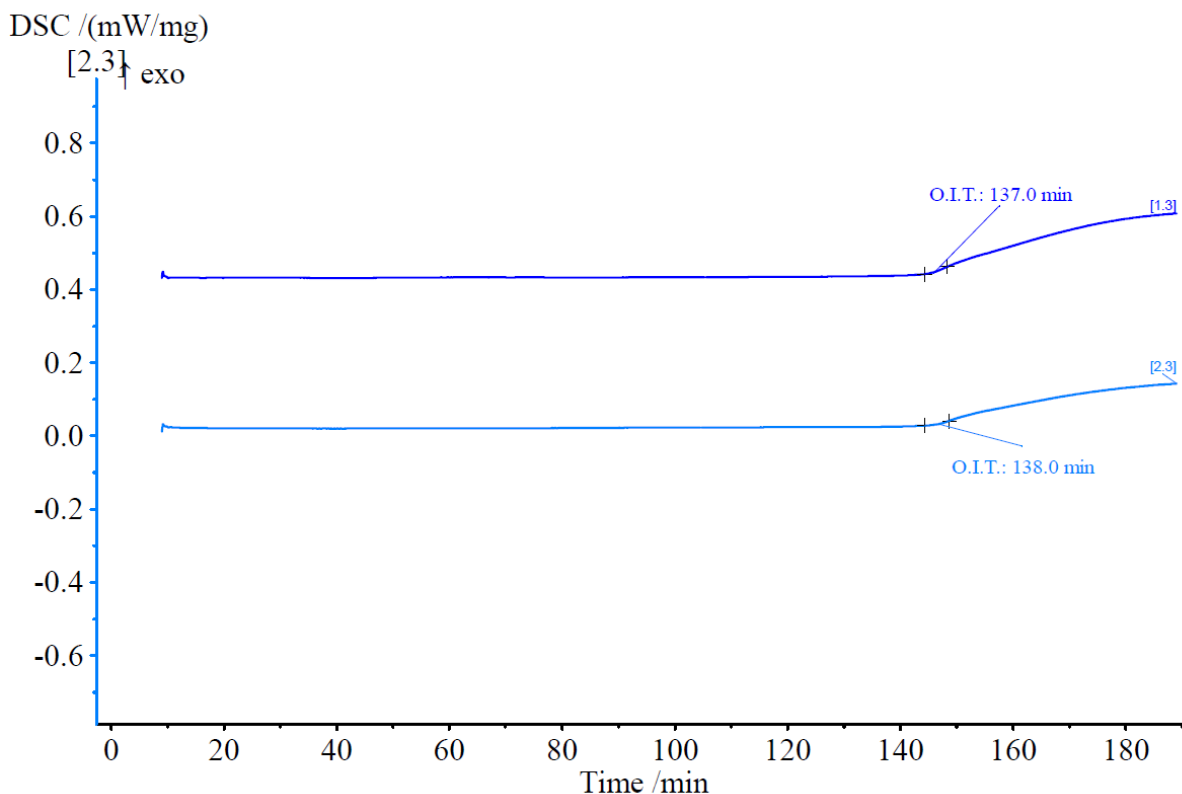
Kao što se može vidjeti masa uzorka korištenog za analizu ne utječe na vrijeme oksidacije. Općenito razlike između svih paralela navedenih masa su male (standardna devijacija za 12 mg iznosi 1,1 minute, za 8 mg 1,2 minute a za 4 mg 0,8 minuta) tako da za koju god masu se odlučili neće utjecati na vrijeme oksidacije. Za potrebe ovog rada odlučujemo se za 4 mg zbog nešto bolje ponovljivosti.

4.1.2. Utjecaj poklopca

Glavna razlika između otvorene posude i hermetički zatvorene posude s rupom je difuzija kisika i količina kisika koja je u kontaktu s uzorkom. Razlog tome je što je toplinska

vodljivost zraka manja od toplinske vodljivosti metala posude. U otvorenoj posudi, para koja nastaje tijekom oksidacije lipida napušta posudu dok se formira. To je zato što kisik djeluje kao nosač pare. Posljedica toga je gubljenje jednog dijela mase prije nego što se dostigne temperatura na kojoj počinje oksidacija. S druge strane, u zatvorenoj posudi s rupom, nastala para ne može izaći iz posude. Ova para povećava tlak unutar posude i podiže temperaturu oksidacije (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013).

Na slici 4 prikazane su dvije krivulje, prva pokazuje krivulju za hermetički zatvorenu posudu sa rupicom, a druga za posudu bez poklopca. Pokus je pooden pri istim uvjetima. Vidljivo je da nema značajne razlike u vremenu indukcije. Jedina razlika je u visini dinamičke faze krivulje, s time da je viša krivulja bila za posudu s probušenim poklopcem. Iz toga zaključujemo i dalje provodimo reakcije sa posudom s poklopcem i rupicom. Iako nema velike razlike uzimamo tu metodu kako bi lakše vidjeli dinamičke faze i lakše odredili tangente za vrijeme oksidacije. Također ovu metodu uzimamo kako ne bi došlo do prolijevanja ulja ili nekih sličnih komplikacija i zagađenja ili oštećenja na samom uređaju. To možemo potvrditi i iz literature (Saldaña i Martínez-Monteagudo, 2013), iako hermetički zatvorene posude s rupom imaju dodatnu cijenu, njihovom upotrebom izbjegava se kontaminacija DSC komore.

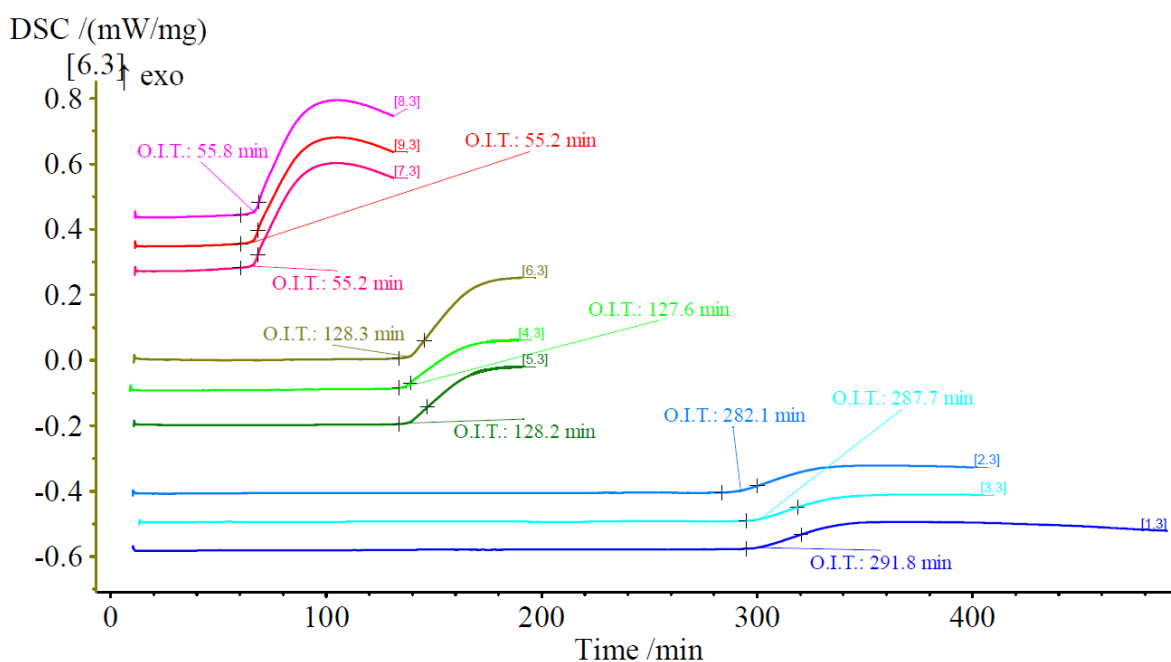


Slika 4. Utjecaj poklopca oksidacije djevičanskog maslinovog ulja na vrijeme indukcije (tamnoplava linija označava analizu s probušenim poklopcem, a svijetloplava bez poklopca)

4.1.3. Utjecaj temperature

Brzina oksidacije ulja značajno ovisi o temperaturi. Prilikom određivanja oksidacijske stabilnosti ulja DSC metodom u uljima i mastima najčešće se u literaturi koriste temperature od 110 do 140 °C (Tan i sur., 2002). Optimiranje temperature pri kojoj će se određivati vrijeme indukcije započeto je s temperaturom od 130 °C. Srednja vrijednost određenih vremena indukcije iznosi 284,7 min. Na slici 5. prikazani su rezultati paralelna određivanja vremena indukcije djevičanskog maslinovog ulja pri temperaturama od 130 (plave linije), 140 (zelene linije) i 150 °C (crvene linije). Vrijeme indukcije pri 140 °C značajno je kraće od ovog određenog pri 130 °C i iznosi 127,6 min. S obzirom na duljinu vremena indukcije pri 130 °C, te činjenice da se sa snižavanjem temperature oksidacije za 10 °C brzina same reakcije uspori gotovo za duplo (Ostrowska-Ligeza i sur., 2010), temperature niže od 130 °C nisu bile istraživane zbog predviđanja da bi vrijeme indukcije moglo biti predugo. Umjesto toga, provedena je analiza na 150 °C. Srednja vrijednost vremena indukcije pri toj temperaturi iznosi 55,4 min. Iz grafova dakle možemo zaključiti da se povećanjem temperature smanjuje vrijeme reakcije odnosno da je reakcija brža. Kada dođe do povećanja temperature za 10 °C,

brzina kemijske reakcije se udvostruči što je u skladu s ranijim istraživanjima (Pardauli i sur., 2011).

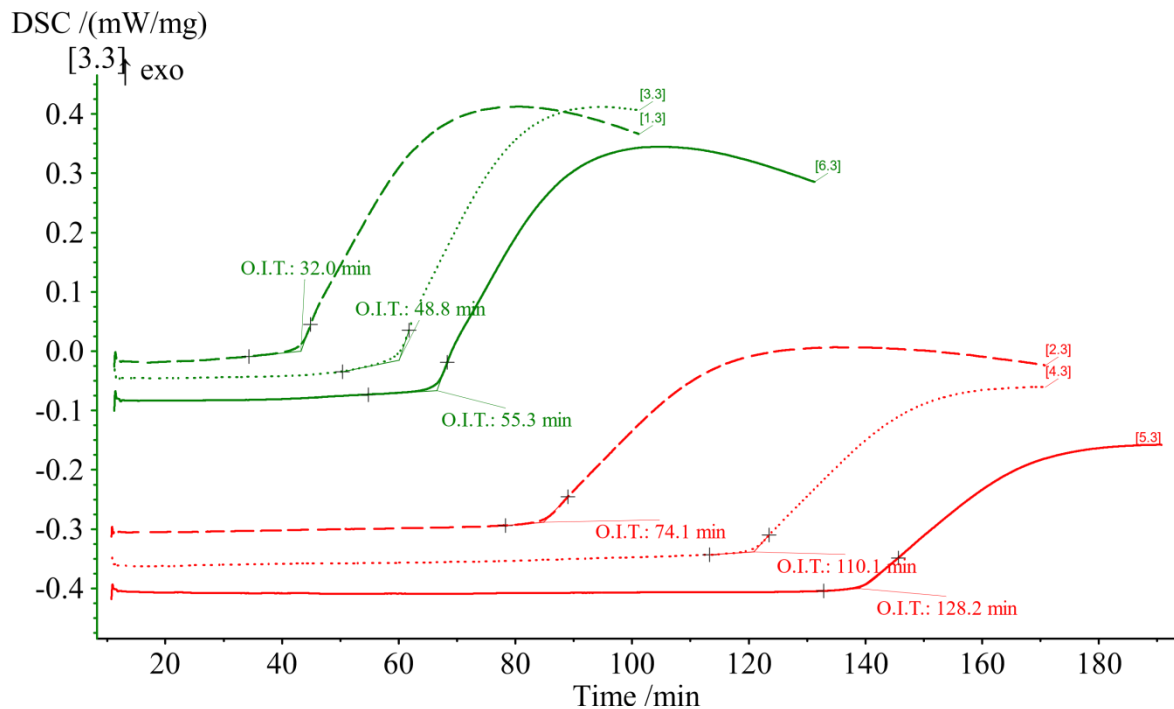


Slika 5. Utjecaj temperature oksidacije djevičanskog maslinovog ulja na vrijeme indukcije (linije označene crveno su termogrami dobiveni pri 150 °C, zeleno na 140 °C, a plavo na 130 °C)

Rezultati vremena indukcije u ovom završnog rada značajno su veći od rezultati koje je objavio Almoselhy (2021) na ekstra djevičanskom maslinovom ulju, također izotermalno pri temperaturama od 110 do 140 °C. Srednja vrijednost vremena indukcije na 130 °C ranije objavljenog istraživanja je 105,7 min, a na 140 °C je 44,3 min. Postoji velika razlika između rezultata iz literature i našeg istraživanja. Razlog takvoj velikoj razlici vremena indukcije može se pripisati sastavu ulja. Sastav masnih kiselina i triaglicerola u djevičanskom maslinovom ulju ovisi o klimi, geografskoj širini, stupnju zrelosti i sorti. Jednako tako postoji razlika i u neosapunjivom dijelu ulja odnosno u količini antioksidansa (Velasco i Dobarganes, 2002). No bez obzira na razlike u određenim vremenima indukcije, trend ubrzanja reakcije oksidacije s porastom temperature u oba istraživanja je podjednak i iznosi oko 2.

Kako će se ova optimirana metoda koristiti za određivanje oksidacijske stabilnosti djevičanskog maslinovog ulja tijekom skladištenja u projektu u sklopu kojeg je i izrađen ovaj završni rad, određeno je vrijeme indukcije u uljima podvrgnutim procesu ubrzanog kvarenja na 98 °C. Na slici 6. prikazani su rezultati vremena indukcije za uzorke ulja kvarene 2 sata

(točkaste linije) i 24 sata (isprekidane linije) određeni na 140 °C (crvene linije) i na 150 °C (zelene linije).



Slika 6. Utjecaj vremena kvarenja djevičanskog maslinovog ulja na vrijeme indukcije pri 140 (crvene linije) i 150 °C (zelene linije). Točkaste linije predstavljaju ulja kvarena 2 sata a isprekidane 24 sata na 98°C, a pune linije su ulja prije kvarenja.

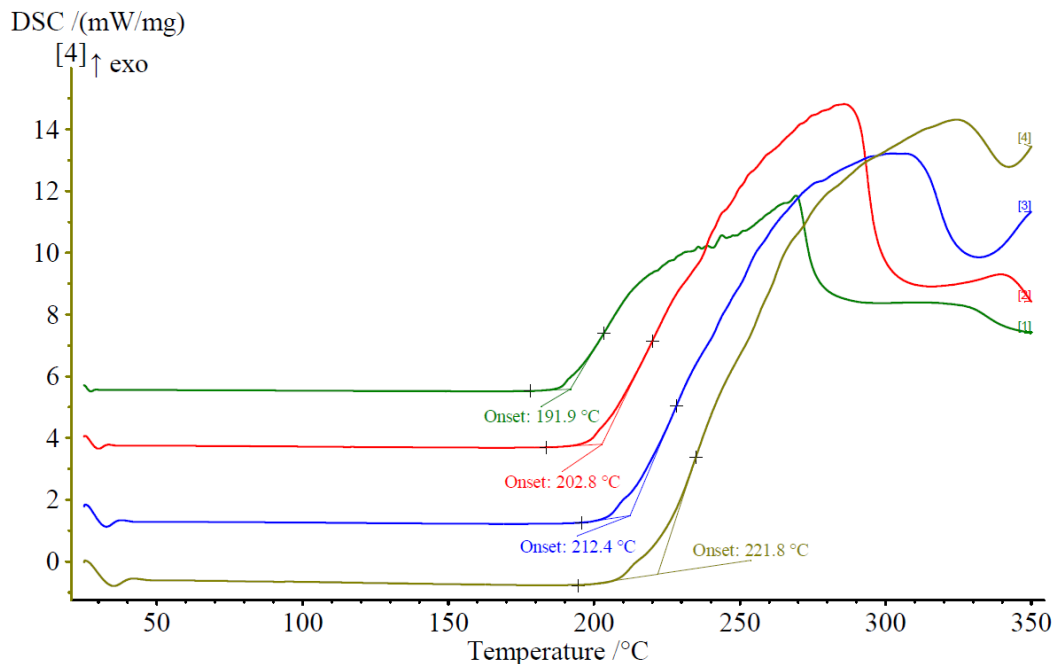
Vrijeme indukcije značajno se smanjilo kvarenjem ulja. Nakon 2 sata kvarenja, vrijeme indukcije se određeno na 140 °C smanjilo za 18,2 minute a na 150 °C za svega 6,5 min. Nakon 24 sata kvarenja vrijeme indukcije dodatno se smanjilo na 140 °C za 36 minuta a na 150°C za svega 16,8. minuta. Zbog očekivanog smanjenja oksidacijske stabilnosti tijekom skladištenja ulja, lakše je pratiti promjene ako je temperatura niža i ako se vidi veća razlika između vremena indukcije, tako da je odlučeno kako je optimalna temperatura za daljnju analizu 140 °C.

4.2. Temperatura indukcije

Temperatura indukcije je raspon temperatura u kojem se ne događaju promjene protoka u signalu. Što je temperatura indukcije veća to je ulje oksidacijski stabilnije. Temperatura

indukcije određuje se dinamičkom analizom na DSC-u pri različitim brzinama povećanja temperature u jedinici vremena.

U ovom slučaju se uzorak konstantno zagrijava brzinama porasta temperature (5, 10, 15, 20 °C/min). Za razliku od određivanja vremena indukcije gdje određujemo vrijeme, ovdje određujemo temperaturu oksidacije, tj početnu temperaturu oksidacije (eng. onset oxidation temperature - t_{ON}) u kojoj dolazi do naglog porasta u brzini reakcije.



Slika 7. Grafovi temperature indukcije (brzina zagrijavanja od 5 °C/min je označena zeleno, od 10 °C/min crveno, od 15 °C/min plavo i od 20 °C/min smeđezeleno)

Na slici 7. su prikazani grafovi posloženi po brzinama zagrijavanja u redoslijedu od 5 °C/min sve do 20 °C/min. Na grafu su označene i t_{ON} koje zapravo predstavljaju temperaturu indukcije. Kao što se može vidjeti temperature indukcije povećavaju se sa povećanjem brzine zagrijavanja, odnosno što je veća brzina zagrijavanja veća je i temperatura indukcije. To je dosljedno literaturi koja kaže da su termogrami njihovih maslinovih ulja bili sličnih oblika ali su bili pomaknuti u odnosu na temperaturu, dokazujući da što je veća brzina zagrijavanja, to je viša t_{ON} temperatura. Uzorak s višom temperaturom indukcije je stabilniji od onog uzorka čije je temperatura indukcije dobivene pri istim brzinama zagrijavanja niža (Ostrowska-Ligezai sur., 2010).

Kod odabira optimalne temperature zagrijavanja, potrebno je u obzir uzeti točnost određivanja pri pojedinoj brzini zagrijavanja i samo trajanje metode određivanja. Najmanja varijabilnost u rezultatima postignuta je pri najmanjoj brzini zagrijavanja (0,25 °C) i varijabilnost pokazuje trend rasta s povećanjem brzine zagrijavanja (0,67 pri 10 °C/min, 1,60 pri 15 °C/min i čak 2,25 pri 20 °C/min). S obzirom na veću točnost pri nižim brzinama zagrijavanja (5 i 10 °C/min) i duplo kraće vrijeme analize pri brzini zagrijavanja od 10 °C/min nego pri 5 °C/min, za daljnje analize preporučili bi određivanje temperature indukcije pri brzini zagrijavanja od 10 °C/min.

5. ZAKLJUČCI

Iz dobivenih rezultata i provedene rasprave može se zaključiti:

1. DSC je prikladna metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti. Izotermalna metoda može se koristiti za određivanje vremena indukcija a dinamička za određivanje temperature indukcije.
2. Za analizu je potrebno 4 mg ulja a bolje je provoditi ju u zatvorenoj posudici s probušenim čepom.
3. Optimalna temperatura za određivanje vremena indukcije je 140 °C.
4. Optimalna brzina zagrijavanja za određivanje temperature indukcije je 10 °C/min.

6. POPIS LITERATURE

Almoselhy RIM (2020) Applications of differential scanning calorimetry (dsc) in oils and fats research. A review. *Am Res J Agr* **6**, 1-9.

Almoselhy RIM (2021) Comparative Study of Vegetable Oils Oxidative Stability using DSC and Rancimat Methods. *Egypt J Chem* **64**, 299 - 312.

Bakarić P (2008) Maslina i maslinovo ulje (A-Ž), Naklada Zadro, Zagreb

Broadbent CJ, Pike OA (2003) Oil stability indeks correlated with sensory determination of oxidative stability in canola oil. *J Am Oil Chem Soc* **80**, 59-63.

Choe E, Min DB (2006) Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Compr Rev Food Sci* **5**, 169–186.

Dimić E, Turkulov J (2000) Kontrola kvaliteta u tehnologiji jestivih ulja, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

Ergović Ravančić M (2017) Tehnologija ulja i masti - priručnik za vježbe, Požega: Veleučilište u Požegi.

Höhne G, Hemminger WF, Flammersheim HJ (2013) Differential Scanning Calorimetry, 2. izd. Springer, Berlin/Heidelberg/New York, str. 1-7.

Krajčinović M (1951) Tehnologija masti i masnih ulja, Tehnička knjiga, Zagreb.

Laubli MW, Bruttal PA (1986) Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison between the Active Oxygen Method (AOCS cd 12-57) and the Rancimat Method. *J Am Oil Chem Soc* **63**, 792-793.

Leyva-Porras C, Cruz-Alcantar P, Espinosa-Solís V, Martínez-Guerra E, Balderrama CIP, Martínez IC i sur. (2020) Application of differential scanning calorimetry (DSC) and modulated differential scanning calorimetry (MDSC) in food and drug industries. *Polymers* **12**, 5. [https:// doi.org/10.3390/polym12010005](https://doi.org/10.3390/polym12010005)

Madhujith T, Sivakanthan S (2019) Oxidative stability of edible plants oils. U: Mérillon JM, Gopal Ramawat K (ured.) bioactive Molecules in Food, Springer International Publishing, Berlin/Heidelberg/New York.

Moslavac T, Volmut K, Benčić Đ (2009) Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom antioksidansa. *Glasnik zaštite bilja* **32**, 136-145.

Ostrowska-Ligeza E, Bekas W, Kowalska D, Lobacz M, Wroniak M, Kowalski B (2010) Kinetics of commercial olive oil oxidation: Dynamic differential scanning calorimetry and Rancimat studies. *Eur J Lipid Sci Technol* **112**, 268–274.

Pardaul JJR, Souza LKC, Molfetta FA, Zamian JR, Rocha Filho GN, da Costa CEF (2011) Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresour Technol* **102**, 5873–5877.

Pejović J, Barbarić M, Jakobušić CB (2014) Maslinovo ulje - sastav i biološka aktivnost fenolnih spojeva, *Farmaceutski glasnik* **70**, 69-86

Rade D, Markovčak Ž, Štruelj D (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, Zagreb, str. 42-43.

Saldaña MDA, Martínez-Monteagudo SI (2013) Oxidative Stability of Fats and Oils Measured by Differential Scanning Calorimetry for Food and Industrial Applications. U: Ali Elkordy A (ured.) Application of Calorimetry in a Wide Context, 1 izd., IntechOpen, London, str. 445 – 474.

Shahidi F (1997) Natural antioxidants: an overview. U: Shahidi F (ured.) Natural antioxidants. Chemistry, Health Effects and Applications, AOCS Press, Champaign, Illinois.

Mishra P, Lleó L, Cuadrado T, Ruiz-Altisent M, Hernández-Sánchez N (2018) Monitoring oxidation changes in commercial extra virgin olive oils with fluorescence spectroscopy-based prototype. *Eur Food Res Technol* **244**, 565 – 575.

Tan CP, Che Man YB, Selamat J, Yusoff MSA (2002) Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chem* **76**, 385–389.

Velasco J, Dobarganes C (2002) Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur J Lipid Sci Technol* **104**, 661–676

Vidyasagar K, Arya SS, Premevali KS, Parihar DB, Nath H (1974) Chemical and nutritive changes in refined groundnut oil durin deep fat frying. *J Sci Technol* **11**, 73-75.

Wierzbicka-Miernik A (2012) Fundamentals of the Differential Scanning Calorimetry application in materials science - E-learning platform. <http://www.imim.pl/PHD/www.imim-phd.edu.pl>. Pristupljeno 3. srpnja 2022.

Xu T, Li J, Fan Y, Zheng T, Deng Z (2015) Comparison of oxidative stability among edible oils under continuous frying conditions, *Int J Food Prop* **18**, 1478–1490

Žanetić M, Gugić M (2005) Čuvanje djevičanskog maslinovog ulja. *Pomologia Croatica* **11**, 31-41.

Žanetić M, Gugić M (2006) Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja. *Pomologia Croatica* **12**, 159-173.

Izjava o izvornosti

Ja Ivana Hojka izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Ivana Hojka

Vlastoručni potpis