

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

Marija Topić
0058216282

**Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku
stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte oblica i
levantinka**

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: prof. dr. sc. Dubravka Škevin

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

Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja
iz sorte oblica i levantinka
Marija Topić, 0058216282

Sažetak:

Oksidacijska stabilnost djevičanskog maslinovog ulja vrlo je visoka zahvaljujući njegovom sastavu masnih kiselina i mnogim bioaktivnim komponentama koje djeluju kao izvrsni antioksidansi. Istraživanje novih tehnologija, poput ubrzanog toplinskog tretmana, primjenjuje se kako bi se potencijalno smanjilo vrijeme procesa miješenja i ubrzao proces proizvodnje što bi pozitivno utjecalo na kvalitetu i iskorištenje proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja. Cilj ovog rada bio je istražiti ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz dvije autohtone sorte maslina. Ubrzani toplinski tretman proveo se kao predtretman fazi miješenja samljevenog maslinovog tijesta grijanjem ili hlađenjem kroz šest različitih temperatura. I sorta i proces tretiranja maslinovog tijesta prije faze miješenja imaju značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost. Djevičansko maslinovo ulje iz sorte levantinka pokazalo je bolju održivost nego djevičansko maslinovo ulje iz sorte oblica te je najbolja održivost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte oblica zabilježena pri temperaturi tijesta od 15 °C, a iz sorte levantinka od 30 °C prije miješenja.

Ključne riječi: Djevičansko maslinovo ulje, miješenje, ubrzani toplinski tretman, diferencijalna motridbena kalorimetrija, oksidacijska stabilnost

Rad sadrži: 20 stranica, 5 slika, 2 tablica, 29 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: prof. dr. sc. Dubravka Škevin

Komentor: dr. sc./doc. dr. sc./izv. prof. dr. sc./prof. dr. sc. Ime i prezime

Pomoć pri izradi: izv.prof.dr.sc. Klara Kraljić, Katarina Filipan, mag. ing. techn. aliment.

Datum obrane:

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

Influence of rapid thermal treatment on oxidative stability of virgin olive oil from cultivars

Oblica and Levantinka

Marija Topić, 0058216282

Abstract:

Oxidative stability of virgin olive oil is very high thanks to its fatty acid composition and many active biocomponents which are presented as very good antioxidants. Research of new technologies, like flash thermal treatment, is being applied to potentially reduce malaxation time and accelerate production process which would have a positive impact on quality and the yield production of virgin olive oil. The aim of this study was to determine the influence of flash thermal treatment on oxidative stability of virgin olive oil produced from 2 varieties. Flash thermal treatment was carried out as a pre-treatment to malaxation phase of the milled paste by heating or cooling it through 6 different temperatures. Cultivar and flash thermal treatment of olive paste before malaxation phase both have a significant influence on oxidative stability. Virgin olive oil from Levantinka showed higher stability than virgin olive oil from Oblica and, furthermore, the best oxidative stability of virgin olive oil from Oblica was detected at paste cooled to 15 °C and from Levantinka heated at 30 °C before malaxation.

Keywords: virgin olive oil, malaxation, flash thermal treatment, differential scanning calorimetry oxidative stability

Thesis contains: 20 pages, 5 figures, 2 tables, 29 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: PhD. Dubravka Škevin, Full Professor

Co-mentor:

Technical support and assistance: Klara Kraljić, Associate Professor, Katarina Filipan, mag. ing. techn. aliment.

Thesis defended:

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	2
2.1.1. FAZE PROIZVODNJE I NJIHOV UTJECAJ NA ISKORIŠTENJE.....	2
2.2. HRVATSKO MASLINARSTVO	4
2.2.1. SORTE	4
2.2. OKSIDACIJSKA STABILNOST DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	7
2.2.1. ENDOGENI ENZIMI	8
2.3. NOVE TEHNOLOGIJE	9
2.3.1. UBRZANI TOPLINSKI TRETMAN (UTT)	10
2.4. DIFERENCIJALNA MOTRIDBENA KALORIMETRIJA (DSC).....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	11
3.1. MATERIJALI.....	11
3.2. METODE	11
3.2.1. POSTUPAK LABORATORIJSKE PROIZVODNJE DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA UZ UBRZANI TOPLINSKI TRETMAN	11
3.2.2. ODREĐIVANJE INDUKCIJSKE PERIODE	12
3.2.3. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA	12
4. REZULTATI I RASPRAVA	13
5. ZAKLJUČCI.....	16
6. POPIS LITERATURE	17

1. UVOD

Djevičansko maslinovo ulje je visokokvalitetno ulje duge i bogate tradicije hrvatskog maslinarstva i najrasprostranjenija voćna kultura koja se uzgaja na Mediteranu. Maslinarstvo predstavlja veliki značaj u gospodarstvu, a zainteresiranost za ulaganje u uzgoj i proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja kao i težnja za kvalitetnim djevičanskim maslinovim uljem je u porastu. Za razliku od drugih biljnih ulja, djevičansko maslinovo ulje je posebno jer ne zahtijeva rafinaciju i zadržava svoj intenzivan miris i karakterističnu pikantnost i gorčinu zahvaljujući fenolima i hlapljivim sastojcima te je bogato brojnim antioksidansima zbog čega ima pozitivan utjecaj na zdravlje, visoku nutritivnu vrijednost i odličnu otpornost na oksidaciju. Od fenolnih spojeva masline ističe se skupina sekoiridoida koji su prisutni samo u biljkama iz porodice Oleaceae (jorgovan, jasmin, maslina) (Škevin, 2016). Kako bi se proizvelo ulje visoke kakvoće, bitno je što je moguće bolje odraditi sve procese tijekom prerade. Ključna faza proizvodnje je miješenje maslinovog tijesta tijekom kojeg može doći do smanjenja koncentracije fenola u ulju što utječe na oksidacijsku stabilnost ulja i njegovu kvalitetu pa je praćenje temperature i trajanje procesa miješenja od iznimne važnosti. Na udio hlapljivih i fenolnih komponenti značajan utjecaj imaju i enzimi koje nalazimo u plodu masline te je njihova uloga i optimalna aktivnost tijekom miješenja istraživana u okviru primjene novih tehnologija poput ubrzanog toplinskog tretmana (UTT), pulsirajućeg električnog polja (PEP) i ultrazvuka (UZV).

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja primjenom diferencijalne motridbene kalorimetrije.

2. TEORIJSKI DIO

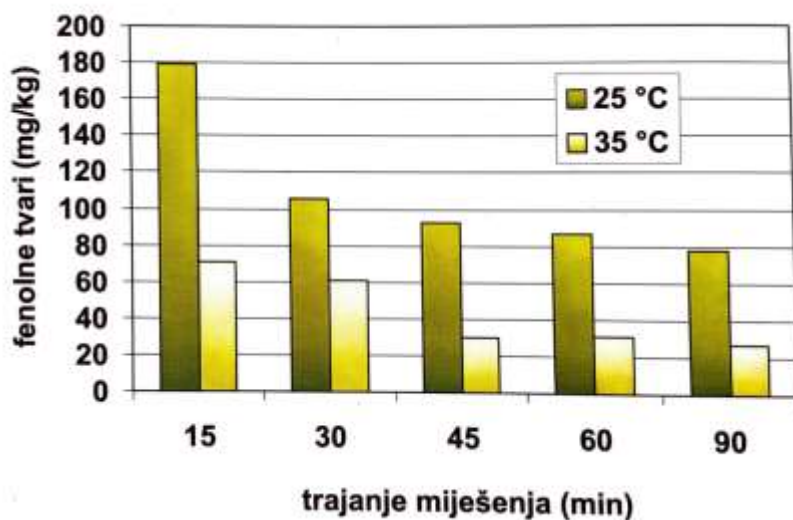
2.1. PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Branjem plodova započinje proces proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja. Postupak berbe i rukovanje plodovima uvelike doprinose kvaliteti i iskorištenju djevičanskog maslinovog ulja, a time utječu i na krajnju cijenu.

2.1.1. FAZE PROIZVODNJE I NJIHOV UTJECAJ NA ISKORIŠTENJE

Proces proizvodnje maslinovog ulja uključuje pranje i čišćenje plodova, mljevenje, miješenje, izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta te odvajanje ulja od vegetabilne vode (Koprivnjak, 2006). Transportom ploda u uljaru započinje prva faza prerade kojoj se plodovi maslina podvrgavaju pranju i čišćenju od nečistoća. Čišćenje se provodi pomoću koša s rešetkom na kojoj zaostaju veće grane, dok se sitnije grančice uklanjaju strujom zraka, a sitnije nečistoće odstranjuju se močenjem plodova i ispiranjem pomoću vode. Sljedeća faza uključuje mljevenje čija je svrha razaranje stanica biljnog tkiva kako bi se omogućilo izdvajanje kapljica ulja s ciljem učinkovitog izdvajanja ulja i dobivanja homogene smjese. Tijekom procesa mljevenja dolazi do pojave brojnih kemijskih i biokemijskih reakcija zbog izravnog doticaja specifičnih tvari s uljem, prisutnih u kožici, sjemenci i pulpi od kojih se izdvajaju klorofili i voskovi (pokožica) te tokoferoli i enzimi (sjemenka). Tijekom faze mljevenja, izvjesno je neželjeno stvaranje emulzija čime se otežava izdvajanje ulja, a važan je i stupanj usitnjenosti koštice jer njeni fragmenti imaju ulogu drenažnog materijala. Za izvedbu mogu se koristiti kameni mlinovi ili metalni mlinovi- s čekićima, diskovima ili konusnim valjcima. Razlika između mlinova očituje se u koncentracijama klorofila i fenolnih tvari, a također ima utjecaj na okus i miris. Također, u djevičanskom maslinovom ulju primjećen je veći udio fenolnih tvari iz maslina samljevenih metalnim mlinom zbog većeg stupnja usitnjenosti (Olive Oil & Beyond, 2022). Obavezna faza procesa proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja nakon mljevenja na metalnim mlinovima je miješenje kojim se postiže razbijanje emulzije kako bi se kapljice ulja uspješno izdvojile u fazi ekstrakcije čime se utječe na krajnje iskorištenje. Za miješenje služe 2-3 korita napravljena od inoksa s metalnim mješačima. Strujanje tople vode vrši se kroz plašt koja je u pravilu 5-6 °C veća od poželjne temperature tijesta i za postizanje visoke kvalitete proizvedenog ulja, temperature ne smije biti viša od 28 °C i trajanje do 60 minuta. Miješenje je vrlo važan postupak jer ono najviše doprinosi svojstvima ulja koja mogu biti pozitivna ili negativna. Za

dobivanje ulja visoke kvalitete, od velike je važnosti praćenje pigmenata, triacilglicerola i masnih kiselina, fenolnih tvari te enzima za vrijeme miješenja. Porastom trajanja miješenja, udjel pigmenata se povećava, osobito klorofila. Iz slike 1. može se vidjeti da niža temperatura miješenja i kraći period procesa najviše pridonose nakupljanju fenolnih tvari u ulju zbog smanjenja oksidacijske degradacije djelovanjem enzima (Koprivnjak, 2006).



Slika 1. Maseni udio fenolnih tvari u ulju ovisno o temperaturi i trajanju miješenja (Koprivnjak, 2006)

Kako bi se ulje izdvojilo iz maslinovog tijesta, primjenjuju se postupci prešanja, kontinuirane centrifugalne ekstrakcije i procjeđivanja. Tradicionalno izdvajanje ulja provodi se postupkom prešanja koji uključuje primjenu otvorenih hidrauličkih preši i sastoji se od punjenja filtrirajućih slojnica maslinovim tijestom i izdvajanja ulja u 3 faze postupnim povećanjem tlaka do maksimalnog iznosa u zadnjoj fazi. Iskorištenje ulja kod prešanja je 85 - 90 % na što utječe i sama priprema maslinovog tijesta. Pažnju treba posvetiti higijenskim mjerama, osobito kod slojnica koje mogu prenijeti nepoželjne mirise i okuse te utjecati na kvalitetu proizvedenog ulja. Kontinuirana centrifugalna ekstrakcija koristi horizontalne separatore, odnosno dekantere gdje se razdvajanje temelji na principu razlike u gustoći ulja, vegetabilne vode i krutih dijelova, a može se provesti u 2 ili 3 faze. Rijetko primjenjen postupak procjeđivanja provodi se na temelju razlike ulja i vode u površinskoj napetosti i svojstvima adhezije, no rizik od oksidacijskog kvarenja i troškovi opreme limitiraju njegovu primjenu. Završna faza procesa

proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja zahtjeva uporabu vertikalnog separatora s ciljem krajnjeg odvajanja djevičanskog maslinovog ulja od vegetabilne vode.

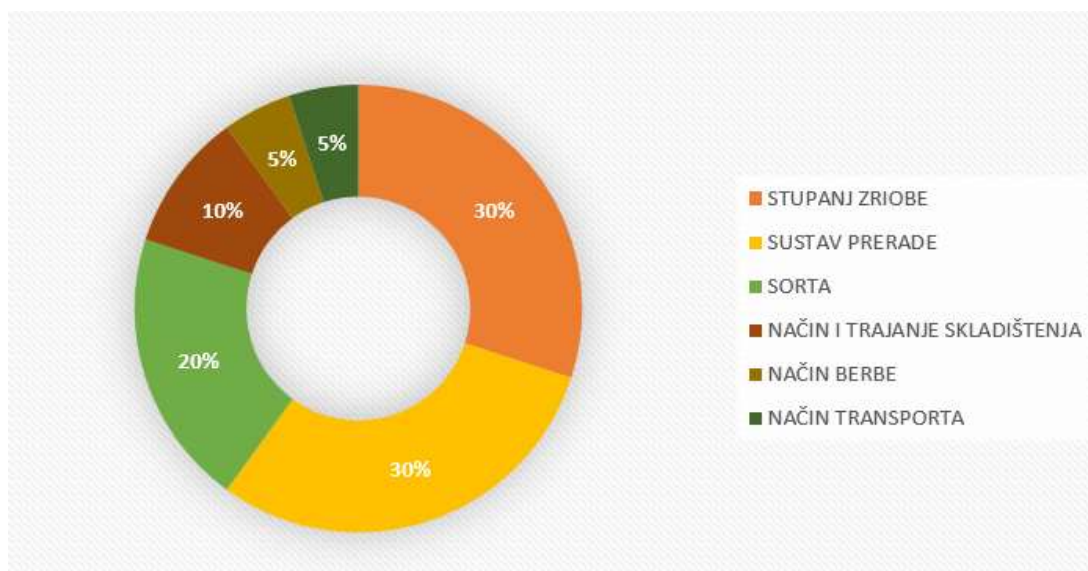
2.2. HRVATSKO MASLINARSTVO

Maslina je jedno od glavnih obilježja Mediterana. Na maslinarskim područjima Republike Hrvatske uzgajaju se razne sorte maslina različitih svojstava, a razlog tomu su povoljni klimatski uvjeti s karakteristikama dugih toplih ljeta te pogodno tlo čime se stvaraju idealni uvjeti za njen uzgoj. Krajem 20.st. kreće obnova i procvat hrvatskog maslinarstva čija kultura seže daleko u povijest u razdoblje od prije 2000 godina i interes za njenim uzgojem i proizvodnjom djevičanskog maslinovog ulja pozitivno raste iz godine u godinu čemu doprinosi i niz mjera i državnih poticaja kojima se podržava uzgoj i revitalizacija maslinovog ulja visoke kakvoće. Prosječna godišnja proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja u Republici Hrvatskoj 1,5 do 5,5 mil. lit. maslinova ulja, a prosječan urod po stablu iznosi 3,1 do 11,6 kg ploda maslina (Šimunović, 2005). Gospodarska i društvena važnost proizvodnje maslinovog ulja u mediteranskom dijelu Hrvatske je sve više prepoznata te njegova kvaliteta ide uzlaznom putanjom s modernizacijom uljara i poboljšanim procesima prerade i skladištenja, a to je potvrđeno i mnogim međunarodnim priznanjima koja hrvatska maslinova ulja postižu. Hrvatska maslinarska regija može se podijeliti u 6 podregija uzgoja: Istra, Dalmacija, Hrvatsko primorje i Kvarnerski otoci, Sjeverna Dalmacija, Srednja Dalmacija, Južna Dalmacija i unutrašnjost Dalmacije (Ozimec i sur., 2015; Ministarstvo poljoprivrede, 2022).

2.2.1. SORTE

Kako bi se dobilo ulje visoke kvalitete, jedan od važnih čimbenika uz sustav prerade i stupanj zriobe je i sorta. Utjecaj čimbenika na kemijski sastav i kvalitetu maslinovog ulja prikazan je na slici 2. Svaka sorta ima svoju genetsku predodređenost. Škarica i sur. (1996) navode kako sorta utječe na brojna svojstva ploda- zriobu, veličinu, odnos mesa ploda i koštice, količinu ulja te glavne i prateće sastojke ulja (količina lipida, odnos oleinske i linolne kiseline, stupanj nezasićenosti i sl.). Također, između sorti možemo prepoznati razlike u sadržaju polifenola i značajnijih sterola, a sastav ulja određuje i različito vrijeme zrelosti plodova zbog čega se razlikuju i u vremenu berbe. Polifenoli su visokovrijedan dio nutritivnog sastava maslinovog ulja i utječu na njegovu senzorsku, ali i kemijsku i prehrambenu kvalitetu. Oni su prirodni

antioksidansi i doprinose stabilnosti ulja s ciljem očuvanja njegove kvalitete i trajnosti.



Slika 2. Značajniji čimbenici koji utječu na kemijski sastav i svojstva kvalitete prirodnih maslinovih ulja (Škarica i sur., 1996)

Najpoznatije hrvatske autohtone sorte maslina su: oblica, drobnica, lastovka, levantinka, plominka, istarska bjelica i buža, a oblica i levantinka se posebno izdvajaju u Dalmaciji. Levantinka je prisutna pretežno na području srednje Dalmacije i nešto u južnoj Dalmaciji, dok se oblica uzgaja u cijeloj Dalmaciji. Stablo levantinke je visoko i vrlo bujno s okruglom krošnjom, a list je velik, širok i dug, po dužini blago uvijen, tamnozeleno boje, dok je naličje bjelkaste boje. Plod je srednje veličine, eliptično izduženog oblica i blago se uvija prema vrhu te je prikazan na slici 3. Masa ploda u prosjeku je 4,5 kg. Plod karakterizira zelena boja početkom zrenja, a zatim prelazi u crvenoljubičastu boju do crne boje na kraju zrenja. Sadržaj ulja u plodu levantinke je oko 20% (Ozimec i sur, 2015; Olea Cult, 2014; Agroportal, 2021).



Slika 3. Levantinka (Ozimec i sur., 2015)

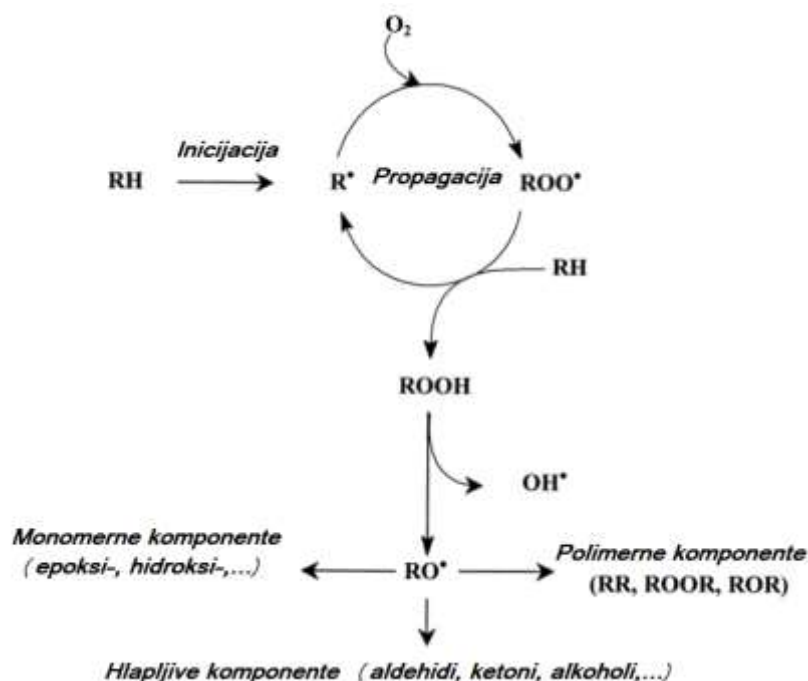
Oblica je naša najbrojnija i gospodarski najvrjednija sorta masline. Krošnja oblice je okruglog oblika i ima srednje bujno stablo, a list je srednje veličine, dug i širok, ima eliptičan oblik s valovitom površinom te sivu prema maslinastu boju lica. Plod oblice je krupan i okruglog oblika te neujednačeno dozrijeva pa na stablu mogu se naći plodovi zelene boje pa sve do potpuno crne boje. Sadržaj ulja u plodu je između 18-21%, nježnog okusa. Njen uzgoj vrlo je uspješan zbog visoke tolerancije na sušu, udare vjetrova i dobre otpornosti na niske temperature (Ozimec i sur., 2015; Olea Cult, 2014; Agroblogohortikultura, 2016; Agroportal, 2021).



Slika 4. Oblica (Ozimec i sur., 2015)

2.2. OKSIDACIJSKA STABILNOST DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Oksidacija je neizbježan proces koji uzrokuje degradaciju kemijskih svojstava i utječe na senzorske karakteristike proizvoda. Djevičansko maslinovo ulje karakterizira visoka otpornost na oksidacijsko kvarenje zbog sastava masnih kiselina s niskim sadržajem višestruko nezasićenih masnih kiselina i fenolnih spojeva koji se uglavnom sastoje od polifenola i tokoferola koje identificiramo kao jake prirodne antioksidanse. Polifenoli su važni za stabilnost djevičanskog maslinovog ulja i nalaze se u većoj količini nego u rafiniranim uljima jer se tijekom procesa rafinacije značajno reduciraju ili u potpunosti uklanjaju. No, neke tvari i pojave mogu ubrzati proces oksidacije i njih nazivamo prooksidansima. Jedan od najznačajnijih prooksidanasa je kisik kojeg je teško eliminirati, no kontakt kisika s uljem može se limitirati pakiranjem ulja u struji inertnog plina poput dušika. Temperatura je također čimbenik koji ubrzava oksidaciju jer se povećanjem temperature ubrzavaju sve reakcije pa je značajan faktor kod procjene oksidacijske stabilnosti. Još neki od značajnijih prooksidanasa su metali (bakar i željezo), svjetlo (fotooksidacija) i endogeni enzimi (peroksidaze). Oksidacija je obično spora u početnoj fazi, nakon čega se brzina oksidacije naglo povećava i to razdoblje u kojoj dolazi do promjene brzine oksidacije zovemo periodom indukcije. Maslinovo ulje ima odličnu oksidacijsku stabilnost jer u njegovom sastavu dominira jednostruko nezasićena oleinska masna kiselina (18:1, ω -9) koja je otpornija na oksidaciju od zasićenih i polinezasićenih masnih kiselina, a sadrži vrlo malo linolenske masne kiseline (18:3, ω -3) koja je vrlo osjetljiva na oksidaciju. Na slici 5. prikazan je pojednostavljen proces autooksidacije gdje se formiraju peroksidi, hidroperoksidi i slobodni radikali masnih kiselina, odnosno primarni produkti oksidacije djelovanjem kisika na nezasićenu vezu nezasićenih masnih kiselina. Oni dalje kataliziraju proces oksidacije iz čega nastaju sekundarni produkti oksidacije: aldehidi, ketoni, alkoholi (Velasco i Dobarganes, 2002) .



Slika 5. Pojednostavljena shema autooksidacije (Velasco i Dobarganes, 2002)

2.2.1. ENDOGENI ENZIMI

Tijekom mljevenja i miješenja odvijaju se brojne promjene koje reguliraju endogeni enzimi ploda masline (Škevin, 2016). DMU ima dobar učinak na zdravlje zbog prisutnih sekoiridoida koji su snažni antioksidansi. β -glukozidaze tijekom procesa mljevenja i malaksacije kataliziraju hidrolizu fenolnih glukozida čime nastaju fenolni aglikoni i posljedično dolazi do povećanja njihove topljivosti u ulju, a peroksidaza katalizira oksidaciju polifenola pomoću peroksida nastalih tijekom lipoksigenaznog puta u radikale visoke reaktivnosti. Nastali produkti utječu na oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina što može dovesti do pogoršanja oksidacijske stabilnosti ulja. Oba enzima djeluju sinergistički tako da polifenoloksidaza uzrokuje degradaciju fenolnih spojeva, a zatim peroksidaza koristi sekoirididne komponente kao supstrate (García-Rodríguez i sur., 2011). Osnovni enzimi lipoksigenaznog puta su lipoksigenaza i hidroperoksid liaza i oni utječu na stvaranje poželjnih tvari arome djevičanskog maslinovog ulja. Lipoksigenazni put počinje tijekom mljevenja i aktivan je tijekom procesa miješenja, kreće oksidacijom višestruko nezasićenih masnih kiselina pomoću enzima lipoksigenaze nakon čega slijedi cijepanje nastalih hidroperoksida masnih kiselina kataliziranih hidroperoksid liazom te se proizvedene hlapljive tvari ugrađuju se u uljnu fazu

kako bi mu pružila karakterističnu aromu (Salas i Sanchez, 1999). Bitno je spomenuti i djelovanje endogenih enzima poput pektolitičkih i hemicelulolitičkih enzima koji se nalaze u plodu masline i poboljšavaju izdvajanje ulja i drugih tvari iz stanice razgradnjom stanične stijenke i ovojnice vakuola. Esteraze složene fenolne tvari razgrađuju na jednostavnije tijekom procesa miješenja poput fenolnih kiselina i alkohola.

2.3. NOVE TEHNOLOGIJE

Danas se provode mnoga znanstvena istraživanja u svrhu poboljšanja proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja i prepreka s kojima se suočava tijekom procesa. Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja se u zadnjih 20 godina vrlo malo promijenila (Clodoveo, 2013). Operacije koje direktno utječu na kvalitetu gotovog proizvoda poput ekstrakcije, temperature i trajanja miješenja i kontakta maslinovog tijesta sa zrakom mijenjaju fenolni sastav i sama senzorska svojstva zbog čega je potrebno modernizirati proces kako bi se povećala efikasnost proizvodnje. Miješenje je ključna faza koja značajno utječe na iskorištenje i nutritivna svojstva djevičanskog maslinovog ulja. Suvremena proizvodnja suočava se sa problemima od kojih je najveći slabo iskorištenje djevičanskog maslinovog ulja. Također, polifenoli u velikoj količini zaostaju u vegetabilnoj vodi zbog čega je bitna optimalna aktivnost endogenih enzima ploda masline koja se može postići tijekom mljevenja i miješenja. U suprotnom doći će do smanjene kvalitete djevičanskog maslinovog ulja i njegove nutritivne vrijednosti. Zato se u novije vrijeme istražuju nove tehnologije poput ultrazvuka (UZV), pulsirajućeg električnog polja (PEP) te ubrzanog toplinskog tretmana (UTT) kao predtretmana miješenju maslinovog tijesta s ciljem rješavanja tih problema. PEP tretman uključuje primjenu kratkih impulsa visokog napona kako bi se poremetile biološke stanice u sadržaju hrane. Nepovratna perforacija stanične membrane smanjuje njezin učinak barijere i, primijenjeno na voće i biljne stanice, procesi prijenosa mase poput prešanja ili ekstrakcije su učinkovitiji (Jaeger i sur., 2009). UZV je oblik energije koju generiraju zvučni valovi frekvencija iznad 16 kHz. Dva glavna mehanizma UZV-a mogla bi biti korisna za optimizaciju procesa ekstrakcije djevičanskog maslinovog ulja: mehanički i toplinski učinci. Mehaničko djelovanje je zbog pojava kavitacije koji remete biološke stanične stijenke. Grijanje nastaje kada se ultrazvučna energija apsorbira u mediju (Clodoveo, 2013). Primjena ultrazvuka može skratiti proces miješenja i time utjecati na aktivnost endogenih enzima i povećati iskorištenje proizvodnje.

2.3.1. UBRZANI TOPLINSKI TRETMAN (UTT)

Tradicionalni postupak malaksacije istovremeno obavlja miješanje tijesta i termičko kondicioniranje u isto vrijeme, a iskorištenje je relativno nisko i termičko kondicioniranje maslinovog tijesta je relativno dugo u usporedbi s optimalnom temperaturom obrade. Ovaj aspekt utječe na aktivnost endogenih enzima npr. polifenoloksidaza, peroksidaza i lipoksigenaza koji utječu na fenolni i hlapljivi sastav djevičanskog maslinovog ulja. Ubrzani toplinski tretman primijenjen na maslinovo tijesto kao predtretman miješenju je novi pristup procesu ekstrakcije ulja. Zagrijavanje tijesta nakon mljevenja može smanjiti vrijeme malaksacije što je iznimno važno i uvelike utječe na radni kapacitet postrojenja, iskorištenje i kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja (Esposto i sur., 2013).

2.4. DIFERENCIJALNA MOTRIDBENA KALORIMETRIJA (DSC)

Oksidacija može promijeniti okus i nutritivnu vrijednost maslinovog ulja zbog gubitka korisnih tvari i stvaranja novih toksičnih spojeva uključujući oksidirane masne kiseline, sterole ili polimera, koji mogu imati negativan utjecaj na čovjekovo zdravlje i smanjiti kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja. U tom smislu, diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC) je tehnika koja se temelji na mjerenju promjena energije koje se događaju tijekom zagrijavanja ili hlađenja uzorka ili kada se drži izotermno, kao i na određivanju temperature na kojoj se te promjene događaju (Malvis i sur., 2019.). Kalorimetrija je osnovna metoda za određivanje toplinskih svojstava materijala zbog postizanja povezanosti između temperature i fizikalnih svojstava tvari te je jedina metoda za direktno određivanje promjene entalpije kod određenog procesa. DSC je instrument za termičku analizu koji tijekom promjene temperature mjeri količinu topline koju zrači ili apsorbira uzorak na principu razlike u temperaturi između analiziranog uzorka i referentnog referentnog uzorka, a energija se uvodi u ispitivani i referentni uzorak istovremeno (Gill i sur., 2010). Upotreba diferencijalne motridbene kalorimetrije dovela je do novih tehnika za provjeru autentičnosti, karakterizaciju i otkrivanje patvorenja ulja i masti. DSC se može koristiti kao brza i učinkovita metoda za procjenu oksidativne stabilnosti, predviđanje roka trajanja ulja i masti i određivanje kvalitete jestivih ulja tijekom procesa rafinacije. DSC metoda je brza, potrebna je mala količina uzorka i nisu potrebne kemikalije ili

otapala u usporedbi s drugim konvencionalnim i modernim metodama (Almoselhy, 2020).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

U ovom radu cilj je istražiti utjecaj sorte i ubrzanog toplinskog tretmana (UTT) na oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja stoga su u kao materijal korišteni uzorci djevičanskog maslinovog ulja dviju autohtonih dalmatinskih sorti - oblice i levantinke proizvedeni iz maslina čije je tijesto odmah nakon mljevenja a prije faze miješenja brzo ohlađeno ili zagrijano na temperature od 15-40 °C. Također je oksidacijska stabilnost ulja određena i u konvencionalnim uzorcima djevičanskih maslinovih ulja proizvedenih iz istih maslina industrijskom preradom. Svi su uzorci do analize čuvani pod dušikom (nadprostor iznad ulja u bocama ispunjen je dušikom) u bocama od tamnog stakla pri temperaturi od 15 do 20 °C:

3.2. METODE

3.2.1. Postupak laboratorijske proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja uz ubrzani toplinski tretman

Oprani plodovi maslina od kojih su uklonjene nečistoće samljeveni su pomoću mlina čekćara na laboratorijskoj pilot - uljari Abencor (MC2 Ingeniería y Sistemas S.L., Sevilla, Španjolska). Maslinovo tijesto se odmah nakon mljevenja podvrgava ubrzanom toplinskom tretmanu pri 6 različitih temperatura- 15, 20, 25, 30, 35 i 40 °C. Hlađenje na temperature od 15 i 20 °C se provodi u uređaju za ubrzano hlađenje (Blast chiller TECNODOM ATT05 ATTILA ABB) koji hladi na -18 °C. Maslinovo tijesto (oko 800 g) nanosi se na pladnjeve od inoks materijala debljine sloja 1-1,5 cm i temperatura se regulira pomoću ubodnog termometra (Quartz). Vrsta odvođenja topline je konvekcija. Grijanje maslinovog tijesta vrši se pomoću temostatirane vodene kupelji (GRANT, SUB Aqua Pro, model: SAP12) na temperature od 25, 30, 35 i 40 °C. Maslinovo tijesto prebaci se u plastične posudice i poklopi aluminijskom folijom radi ravnomjerne raspodjele topline. U ovoj fazi, toplina se prenosi pomoću kondukcije jer je voda zagrijana na 50 °C za temperaturu tijesta 25 -35 °C, odnosno na 52 °C za temperaturu tijesta

40 °C. I u slučaju grijanja i hlađenja maslinovog tijesta, željena temperatura u prosijeku se treba dostići za 1 do 3 minute, ne više od 10 minuta.

Tretirano maslinovo tijesto zatim se podvrgava miješenju i centrifugiranju na laboratorijskoj pilot- uljari Abencor. Miješenje se provodi tijekom 40 minuta na temperaturi od 27 °C. Zatim slijedi centrifugiranje gdje se izdvaja ulje pri 3500 o/min tijekom 90 sekundi. Izdvojeno ulje se bistri dodatnim centrifugiranjem na centrifugi Hettich Universal 320R (Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Njemačka) na 5000 o/min kroz 4 minuta pri 18 °C.

3.2.2. Određivanje induksijske periode

U aluminijskoj posudici za DSC odvaži se 4 mg \pm 0,5 mg uzorka ulja. Zatim se posudica poklopi i zatvori pripadajućim čepom te se na poklopcu probuši rupica. Posudica s uzorkom postavi se u uređaj za diferencijalnu motridbenu kalorimetriju (DSC 214 Polyma, Netzsch, Selb, Njemačka). Za mjerenje se uz uzorak koristi i referentni uzorak koji se sastoji od prazne aluminijske posudice. Uzorak se zagrijava pod strujom dušika (40 mL/min) brzinom od 20 °C/min od 25 °C do 140 °C. Zatim se temperatura zadržava na 140 °C tijekom 5 minuta pod strujom dušika radi stabilizacije sustava, a oksidacija i mjerenje induksijske periode pri 140°C počinje kada se na instrument uključi kisik protokom od 100 mL/min u trajanju do 4 sata ovisno o izgledu krivulje. Kroz cijelo vrijeme analize, na instrumentu struju zaštitni plin koji je u ovom slučaju dušik protokom od 60 mL/min.

Dobiveni rezultati se obrađuju u programu NETZSCH Proteus Analysis 8.0.1. Svaka krivulja promjene entalpije su ovisnosti o vremenu se najprije programski „zagladi“ do vrijednosti 10 i potom se odredi period indukcije.

3.2.3. Statistička obrada rezultata

Radi utvrđivanja utjecaja sorte i načina proizvodnje na oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja , rezultati se statistički obrađuju korištenjem analize varijance 2-way ANOVA s 95 %-tnom vjerojatnošću ($p \leq 0,05$) napravljenom u programu Excel.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Inovacije u procesu proizvodnje, poput ubrzanog toplinskog tretmana imaju velik potencijal u poboljšaju iskorištenja proizvodnje i povećanju kvalitete djevičanskog maslinovog ulja. Njihova potencijalna uloga je skraćivanje trajanja miješenja i posljedično ubrzanje procesa proizvodnje čime se postiže kontinuiranost, a dobiveno ulje bogatije je poželjnim komponentama koji imaju blagotvorno djelovanje na organizam, a takvo ulje je visoke kakvoće i poželjnije od strane potrošača. Ubrzani toplinski tretman (UTT) kao predtretman fazi miješenja može dovesti do aktivacije ili inaktivacije enzima koji sudjeluju u obogaćivanju DMU antioksidansima iz ploda i stvaranju poželjne arome djevičanskog maslinovog ulja. Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj UTT primijenjenog na samljevenom tijestu maslina iz sorti oblica i levantinka prije postupka miješenja određivanjem oksidacijske stabilnosti ulja DSC metodom.

U tablici 1. i 2. prikazani su rezultati određivanja perioda indukcije primjenom metode DSC.

Tablica 1. Period indukcije sorte oblica uz ubrzani toplinski tretman

Temperatura predtretmana (°C)	PERIOD INDUKCIJE (min)*
KONTROLA	122,3± 5,5
15	118,5± 5,2
20	117,0± 1,9
25	103,0± 9,2
30	94,6± 1,93
35	88,5± 0,66
40	90,2± 5,4

*- interakcija sorte i načina proizvodnje imaju značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

Tablica 2. Period indukcije sorte levantinka uz ubrzani toplinski tretman

Temperatura predtretmana (°C)	PERIOD INDUKCIJE (min)*
KONTROLA	167,5± 11,2
15	149,3± 3,9
20	156,3± 10,0
25	154,7± 9,0
30	169,7± 26,8
35	145,3± 4,6
40	157,4± 7,4

*- interakcija sorte i načina proizvodnje imaju značajan utjecaj ($p \leq 0,05$)

Rezultati iz tablice 1 prikazali su da je primjena UTT tijesta masline prije miješenja, smanjila oksidacijsku stabilnost DMU iz sorte oblica. Ulje iz tijesta maslina ohlađena na 15 °C prije miješenja imalo je također dobru stabilnost, no ona je povišenjem temperature primijenjene u ubrzanom toplinskom tretmanu, imala trend opadanja.

Rezultati iz tablice 2 prikazali su da je DMU proizvedeno iz plodova levantinke čije je tijesto prije miješenja zagrijano na 30 °C, imalo najbolju oksidacijsku stabilnost. Ulje iz ove sorte nije slijedilo trend koji je pokazalo DMU iz oblice.

Uspoređujući ulja iz dvije dalmatinske sorte maslina vidi se da je bolju oksidacijsku stabilnost imalo je DMU iz plodova levantinke (167,5 min), dok je ulje iz oblice imalo perod indukcije 122,3 min.

Statistička obrada rezultata ovoga rada pokazala je da i sorta i način proizvodnje imaju interakciju i statistički značaj, odnosno značajan utjecaj na indukcijsku periodu.

Dobiveni rezultati mogu se povezati s povećanjem i smanjenjem aktivnosti endogenih enzima ploda masline do kojih je došlo tijekom procesa proizvodnje ulja. S obzirom na to da je njihov udjel i raspored u stanicama ploda masline definiran genetskim karakteristikama biljke, znači sorte, i za očekivati je da DMU iz oblice i levantinke različito reagiraju na primjenu UTT.

Konkretnih podataka o aktivnosti pojedinih endogenih enzima iz hrvatskih sorti maslina u opisanim uvjetima proizvodnje za sada nema, no to je jedan od ciljeva projekta u okviru kojeg je izrađen i ovaj rad.

Oksidacijska stabilnost svakog ulja, pa i DMU, ovisi o brojnim faktorima. Uz već spomenute utjecaje procesa proizvodnje ulja, valja spomenuti i utjecaj uzgoja sirovine te utjecaj skladištenja ulja. Svi ti faktori utječu na kemijski sastav ulja, na njegovu gliceridnu i negliceridnu frakciju.

Domaći autori istraživali su brojne utjecaje na svojstva DMU iz dalmatinskih sorti maslina, pa tako i oblice i levantinke.

Šarolić i sur. (2015) pokazali su da DMU iz sorte levantinka ima najveći udio α -tokoferola (222.00 mg/kg) u odnosu na sorte oblica i lastovka. Tokoferoli se smatraju jednim od najvažnijih antioksidanasa te njihovo prisustvo u DMU povećava oksidacijsku stabilnost tijekom skladištenja DMU. Žanetić i sur. (2021) objavili su da ulje iz levantinke ima viši omjer oleinske i linolne masne kiseline od ulja iz oblice što sugerira da levantinka ima veću stabilnost. Naime, omjer mononezasićenih/polinezasićenih masnih kiseline je jedan od ključnih faktora kod procjene oksidacijske stabilnosti DMU te njegov viši udio pokazuje veću održivost DMU, odnosno dulji vijek trajanja ulja. Žanetić i Perica (2010) istraživali su kemijski sastav dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja od autohtonih sorti maslina oblica, lastovka i levantinka. DMU iz sorte levantinka ponovno je pokazalo bolji omjer oleinske/linolne masne kiseline u odnosu na DMU iz sorti oblica i lastovka. Također, razina polinezasićenih masnih kiselina zabilježena je u većim vrijednostima kod sorti oblica i lastovka, dok je kod sorte levantinka ta vrijednost nešto niža te iz tih različitih parametara možemo zaključiti da različite sorte imaju i različitu oksidacijsku stabilnost.

5. ZAKLJUČCI

1. Djevičansko maslinovo ulje iz sorte levantinka ima bolju oksidacijsku stabilnost od DMU iz sorte oblica.
2. DMU iz oblice proizvedeno uz ubrzani toplinski tretman imalo je nešto niži period indukcije u odnosu na DMU proizvedeno bez UTT. Od 6 primijenjenih temperatura, najbolji učinak na oksidacijsku stabilnost ulja imalo je hlađenje maslinovog tijesta na 15 °C prije miješenja.
3. DMU iz levantinke je primjenom ubrzanog toplinskog tretmana tijesta pri 30 °C imalo malo bolju oksidacijsku stabilnost u odnosu na DMU proizvedeno bez UTT.
4. Obrada rezultata pokazala je statistički značajan utjecaj i sorte i temperature pri kojoj je tijesto tretirano prije miješanja.

6. POPIS LITERATURE

Agrobloghortikultura (2016) Oblica
<https://agrobloghortikultura.wordpress.com/2016/04/01/oblica/> pristupljeno 19. lipnja 2022.

Agroportal.hr (2021) Sorte maslina. <https://www.agroportal.hr/maslinarstvo/1924> pristupljeno 18. lipnja 2022.

Almoselhy RIM (2020) Applications of Differential Scanning Calorimetry (DSC) in Oils and Fats Research. A Review. *ARJA* **6** (1),1-9

Bendini A, Cerretani L, Carrasco-Pancorbo A, Gómez-Caravaca AM, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Lercker G (2007) Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade, *Mol* **12**, 1679-1719.

Clodoveo ML (2013) New advances in the development of innovative virgin olive oil extraction plants: Looking back to see the future, *Food Res Int* **54**, 726–729

Clodoveo ML (2013) An overview of emerging techniques in virgin olive oil extraction process: Strategies in the development of innovative plants, *J Agr Eng* **44** (1), 298- 303

Esposito S, Veneziani G, Taticchi A, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I, Sordini B, Minnocci A, Sebastiani L, Servili M (2013) Flash Thermal Conditioning of Olive Pastes during the Olive Oil Mechanical Extraction Process: Impact on the Structural Modifications of Pastes and Oil Quality, *J. Agric. Food Chem* **61**, 4953–4960

García-Rodríguez R, Romero-Segura C, Sanz C, Sánchez-Ortiz A, Pérez A (2011) Role of polyphenol oxidase and peroxidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil, *Food Res Int* **44**(2), 629-635

Gill P, Moghadam TT, Ranjbar B (2010) Differential scanning calorimetry techniques: Applications in biology and nanoscience. *J Biom* **21**, 167 - 193.

Gugić J, Tratnik M, Strikić F, Gugić M, Kursan P (2010) Pregled stanja i perspektiva razvoja hrvatskoga maslinarstva. *Pomol Croat* **16 (3-4)**, 122-128

Jaeger H, Balasa A, Knorr D (2009) Food industry applications for pulsed electric fields. In *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials*, Springer New York, str. 181-216.

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, MIH, Poreč, str. 59-63, 77-110.

Malvis A, Šimon P, Dubaj T, Sládková A, Ház A., Jablonský M, Sekretár S, Schmidt Š, Kreps F, Burčová Z, Hodaifa G, Šurina I (2019) Determination of the thermal oxidation stability and the kinetic parameters of commercial extra virgin olive oils from different varieties. *J Chem*, 1 - 8.

Mandić M, Sliva P, Krković J, Rajević J, Pierobon A, Serdar S, Bošnjir, J (2020) Research on the Impact of Temperature on Change in Olive Oil Quality. *J Appl Health Sci* **6(2)**, 249 - 259.

Mesić Ž, Lončar H, Dolić Z, Tomić M, Analiza svjetskog i hrvatskog tržišta maslinovog ulja (2015) *Agronomski glasnik* **4-6**, ISSN 0002-1954, 227-230, 237-238

Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske (2022) Maslinarstvo. (<https://poljoprivreda.gov.hr/maslinarstvo/194> pristupljeno 24. lipnja 2022.

Olea Cult (2014) Hrvatske maslinarske sorte. <http://www.oleacult.com/hr/footer/hrvatske-maslinarske-sorte-2> pristupljeno 22. lipnja 2022.

Olive Oil & Beyond (2022) The Art of Olive Oil Production <https://www.oliveoilandbeyond.com/Producing-Fine-Extra-Virgin-Olive-Oil-s/1857.htm> pristupljeno 22. pristupljeno 17. lipnja 2022.

Ozimec R, Karoglan Kontić J, Maletić E, Matotan Z, Strikić F (2015) Tradicijske sorte i pasmine Dalmacije, Zagreb, str. 20-23, 112-120

Saldaña MDA i Martínez-Monteağudo SI (2013) Oxidative Stability of Fats and Oils Measured by Differential Scanning Calorimetry for Food and Industrial Applications, Applications of Calorimetry in a Wide Context - Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry, str. 446-452

Salas, JJ i Sánchez J (1999) The decrease of virgin oil flavour produced by high malaxation temperature is due to inactivation of hydroperoxides lyase. *J Agr Food Chem*, **47 (3)** 809-812

Šarolić M, Gugić M, Friganović E, Tuberoso CIG, Igor Jerković I (2015) Phytochemicals and Other Characteristics of Croatian Monovarietal Extra Virgin Olive Oils from Oblica, Lastovka and Levantinka Varieties, ISSN 1420-3049

Šimunović V (2005) Stanje maslinarstva i uljarstva u Republici Hrvatskoj, *Pomol Croat*, **11(1-2)**, 69- 75

Škarica B, Žužić I, Bonifačić M (1996) Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, 1.izd., Punat, str. 77-81, 95-98

Škevin D (2016) Kemija i tehnologija ulja i masti (interna skripta), Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 14-19, 24-43

Škevin D (2016) Proces prerade maslina i kontrola kvalitete proizvoda (interna skripta), Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 19-32, 36-53

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

Žanetić M i Perica S (2010) Chemical composition of Dalmatian virgin olive oils from autochthonous olive cultivars Oblica, Lastovka and Levantinka, *RISG*, **87(1)**, 24-33

Žanetić M, Jukić Špika M, Mirjana Ožić MM, Brkić Bubola K (2021) Comparative Study of Volatile Compounds and Sensory Characteristics of Dalmatian Monovarietal Virgin Olive Oils,

Plants, **10**, <https://doi.org/10.3390/plants10101995>

Izjava o izvornosti

Ja _____ Marija Topić _____ 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.

Vlastoručni potpis