

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**UTJECAJ SKVALENA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST**  
**EKSTRA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA I**  
**RIBLJEG ULJA**

**ZAVRŠNI RAD**

**TANJA ZRNIĆ**

**Matični broj: 1387**

**Split, listopad 2017.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**STRUČNI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE**  
**SMJER: PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**UTJECAJ SKVALENA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST**  
**EKSTRA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA I**  
**RIBLJEG ULJA**

**ZAVRŠNI RAD**

**TANJA ZRNIĆ**

**Matični broj: 1387**

**Split, listopad 2017.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**PROFESSIONAL STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY**  
**COURSE: FOOD TECHNOLOGY**

**EFFECT OF SQUALENE ON THE OXIDATIVE  
STABILITY OF THE EXTRA VIRGIN OLIVE OIL AND  
FISH OIL**

**BACHELOR THESIS**

**TANJA ZRNIĆ**

**Parent number: 1387**

**Split, October 2017.**



## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

### ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu  
Stručni studij kemijske tehnologije  
Smjer: Prehrambena tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 21. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta

Mentor: Prof. dr. sc. Tea Bilušić

### UTJECAJ SKVALENA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST EKSTRA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA I RIBLJEG ULJA

Tanja Zrnić, 1387

#### Sažetak:

Maslinovo ulje je jedna od najvažnijih namirnica u čovjekovoj svakodnevnoj prehrani zbog visoko vrijednih sastojaka koji potpomažu u očuvanju ljudskog zdravlja zbog uravnoteženog sastava masnih kiselina. Također, maslinovo ulje ima visok sadržaj vitamina E i polifenola koji imaju zaštitnu i antioksidacijsku ulogu. Riblje ulje je u posljednje vrijeme vrlo korištena namirnica zbog visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina, no ono je isto kao i maslinovo ulje podložno oksidaciji. Skvalen je polunezasićeni ugljikovodik koji ima značajan antioksidacijski učinak i mnoga biološka djelovanja, te zaštitno djeluje na nekoliko vrsta tumora. U ovom završnom radu se istraživao utjecaj dodatka skvalena na oksidacijsku stabilnost ribljeg i maslinovog ulja. Rezultati su potvrdili da skvalen nema utjecaj na produljenje oksidacijske stabilnosti ekstra djevičanskog maslinovog ulja niti ribljeg ulja. S druge strane, korištenje emulzijskog sustava može povećati utjecaj skvalena na produljenje oksidacijske stabilnosti.

**Ključne riječi:** skvalen, maslinovo ulje, riblje ulje, oksidacija, mikroemulzija

Rad sadrži: 19 stranica, 9 slika, 5 tablica, 23 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić
2. Doc. dr. sc. Franko Burčul
3. Prof. dr. sc. Tea Bilušić

Datum obrane: 13.10.2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Professional study of Chemical Technology**  
**Course: Food Technology**

**Scientific area: Biotechnical sciences**

**Scientific field: Food Technology**

**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session No. 21.

**Mentor:** Prof. dr. sc. Tea Bilušić

### **EFFECT OF SQUALENE ON THE OXIDATIVE STABILITY OF THE EXTRA VIRGIN OLIVE OIL AND FISH OIL**

Tanja Zrnić, 1387

#### **Abstract:**

Olive oil is one of the most important foods in human daily diet because of high-value ingredients that affect the preservation of human health due to a balanced fat composition. Also, olive oil has a high vitamin E percentage that has a protective and antioxidant role. Fish oil has been a very useful food for the last time due to the high content of unsaturated fatty acids, but it is like olive oil an inadequate oxidation. Squalen is a semi-saturated hydrocarbon having a significant antioxidant effect and many biological effects, and protects against several types of tumors. In this final paper, the effect of squalene on the oxidative stability of fish and olive oil was investigated. Results showed that squalene had no effect on the prolongation of the oxidative stability of olive oil and fish oil. On the other hand, the use of emulsions system with incorporated squalene showed the prolongation of the olive oil and fish oil oxidative stability.

**Keywords:** squalene, olive oil, fish oil, oxidation, microemulsion

Thesis contains: 19 pages, 9 figures, 5 tables, 23 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Ph. D. Ivana Generalić Mekinić, assistant professor
2. Ph. D. Franko Burčul, assistant professor
3. Ph. D. Tea Bilušić, full professor

Defence date: 13.10.2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Tee Bilušić, u razdoblju od svibnja do listopada 2017. godine.*



*Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Tei Bilušić na vodstvu, pomoći i strpljenju tokom izrade završnog rada, te ostalim članovima povjerenstva na pomoći. Također se zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i razumijevanju.*

## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Zadatak ovog završnog rada bio je:

- Odrediti oksidacijsku stabilnost ekstra djevičanskog maslinovog ulja dodatkom određene koncentracije skvalena Rancimat metodom
- Odrediti oksidacijsku stabilnost ribljeg ulja dodatkom određene koncentracije skvalena Rancimat metodom
- Odrediti oksidacijsku stabilnost ekstra djevičanskog maslinovog ulja dodatkom određene koncentracije emulzije i skvalena Rancimat metodom
- Odrediti oksidacijsku stabilnost ribljeg ulja dodatkom određene koncentracije emulzije i skvalena Rancimat metodom

## SAŽETAK

Maslinovo ulje je jedna od najvažnijih namirnica u čovjekovoj svakodnevnoj prehrani zbog visoko vrijednih sastojaka koji potpomažu u očuvanju ljudskog zdravlja zbog uravnoteženog sastava masnih kiselina. Također, maslinovo ulje ima visok sadržaj vitamina E i polifenola koji imaju zaštitnu i antioksidacijsku ulogu. Riblje ulje je u posljednje vrijeme vrlo korištena namirnica zbog visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina, no ono je isto kao i maslinovo ulje podložno oksidaciji. Skvalen je polunezasićeni ugljikovodik koji ima značajan antioksidacijski učinak i mnoga biološka djelovanja, te zaštitno djeluje na nekoliko vrsta tumora. U ovom završnom radu se istraživao utjecaj dodatka skvalena na oksidacijsku stabilnost ribljeg i maslinovog ulja. Rezultati su potvrdili da skvalen nema utjecaj na produljenje oksidacijske stabilnosti ekstra djevičanskog maslinovog ulja niti ribljeg ulja. S druge strane, korištenje emulzijskog sustava može povećati utjecaj skvalena na produljenje oksidacijske stabilnosti.

**Ključne riječi:** skvalen, maslinovo ulje, riblje ulje, oksidacija, mikroemulzija

## **ABSTRACT**

Olive oil is one of the most important foods in human daily diet because of high-value ingredients that affect the preservation of human health due to a balanced fat composition. Also, olive oil has a high vitamin E percentage that has a protective and antioxidant role. Fish oil has been a very useful food for the last time due to the high content of unsaturated fatty acids, but it is like olive oil an inadequate oxidation. Squalene is a semi-saturated hydrocarbon having a significant antioxidant effect and many biological effects, and protects against several types of tumors. In this final paper, the effect of squalene on the oxidative stability of fish and olive oil was investigated. Results showed that squalene had no effect on the prolongation of the oxidative stability of olive oil and fish oil. On the other hand, the use of emulsions system with incorporated squalene showed the prolongation of the olive oil and fish oil oxidative stability.

**Keywords:** squalene, olive oil, fish oil, oxidation, microemulsion

## SADRŽAJ

<b>1. OPĆI DIO.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Kemijski sastav ekstra djevičanskog maslinovog ulja.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Kemijski sastav ribljeg ulja.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Skvalen-biološka komponenta ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ribljeg ulja.....</b>	<b>5</b>
<b>1.4. Uloga maslinovog ulja u prehrani .....</b>	<b>6</b>
<b>1.5. Uloga ribljeg ulja u prehrani .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6. Mikroemulzije .....</b>	<b>8</b>
<b>2. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1. Materijal i metode .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.1. Uzorci.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.2. Priprema emulzijskog sustava.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti.....</b>	<b>9</b>
<b>3. REZULTATI.....</b>	<b>12</b>
<b>4. RASPRAVA .....</b>	<b>16</b>
<b>5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>17</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>18</b>



## UVOD

Maslinovo ulje je jedno od najvažnijih namirnica današnjice, te je na njemu temeljena mediteranska prehrana. Pozitivno utječe na zdravlje čovjeka, zaustavlja proces starenja i smatra se da produžuje životni vijek. Uvrštavanje maslinovog ulja u svakodnevnu prehranu dokazano djeluje na smanjenje krvnog tlaka i LDL kolesterola. Pomaže pri apsorpciji kalcija, povoljno djeluje na probavu i sprječava upale jednjaka i želučane sluznice, te ima blagi laksativni učinak.

Riblje ulje, poput maslinovog ulja, vrlo povoljno djeluje na zdravlje čovjeka. Djeluje na rad srca i krvožilnog sustava, smanjuje krvni tlak i ima povoljan učinak na rad mozga. Bogato je esencijalnim nezasićenim omega-3 masnim kiselinama koje su ključni faktor u kognitivnim funkcijama te su prijeko potrebne za normalan rast i razvoj.

Skvalen spada u skupinu polunezasićenih ugljikovodika i ima vrlo dobra antioksidacijska svojstva. Nalazimo ga kao sastojak brojnih biljnih ulja, a odličan izvor skvalena je ulje jetre morskog psa. Skvalen nalazimo i u strukturi kože, te je jedan od glavnih komponenti površinskog masnog sloja kože.

U ovom završnom radu ispitivan je utjecaj skvalena te utjecaj sustava mikroemulzija-skvalen na oksidacijsku stabilnost ribljeg i maslinovog ulja pomoću Rancimat metode.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. Kemijski sastav ekstra djevičanskog maslinovog ulja

Maslinovo ulje izgrađeno je od osapunjivog dijela (99%) kojeg uglavnom čine trigliceridi te od neosapunjivog dijela (1%) kojeg čine tzv. prateći spojevi. Maslinovo ulje ovisno o sadržaju i vrsti ovih spojeva se razlikuje od ostalih jestivih ulja. Trigliceridi u svom sastavu imaju određene masne kiseline koje ovise o porijeklu maslinovog ulja te je samim tim i sastav masnih kiselina u maslinovim uljima različit.[1]

Tablica 1:Sastav masnih kiselina u maslinovom ulju [2]

Zasićene masne kiseline	Udio (%)
<b>palmatinska (C16:0)</b>	5,7-18,6
<b>heptadekanska (C17:0)</b>	0,0-0,2
<b>stearinska (C18:0)</b>	0,5-4,0
<b>Nezasićene masne kiseline</b>	
<b>oleinska (C18:1)</b>	59,2-83,0
<b>linoleinska (C18:2)</b>	3,5-20,0
<b>linolna (C18:3)</b>	0,1-0,6

Maslinovo ulje je prehrambeno vrijedna i zdrava namirnica upravo radi povoljnog omjera masnih kiselina. Obzirom na navedene udjele masnih kiselina vidljivo je da maslinovo ulje sadrži veći udio nezasićenih u odnosu na zasićene masne kiseline te sadrži velike količine esencijalnih masnih kiselina u usporedbi sa drugim biljnim uljima.

Neosapunjivi dio čine zapravo sekundarni produkti metabolizma stabla i ploda masline koji imaju odlučujuću ulogu u brojnim fiziološkim i biokemijskim procesima. Neki od njih imaju terapijsko značenje, dok drugi predstavljaju osnovni element



arome ulja (mirisi, okusi). Velik dio ovih spojeva su djelotvorni prirodni antioksidansi koji povećavaju otpornost ulja na kvarenje. Oko 60% neosapunjivog dijela maslinovog ulja su ugljikovodici čije frakcije služe za utvrđivanje kvalitete proizvoda i njegovih prehrambenih svojstava.[1]

Od većeg značenja je prisutnost višenezasićenog ugljikovodika skvalena koji sudjeluje do 40% u ukupnom sadržaju neosapunjivog dijela. Skvalen je temeljni prethodnik u biosintezi kolesterola i fitosterola, a također i svih steroidnih hormona (žučnih kiselina, hormona nadbubrežne žlijezde i spolnih hormona). Količina skvalena u maslinovu ulju je znatno veća nego li u ostalim uljima biljnog porijekla.[3]

Preostali dio čine zasićeni alifatski ugljikovodici i produkti neoformacije koji potječu od sterola, i koji imaju primarnu ulogu u dokazivanju autentičnosti i kvalitete proizvoda. Steroli su sastavni dio neosapunjive frakcije maslinovog ulja, a određivanjem njihova sastava moguće je potvrditi izvornost i čistoću proizvoda. Steroli su zapravo steroidni alkoholi koji u biosintezi nastaju iz skvalena.[1,4]

U maslinovom ulju također nalazimo i fenolne spojeve koji su zaslužni za njegova antioksidacijska svojstva i kao takvi štite ulje od utjecaja kisika i nastanka nepoželjnih organoleptičkih i nutritivnih promjena u ulju. U prvom redu možemo istaknuti spoj oleuropein, koji je kao takav karakterističan samo za ulje ploda masline. Oleuropein je snažan antioksidans, usto ima izraženo antimikrobno i antivirusno djelovanje.[5] Osim oleuropeina izuzetno važnim se smatraju spojevi tirozol i hidroksitirozol koji sa oleuropeinom daju karakterističan pikantan i pomalo gorak okus maslinovom ulju.

Klorofilni pigmenti *a* i *b* te feofitin *a* i *b* su odgovorni za zelenu boju ulja, a utječu i na autooksidacijske i fotooksidacijske procese u ulju. Udio ovih spojeva ovisi o stupnju zrelosti, uvjetima čuvanja ploda prije prerade, načinu prerade i drugim čimbenicima.[4] Kada je riječ o vitaminima u maslinovom ulju su prisutni vitamini topivi u uljima i mastima: vitamin E (tokoferol) i vitamin K (filokinon). Vitamini A (retinol) i vitamin D (kalciferol) nisu prisutni u maslinovom ulju, no maslinovo ulje je bogato  $\beta$ -karotenom, koji je provitamin vitamina A, a spada u skupinu spojeva karotenoida odnosno ugljikovodika intenzivne žute, narančaste ili crvene boje. Karotenoidi se dijele u dvije osnovne skupine: karotene i ksantofile. Četiri su prirodna spoja koja imaju aktivnost vitamina E, a nazivaju se  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferoli. Od tokoferola u maslinovom ulju najzastupljenije je  $\alpha$ -tokoferol (88,5%). Ovaj spoj ima i najjače biološko djelovanje te štiti ulje od oksidacije djelujući sinergistički sa polifenolima.[6]

Terpenski alkoholi čine oko 20-26% neosapunjivog dijela maslinovog ulja. Ovi spojevi imaju ulogu biogenetskih posrednika u transformacijama koje se odnose na skvalen. U neosapunjivom dijelu maslinovog ulja su i tzv. ‘spojevi arome’, a to su aldehidi, ketoni, esteri, itd. Do sada je identificirano više od 90 spojeva koji čine specifičnu aromu maslinovog ulja. Ovi spojevi utječu na aromu ulja i na njegova senzorska svojstva. [1,4]



*Slika 1. Maslinovo ulje [7].*

## **1.2. Kemijski sastav ribljeg ulja**

Količina masti u mesu riba varira od 0,7 do 20%, a ponekad je njihov sadržaj u ribi i viši. Riblju mast većim dijelom čine nezasićene masne kiseline (60-84%), a kod morskih riba oko 88% visoko nezasićenih masnih kiselina sadrži 5 ili 6 dvostrukih veza.[8] Takav sastav ih čini jako podložnim oksidacijskim procesima i kvarenju. Riblja mast sadrži oko 50% oleinske kiseline radi čega je meke konzistencije. Riba se na osnovi raspodjele masti dijeli na plavu i bijelu. Plava riba pohranjuje masti u masnim stanicama po cijelom tijelu, a bijela u jetri i donekle u trbušnoj šupljini. Udio masti kod bijele ribe je znatno niži. Kao jedan od značajnih sastojaka ribe su omega-3 masne kiseline koje pripadaju skupini esencijalnih masnih kiselina, a manjak ovih masnih kiselina u organizmu može dovesti do različitih poremećaja. Omega-3 masne kiseline pozitivno djeluju na krvožilni sustav, održavaju elastičnost arterija i snižavaju razinu

masnoća u krvi, bitne su za zdrav razvoj djeteta u majčinoj utrobi i imaju važnu ulogu u razvoju mozga i vida kod djece.[9]

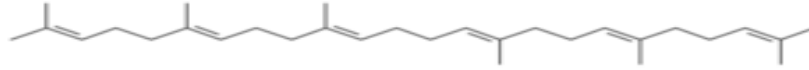
Riblje ulje je posljednjih godina jedno od najpopularnijih dijetnih proizvoda s brojnim korisnicima diljem svijeta. Zbog visokog sadržaja nezasićenih masnih kiselina riblje ulje je vrlo podložno oksidaciji, a užeglo gubi svoju hranjivu vrijednost. Na smanjenje stupnja oksidacije ribljeg ulja tijekom zagrijavanja, značajan utjecaj ima sadržaj vitamina E, te raznih fenola, ali i aditiva koji se sve češće koriste u prehrambenoj industriji u svrhu produljenja trajnosti ulja. Ipak, brojna istraživanja su pokazala kako se pojedini aditivi koji se učestalo koriste zapravo štetni i nesigurni za zdravlje potrošača.[10,11]



*Slika 2. Riblje ulje [12].*

### **1.3. Skvalen-biološka komponenta ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ribljeg ulja**

Skvalen je rasprostranjen u prirodi kao sastojak brojnih biljnih ulja, među kojima se nalazi i maslinovo ulje, ali ga možemo pronaći i u strukturi kože. Eksperimentalna istraživanja pokazuju da skvalen može učinkovito spriječiti oštećenja kože budući da se radi o prirodnom organskom spoju koji ima brojna pozitivna biološka djelovanja; izvrstan je antioksidans, ima zaštitno djelovanje na nekoliko vrsta tumora uključujući i tumor kože (eksperimentalno provedeno istraživanje na laboratorijskim miševima). Kod osoba koje konzumiraju velike količine maslinovog ulja ili jetre morskog psa zamijećena je veća koncentracija skvalena u serumu. Maslinovo ulje, sadrži oko 400-450 mg/100 g skvalena, dok rafinirana ulja sadrže oko 25% manje količine ovog spoja. U nekim slučajevima maslinova ulja velike kvalitete sadrže i do 700 mg/100 g skvalena.[13]



*Slika 3. Formula skvalena [14].*

#### **1.4. Uloga maslinovog ulja u prehrani**

Maslinovo ulje se od davnina koristi u pučkoj medicini za liječenje brojnih bolesti i tegoba. Razlog tomu je zasigurno povoljan sastav i omjer masnih kiselina u kojima glavnu ulogu ima jednostruko nezasićena oleinska kiselina te višestruko nezasićene esencijalne masne kiseline linolna i linolenska. Povoljan učinak na zdravlje također pokazuju i brojni antioksidansi prisutni u maslinovom ulju, od kojih možemo izdvojiti fenolne spojeve i vitamin E.

Redovita konzumacija maslinovog ulja uvelike poboljšava sveukupno zdravlje čovjeka. Maslinovo ulje se smatra poželjnim sredstvom u borbi protiv srčanih bolesti. Antioksidansi prisutni u ulju štite LDL kolesterol od oksidacije, dok oleinska kiselina i još neke tvari djeluju antitrombotično, snižavaju kolesterol i povišeni krvni tlak te sprječavaju oksidaciju jednostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina.[5]

Povoljno djelovanje maslinovog ulja uočeno je kod problema s osteoporozom jer ono potiče apsorpciju kalcija pa djeluje na ponovnu mineralizaciju kostiju. Isto tako, maslinovo ulje ima povoljan utjecaj na probavu hrane jer poboljšava apsorpciju hranjivih tvari, sprječava upale jednjaka i pojavu žgaravice, sprječava upale želučane sluznice te pojavu čira želuca i dvanaestnika. Također, maslinovo ulje ima blagi laksativni učinak. Maslinovo ulje sadrži veće količine skvalena u odnosu na ostala

biljna ulja pa stoga ima antikancerogeni učinak prema stanicama raka kože. Zaštitna uloga maslinovog ulja uočena je također pri pojavi tumora, posebice tumora dojke, prostate, debelog crijeva i maternice.[1,15]

Maslinovo ulje povoljno djeluje na usporavanje starenja obzirom na to da sadrži veliku količinu jednostruko nezasićenih masnih kiselina, a poznato je da koža pokazuje znakove bržeg starenja kod povećane konzumacije višestruko nezasićenih masnih kiselina koje u velikim količinama sadrže ostala biljna ulja poput suncokretovog i kukuruznog ulja.[16]

### **1.5. Uloga ribljeg ulja u prehrani**

Riblje ulje se promatra kao najnoviji dodatak prehrani, a koje pridonosi zdravstvenim dobrobitima. Postiže popularnost kod kardiologa, sportaša i kod više ljudi u svakodnevnom životu. Meso ribe je varijabilno u pogledu količine masti. Udio masnoće u ribi je parametar za razvrstavanje u kategorije i to: nemasne (do 3%), srednje masne (do 8%) i masne (više od 8%). Riba se na osnovi raspodjele masti u tijelu dijeli na plavu i bijelu. Dok, plava riba pohranjuje masti u masnim stanicama po cijelom tijelu, kod bijele ribe je nalazimo u jetri i dijelom u trbušnoj šupljini.[1,9]

Riblje ulje sadrži višestruko nezasićene masne kiseline, a osobito je bogato esencijalnim omega-3 masnim kiselinama. Omega-3 masne kiseline smanjuju razinu kolesterola, poboljšavaju elastičnost stijenki krvnih žila i tako pomažu u regulaciji krvnog tlaka. Također smanjuju rizik od začepljenja krvnih žila i imaju protuupalna svojstva. Sadržaj eikozapentanske (EPA) i dokozaheksanske (DHA) masne kiseline u ukupnom sadržaju omega-3 se razlikuje među različitim vrstama riba. Ljudski organizam ima mogućnost sintetizirati većinu masnih kiselina koje su mu potrebne za rast i razvoj osim: arahidonske, linolne i linolenske kiseline. Stoga se navedene masne kiseline nazivaju esencijalnim i neophodno ih je unositi u tijelo hranom jer su bitne za pravilan rad stanica i organa te služe kao prekursori za brojne regulatorne molekule. Iz ovog razloga je poželjno da riba kao namirnica bude što češće uvrštena u prehranu. [17]

Također je dokazan povoljan učinak ribljeg ulja na zdravlje srca i krvožilnog sustava, te se koristi kao preventiva za ishemijski moždani udar. Dovoljan unos omega-3 masnih kiselina doprinosi razvoju funkcija mozga posebno u djetinjstvu, ali i u odrasloj dobi. Riblje ulje je učinkovito u liječenju reumatoidnog artritisa. Omega-3 mogu biti korisne kao pomoć u mršavljenju povećanjem postprandijalne sitosti. Riblje ulje pomaže u borbi protiv dijabetesa, u prevencije starenja, kod depresije, različitih bolova i upalnih stanja.[1]

## 1.6. Mikroemulzije

Mikroemulzije su termodinamički stabilni i optički izotropni prozirni sustavi, koji na makroskopskom nivou izgledaju kao bistre otopine. Međutim, na nano-nivou to su heterogeni sustavi koji sadrže dobro dispergirane vodene ili uljne agregate promjera manjih od 100 nm. Mikroemulzijske otopine sadrže ulje, vodu i amfifilne molekule (surfaktante i kosurfaktante). Po unutrašnjoj strukturi mikroemulzija može sadržavati kapljice ulja-u-vodi (u/v) stabilizirane međupovršinskim slojem surfaktanta i kosurfaktanta, kapljice vode u ulju (v/u) ili može biti bikontinuirana faza.[18]

Mikroemulzije vode u ulju važne su za sintezu anorganskih materijala, gdje produkti često imaju poboljšane karakteristike u pogledu čistoće i raspodjele čestica po veličini. Veličinu je moguće kontrolirati kemijskim sastavom uljne i vodene faze.[19]

U mikroemulzijama amfifilne molekule sufrakanata potpuno obavijaju kapljice, pa disperzna faza, u našem slučaju je to skvalen, i kontinuirana faza, tj. riblje i maslinovo ulje, nisu u izravnom kontaktu. Mikroemulzije se uspješno koriste kao reakcijski medij za odvijanje lipolitičkih reakcija: uklanja se problem netopljivosti lipida, lipaza je dosta stabilna u mikroemulziji i može se izdvojiti i ponovo koristiti, međufazna površina je dovoljno razvijena i sadržaj vode se može mijenjati u širokom intervalu zahvaljujući čemu se može utjecati na enzimsku aktivnost.[20]

## **2. EKSPERIMENTALNI DIO**

### **2.1. Materijal i metode**

#### **2.1.1. Uzorci**

U izradi ovoga rada korišteno je ekstra djevičansko maslinovo ulje i riblje ulje dobiveno iz jetre bakalara (Kemig d.o.o.), te komercijalno dostupan skvalen (Merck Chemicals).

#### **2.1.2. Priprema emulzijskog sustava**

Emulzija je pripravljena koristeći ekstra djevičansko maslinovo ulje kao uljnu fazu, vodu, etanol i tween 80.

- 20 g maslinovog ulja
- 10 g voda
- 63 g TWEEN
- 7 g etanol

Navedena smjesa je stavljena na mehanički homogenizator Ultra-turaxx (IKA Ultra-turrax T25 Digital Homogenizer) tijekom perioda od 10 minuta.

#### **2.1.3. Određivanje oksidacijske stabilnosti**

Oksidacijska stabilnost ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ulja iz jetre bakalara sa i bez dodatka različitih koncentracija skvalena (1,66 v/v% i 3,33 v/v%) te skvalena u kombinaciji s emulzijom određena je testom ubrzane oksidacije ulja koristeći Rancimat test (ISO 6886:1996). Ovaj test temelji se na ubrzanom kvarenju ulja pri povišenim temperaturama uz konstantan dovod zraka određene brzine protoka u uzorak ulja. Indukcijski period (IP) oksidacije ulja određuje se na osnovi količine izdvojenih

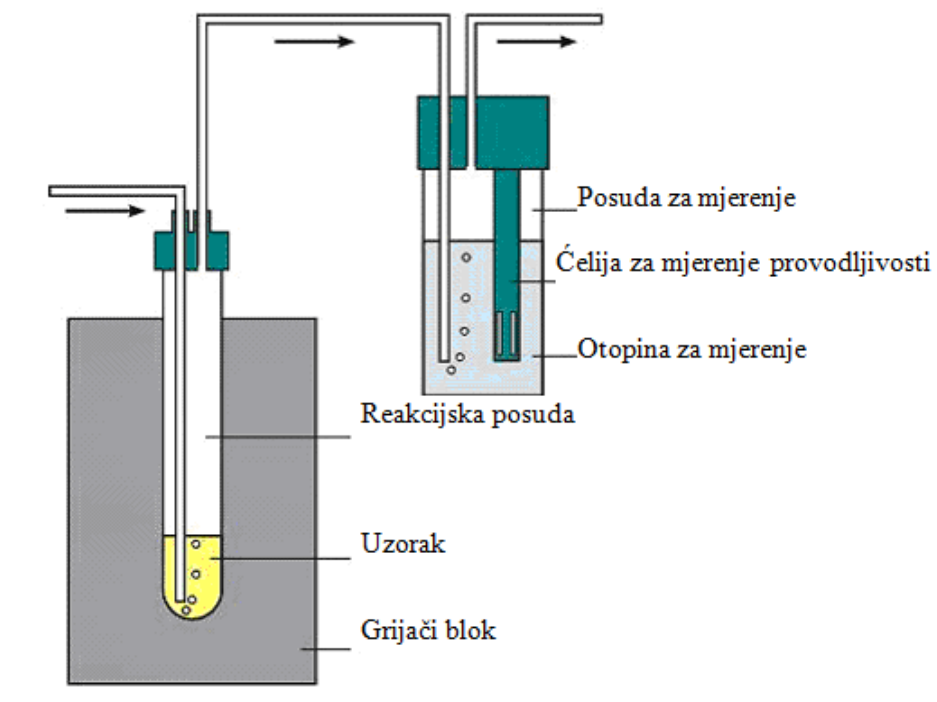
kratko lančanih hlapljivih organskih kiselina, uvedenih u demineraliziranu vodu te mjerenjem porasta vodljivosti indirektno se prati tijek oksidacijskog kvarenja ulja.

Dobivena vrijednost induksijskog perioda (vrijeme u satima) ukazuje na otpornost ispitivanog ulja prema oksidaciji. Ako je vrijednost induksijskog perioda veća tada je veća i oksidacijska stabilnost ili održivost ulja. Korišten je automatski uređaj za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja Rancimat model 743 (Metrohm, Švicarska), kod uvjeta rada: masa uzorka ulja 3,0 g temperatura 120°C, protok zraka 20 L/h. Dobiveni rezultat je izražen kao induksijski period (IP) u satima. Vrijeme indukcije predstavlja vrijeme potrebno da analizirano ulje dostigne vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O<sub>2</sub> /kg. Slika 4. prikazuje Rancimat uređaj.



*Slika 4. Rancimat uređaj*



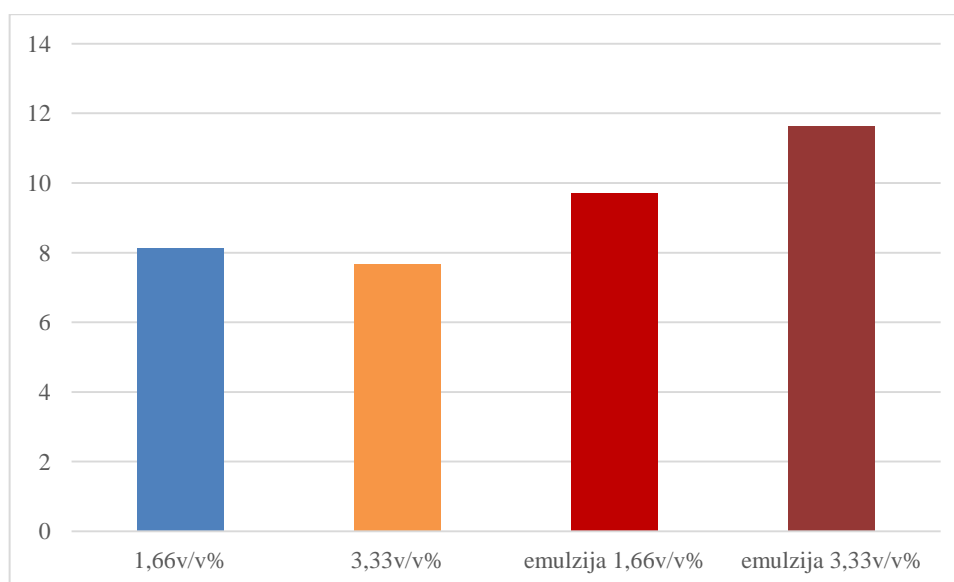


*Slika 5. Shematski prikaz spojene reakcijske i mjerne posude.[21]*

### 3. REZULTATI

*Tablica 2: Rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena. Period indukcije čistog ulja (kontrola) iznosio je 7,29 h.*

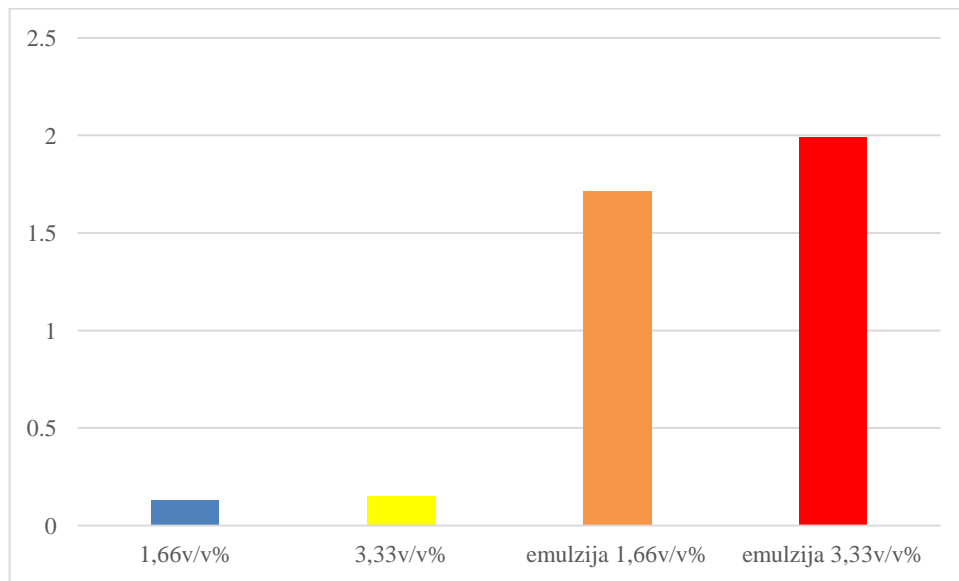
Maslinovo ulje	Koncentracija skvalena (v/v%)	Vrijeme inhibicije (h)
	1,66	8,13
	3,33	7,68
	Emulzija skvalena 1,66	9,70
	Emulzija skvalena 3,33	11,63



*Slika 6.:Prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena*

**Tablica 3:** Rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena. Period indukcije čistog ulja pri korištenim parametrima iznosio je 0,13 h.

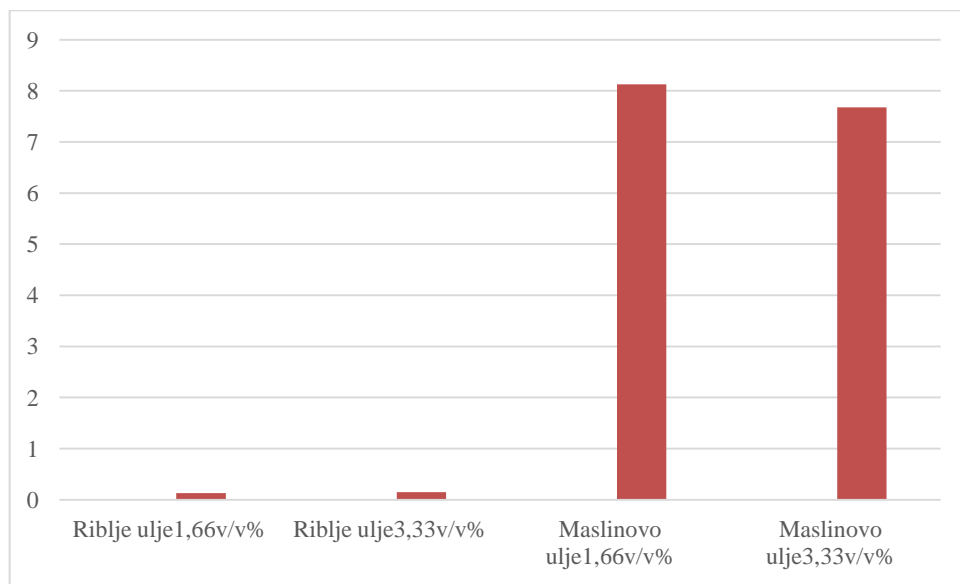
Riblje ulje	Koncentracija skvalena (v/v%)	Vrijeme inhibicije (h)
	1,66	0,13
3,33	0,15	
Emulzija skvalena 1,66	1,72	
Emulzija skvalena 3,33	1,99	



**Slika 7:** Prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena

**Tablica 4:** Usporedni prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog i ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena.

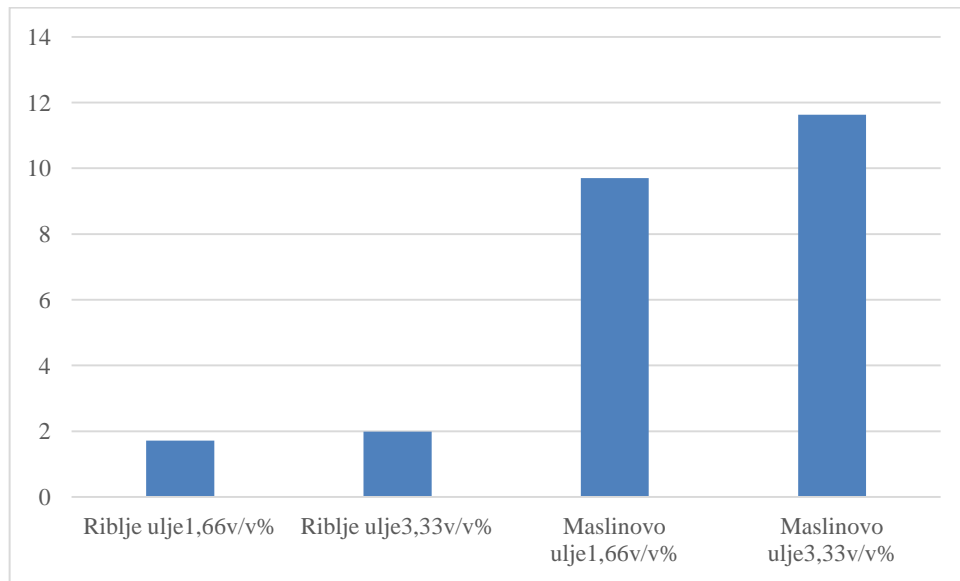
Ulje	Koncentracija skvalena (v/v%)	Vrijeme inhibicije
Maslinovo ulje	1,66	8,13
	3,33	7,68
Riblje ulje	1,66	0,13
	3,33	0,15



**Slika 8:** Usporedni prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog i ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena

**Tablica 5:** Usporedni prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog i ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije emulzije + skvalena. Periodi indukcije iznosili su 7,29 h za maslinovo ulje te 0,13 h za riblje ulje.

Ulje	Koncentracija emulzije skvalena (v/v%)	Vrijeme inhibicije
Maslinovo ulje	1,66	9,77
	3,33	11,63
Riblje ulje	1,66	1,72
	3,33	1,99



**Slika 9:** Usporedni prikaz rezultata određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog i ribljeg ulja nakon dodatka određene koncentracije emulzije + skvalena

## 4. RASPRAVA

Cilj završnog rada je bio odrediti oksidacijsku stabilnost ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ribljeg ulja uz dodatak skvalena te skvalena sadržanog u emulziji pomoću Rancimat metode. Rezultati određivanja oksidacijske stabilnosti maslinovog ulja nakon dodatka određene koncentracije skvalena su pokazali da dodatak skvalena (1,66 i 3,33 vol%) nije utjecao na produljenje oksidacijske stabilnosti ulja.

Dodatak skvalena nije pokazao utjecaj na produljenje oksidacijske stabilnosti niti kod ribljeg ulja čiji je period indukcije pri zadanim parametrima (temperatura od 120°C i protok zraka od 20 L/h) bio ekstremno kratak (0,13 h).

Prema dostupnim literaturnim podacima ovi se rezultati poklapaju s istraživanjem koje su objavili Psomiadou and Tsimidou (1999) [22]. Usprkos tome, cilj rada bio je potvrditi tu hipotezu budući je u dostupnoj literaturi moguće pronaći kontroverze oko utjecaja skvalena na oksidacijsku stabilnost ulja jer se skvalen smatra važnim biološkim spojem iz ulja i očekivalo se da bi on mogao imati značaj utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja koja je iznimno važna upravo zbog načina pohrane ulja [23].

Zanimljivo je da još niti jedno istraživanje nije provedeno na primjeni emulzijskog sustava u kombinaciji sa skvalenom, a u cilju produljenja oksidacijske stabilnosti jestivih ulja. U ovom smo radu pokazali da se primjena emulzijskog sustava voda/ulje u kombinaciji sa skvalenom pokazala učinkovitom jer je produljila oksidacijsku stabilnost i maslinovog i ribljeg ulja u odnosu na kontrolu.

## 5. ZAKLJUČAK

- Dodatak različitih koncentracija skvalena nije pokazao utjecaj na produljenje oksidacijske stabilnosti ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ribljeg ulja
- Parametri korišteni za određivanje oksidacijske stabilnosti ribljeg ulja Rancimat uređajem pokazali su previsokima (temperatura 120 °C i protokzraka 20 L/h)
- Korištenje emulzijskog sustava (voda/ulje) povećao je učinak skvalena na produljenje oksidacijske stabilnosti ekstra djevičanskog maslinovog ulja i ribljeg ulja.

## 6. LITERATURA

1. Žanetić, M., Gugić, M., Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja, *Pomologia Croatica*, 12(2) (2006) 159-173.
2. [https://bs.wikipedia.org/wiki/Maslinovo\\_ulje](https://bs.wikipedia.org/wiki/Maslinovo_ulje) (Pristupljeno 9.10.2017.)
3. Ročak, T., Osnovne kemijske analize kakvoće istarskih maslinovih ulja, *Diplomski rad*, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb (2005).
4. Gugić, M., Biološka vrijednost i kvaliteta ulja masline sorte Oblica u odnosu na područje uzgoja, *Doktorska disertacija*, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, (2010).
5. Bakarić, P. Maslina i maslinovo ulje (A-Ž), , Naklada Zadro, Zagreb (2008).
6. <https://documents.tips/documents/kemijski-sastav-maslinovog-ulja.html> (Pristupljeno 9.10.2017.)
7. [http://slika.nezavisne.rs/2013/06/750x450/20130621161226\\_197350.jpg](http://slika.nezavisne.rs/2013/06/750x450/20130621161226_197350.jpg) (Pristupljeno 10.08.2017.)
8. Standsby, M.E., Hall, A.S. Chemical composition of commercially important fish from USA, *Fisheries Research*, 3 (1967) 29-34.
9. Cvrtila, Ž., Kozačinski, L., Kemijski sastav mesa riba, *Meso*, 8(6) (2006) 365-370.
10. Šimat, V., Maršić-Lučić, J., Bogdanović, T., Dokoza, M., Oksidacija masti u ribi i ribljim proizvodima, *Meso*, 11(6)(2009) 345-351.
11. Dujmušić, I., Zdravstvene prednosti ribljeg ulja, Matrix World, (2013), <https://matrixworldhr.com/2013/11/16/zdravstvene-prednosti-ribljeg-ulja/>
12. <http://ocdn.eu/pulscms-transforms/1/PByktpTURBXy9kMTg3MWUxY2E5NTZmZWewZjRjNzgxNjBhZjFjOTAzNi5qcGeSIQLNaxQAwS0VAs0B1gDCww> (Pristupljeno 9.10.2017.)
13. Bilušić, T., Zdravlje iz maslinovog ulja, Kronomedia, Split (2015).
14. [https://webapps.molecular-networks.com/biopath3/site\\_media/molimages/300oasa/Squalene.png](https://webapps.molecular-networks.com/biopath3/site_media/molimages/300oasa/Squalene.png) (Pristupljeno 6.10.2017.)
15. Žužić, I., Maslina i maslinovo ulje, sa posebnim osvrtom na Istru, Olea, udruga maslinara Istarske županije,(2008).
16. Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M., Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, Tipograf, Rijeka, (1996).



17. <https://www.farmacija.hr/farmacija-savjetuje/clanci/83/masnoce-u-hrani/>  
(Pristupljeno 9.10.2017.)
18. *Gulišić, M.*, Sinteza nanočestica zlata mikroemulzijskom tehnikom, *Završni rad*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb (2015).
19. *Jurkin, T., Gotić, M.*, Uvod u mikroemulzije, *Kemija u industriji*, 62(11-12) (2013) 389-399.
20. *Bradić, M., Ognjanović, N., Bezbradica, D.*, Enzimaska sinteza monoacilglicerola, *Hemija u industriji*, 64(5) (2010) 375–388.
  
21. Rancimat 743 Metrohm. Ion analysis, Metrohm AG, CH-9101 Herisau, Switzerland. Manual. 8.743.8003EN, 03.2009 jb/ars
22. *Psomidaou, E., Tsimidou, M.*, On the role of squalene in olive oil stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1999) 4025-4032.
23. *Preedy, V.R., Watson, R.S.*, *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, Elsevier, (2010).