

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

**Lucija Karamarko**

0058217183

**UTJECAJ ULTRAZVUKA NA OKSIDACIJSKU  
STABILNOST DJEVIČANSKOG MASLINOVOG 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:** prof. dr. sc. Dubravka Škevin

**Zagreb, 2023.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj ultrazvuka na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja  
Lucija Karamarko, 0058217183

## Sažetak:

Inovativne tehnologije, u koje spada ultrazvuk (UZV), imaju potencijal rješavanja problema proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja (DMU), kao što su gubici polifenola u vegetabilnoj vodi i komini te relativno nisko iskorištenje procesa. Prije eventualne primjene, potrebno je odrediti utjecaj UZV na svojstva DMU i to prvenstveno na njegovu oksidacijsku stabilnost. Stoga je cilj ovoga rada bio metodom diferencijalne motridbene kalorimetrije (DSC) odrediti indukcijske periode DMU proizvedenih konvencionalnom tehnologijom te uz primjenu UZV kao predtretman miješenju. Ispitivala su se DMU proizvedena iz 4 hrvatske autohtone sorte: istarska bjelica, rosulja, oblica i levantinka. Dobiveno je da sorta ima najveći utjecaj na oksidacijsku stabilnost, a unutar sorte vrijeme i snaga tretmana pokazuju značajan utjecaj.

**Ključne riječi:** djevičansko maslinovo ulje, oksidacijska stabilnost, ultrazvuk, diferencijalna motridbena kalorimetrija

**Rad sadrži:** 21 stranica, 10 slika, 2 tablice, 21 literaturnih navoda, 0 priloga

**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

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

**Datum obrane:** rujan 2023.

## 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

Effect of ultrasound on oxidative stability of virgin olive oil

Lucija Karamarko, 0058217183

**Abstract:** Innovative technologies, such as ultrasound, have the potential to solve problems in the production of virgin olive oil (VOO) like losses of polyphenols in vegetative water and pomace and relatively low process utilization. Before possible application, it is necessary to determine the effect of ultrasound on the properties of VOO, primarily on its oxidation stability. Therefore, the aim of this work was to determine the induction periods of VOO produced by conventional technology and with the application of ultrasound as a pre-treatment to the malaxation process using the method of differential scanning calorimetry (DSC). VOO obtained from 4 Croatian autochthonous varieties were tested: Istarska Bjelica, Rosulja, Oblica and Levantinka. It was found that the variety has the greatest influence on the oxidation stability, and within the variety, the time and strength of the treatment show a significant influence.

**Keywords:** virgin olive oil, oxidative stability, ultrasound, differential scanning calorimetry

**Thesis contains:** 21 pages, 10 figures, 2 tables, 21 references, 0 supplements

**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:** Dubravka Škevin, PhD, Full professor

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

**Thesis defended:** September, 2023

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. MASLINA.....	2
2.2. PROIZVODNJA MASLINOVOG ULJA.....	3
2.3. SASTAV MASLINOVOG ULJA.....	9
2.4. ULTRAZVUK.....	10
2.5. DIFERENCIJALNA MOTRIDBENA (SKENIRAJUĆA) KALORIMetriJA (DSC).....	11
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>13</b>
3.1. MATERIJALI .....	13
3.2. METODE.....	13
3.2.1. PROIZVODNJA DMU .....	13
3.2.2. ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI DMU .....	14
3.2.3. STATISTIČKA OBRADA.....	15
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>16</b>
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>18</b>
<b>6. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>19</b>

## 1. UVOD

Djevičanska maslinova ulja definiraju se kao „ulja dobivena od ploda masline isključivo mehaničkim ili drugim fizikalnim postupcima pod uvjetima koji ne dovode do promjena sastojaka ulja, koja nisu drugačije obrađena osim pranjem, dekantacijom, centrifugiranjem ili filtriranjem, isključujući ulja dobivena upotrebom otapala ili dodavanjem pomoćnih sredstava kemijskog ili biokemijskog djelovanja ili ulja dobivena reesterifikacijom i miješanjem s uljima drugih vrsta“ (Uredba (EU) br. 1308/2013). Zbog svog sastava, djevičansko maslinovo ulje (DMU) jedno je od najstabilnijih ulja, točnije zbog sastava masnih kiselina u kojem je visok udjel jednostruko nezasićene oleinske masne kiseline, koja je manje podložna oksidaciji od višestrukih te vrlo mali udio linolenske masne kiseline, koja pokazuje najveću osjetljivost pri povišenim temperaturama (Škevin, 2016b). Negliceridna frakcija lipida čini oko 2 % sastava masline, a u nju spadaju tvari kao što su vitamini topljivi u uljima, polifenoli, pigmenti, fitosteroli, skvalen i terpeniski alkoholi. Fenolni spojevi imaju najveći doprinos ukupnoj oksidacijskoj stabilnosti DMU, jer su to prirodni antioksidansi koji inaktiviraju slobodne radikale (Škevin, 2016b).

Proizvodnja DMU sa sobom nosi neke probleme kao što su gubici polifenola u vegetabilnoj vodi i komini te relativno nisko iskorištenje procesa. Kao potencijalna rješenja za te probleme nude se inovativne tehnologije, a jedna od njih je ultrazvuk, no potrebno je istražiti kakav utjecaj tretman ultrazvukom ima na tako proizvedeno ulje. U ovom istraživanju korišteni su uzorci DMU proizvedeni iz 4 hrvatske autohtone sorte (istarska bjelica, rosulja, oblica i levantinka) konvencionalnim metodama te DMU proizvedena iz istih sorti, ali uz korištenje ultrazvuka kao predtretman miješenja. Određivana je oksidacijska stabilnost, tj. indukcijska perioda svakog uzorka pomoću diferencijalne motridbene kalorimetrije (DSC). Cilj je utvrditi kakav utjecaj ultrazvučni tretman ima na oksidacijsku stabilnost ulja, točnije kakav utjecaj imaju sorta te vrijeme i snaga tretmana na oksidacijsku stabilnost.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Maslina

Maslina je zimzelena biljka koja u našim prostorima naraste do visine od 8 do 10 m, a na položajima gdje je zaklonjena od vjetra može narasti i više. Raste samo u umjereno toplim krajevima gdje temperatura rijetko pada ispod 0 °C. Iako podnosi temperature i do -10 °C, takve temperature ne smiju biti dugotrajne jer će ozepti grane i deblo (Kantoci, 2006). Ovisno o sorti, plod je bobica okruglog ili eliptičnog oblika različite veličine. Meso ploda odnosi većinski udio mase (65-80 %), a ostatak mase pripada koštici. Udio ulja u plodu varira ovisno o sorti, a može se kretati između 10 i 28 %. Boja nezrelog ploda je zelena, a zrenjem prelazi u žućkastu, zatim crvenkastu, tamno crvenu te naposljetku plavo-crnu ili crnu što se može vidjeti na slici 1 gdje je prikazan izgled ploda sorte oblica. Sorte maslina mogu se podijeliti s obzirom na namjenu (na uljne, stolne i mješovite sorte) i s obzirom na područje uzgoja (Istra, Kvarner i Podveleblje, Sjeverna Dalmacija, Srednja Dalmacija, Južna Dalmacija), a za ovo istraživanje korištena su ulja dobivena iz 4 hrvatske autohtone sorte: 2 dalmatinske (levantinka i oblica) i 2 istarske (istarska bjelica i rosulja) (Škevin, 2016b).



**Slika 1.** Oblica (Škevin, 2016b)

## 2.2. Proizvodnja maslinovog ulja

Proizvodnja maslinovog ulja započinje određivanjem optimalne zrelosti ploda kako bi se odredio pravi trenutak za berbu. Optimalna zrelost predstavlja najbolji omjer količine i kvalitete ulja kojeg je moguće dobiti iz ploda. Zrenjem se u plodu događaju razne promjene kao što su: promjena boje, povećanje udjela antocijana, smanjenje udjela klorofila i polifenola (čija je uloga usporavanje oksidacijskih procesa, a fenoli imaju utjecaj i na okus i aromu ulja), smanjuju se steroli i karoteni (također sudjeluju u usporavanju oksidacijskih procesa), smanjuju se alifatski, a povećavaju triterpenski alkoholi. S obzirom na to, moguće je zaključiti da će se berbom ploda prije optimalne zrelosti proizvesti ulje bolje kvalitete, ali iskorištenje proizvodnje će biti slabije. Berbom ploda nakon optimalne zrelosti proizvest će se ulje slabije kvalitete, ali iskorištenje će biti bolje. Optimalna zrelost različita je za svaku sortu, a preporuka je da berba počinje kada je trećina plodova crne, a dvije trećine zelene boje (Škevin, 2016b). Berba se u našim krajevima provodi ručno, uglavnom zbog konfiguracije terena koja onemogućuje prilaz strojevima. Koristi se odgovarajući alat kao što su češljevi (slika 2.) i nazubljene škare kako bi se proces berbe ubrzao. U zemljama gdje je proizvodnja maslinovog ulja uvelike razvijenija (npr. Španjolska), za berbu se koriste posebni strojevi tj. tresaći. Berba plodova koji su spontano pali na tlo ne preporučuje se jer je u takvim plodovima došlo do promjena koje bi imale negativne posljedice na kvalitetu ulja (Škevin, 2016b).

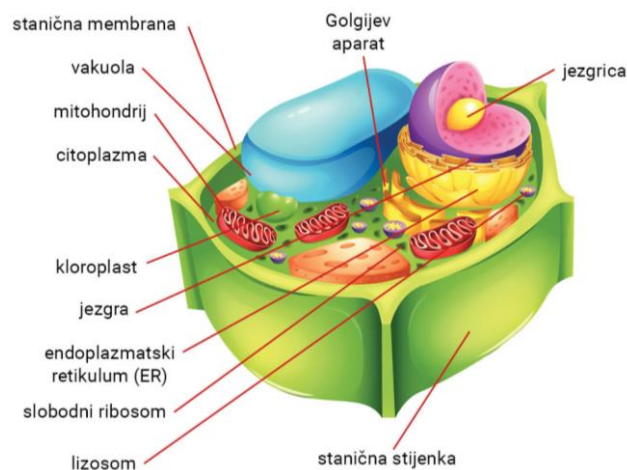


**Slika 2.** Ručna berba maslina (Maslinar, 2019)

Nakon berbe, plodove je potrebno odmah preraditi kako ne bi došlo do narušavanja kvalitete ploda, što bi onda utjecalo na kvalitetu ulja. Prvi korak prilikom dolaska u uljaru je vaganje plodova, zatim slijedi usipavanje u koš koji na površini ima rešetku na kojoj zaostaju krupne

grane, dok se plodovi usisavaju u koš. Strujom zraka uklanjaju se sitnije grančice i lišće. Potrebno je ukloniti ostatke zemlje i ostale nečistoće koje se nađu na površini ploda, a to se provodi kratkim močenjem plodova i potom ispiranjem mlazovima vode (Škevin, 2016b).

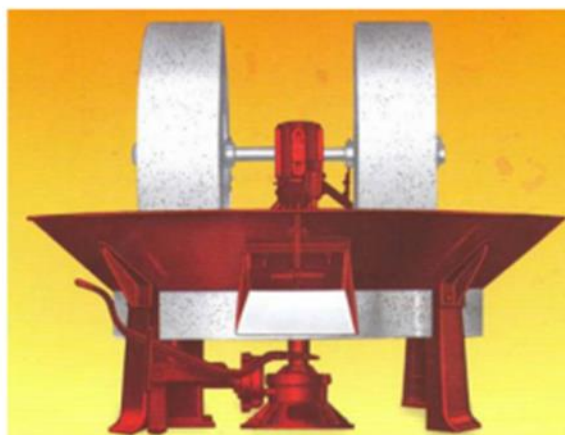
Na slici 3. prikazana je struktura biljne stanice. U plodu masline ulje se nalazi u vakuoli u citoplazmi. Kako bi se ulje izdvojilo iz stanice, potrebno je razoriti staničnu strukturu što se postiže mljevenjem. Uz mljevenje provodi se i drobljenje čime se drobi koštica masline. U ovom procesu u međusobni kontakt dolaze ulje i specifične tvari kožice, sjemenke i pulpe što omogućava početak kemijskih i biokemijskih reakcija. Te reakcije odgovorne su za sastav i svojstva djevičanskog maslinovog ulja. Prilikom mljevenja nepoželjno je raspršivanje ulja u sitne kapljice jer to dovodi do stvaranja emulzija koje otežavaju izdvajanje ulja. Važan je stupanj usitnjenosti koštice jer fragmenti koštice djeluju kao drenažni materijal u maslinovu tijestu i omogućavaju bolje izdvajanje ulja.



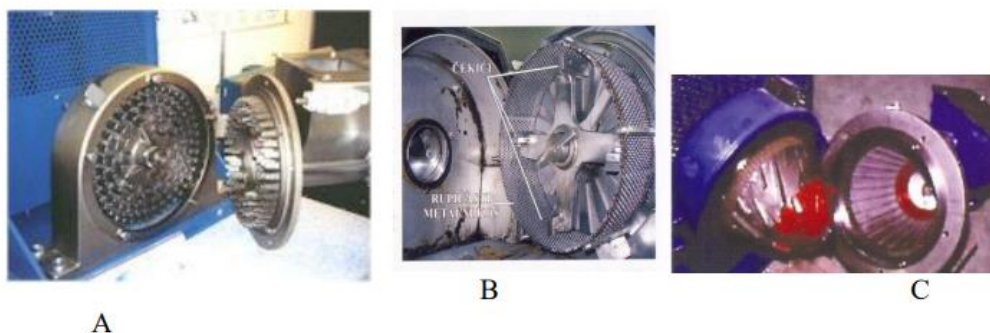
**Slika 3.** Biljna stanica (Biologija 1, 2023)

Postoje različite vrste mlinova koji se mogu koristiti za mljevenje i drobljenje maslina npr. kameni i metalni mlinovi. Kameni mlinovi (slika 4.) imaju malu brzinu okretaja, a vrijeme mljevenja ovisi o postupku ekstrakcije ulja. Ako se ulje izdvaja prešanjem, mljevenje se provodi 20 do 30 min, a za izdvajanje ulja centrifugalnom ekstrakcijom potrebno je provesti mljevenje 40 do 50 min. Prednost kamenih mlinova je to što ne dolazi do pojave emulzija već se male kapljice spajaju u veće što pospješuje izdvajanje ulja. Metalni mlinovi (slika 5.) imaju veću brzinu okretaja od kamenih pa dolazi do pojave emulzija. Zbog toga je obavezna slijedeća faza miješenja kojom se razbijaju emulzije (Škevin, 2016b).



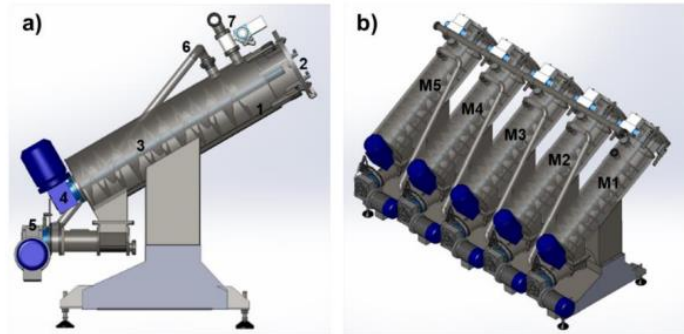


**Slika 4.** Kameni mlin (Škevin, 2016b)



**Slika 5.** Metalni mlinovi: A) s diskovima B) čekićar C) konusni (Škevin, 2016b)

Miješenje je faza proizvodnje u kojoj se miješa samljeveno tijesto uz povišenje temperature i smatra se ključnom u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja zbog svih fizikalnih, fizikalno-kemijskih i biokemijskih promjena koje će utjecati na kvalitetu dobivenog ulja (Corti i sur., 2023). Svrha ovog procesa je razbijanje emulzija, nakupljanje sitnih kapljica u veće čime se pospješuje izdvajanje ulja (Kapellakis i sur., 2008). Proces se provodi u malaksatoru koji može biti različitih izvedbi npr. horizontalni, vertikalni ili građen od cilindričnih jedinica s plaštom koje mogu raditi u seriji ili paralelno (slika 6.) (Corti i sur., 2023).

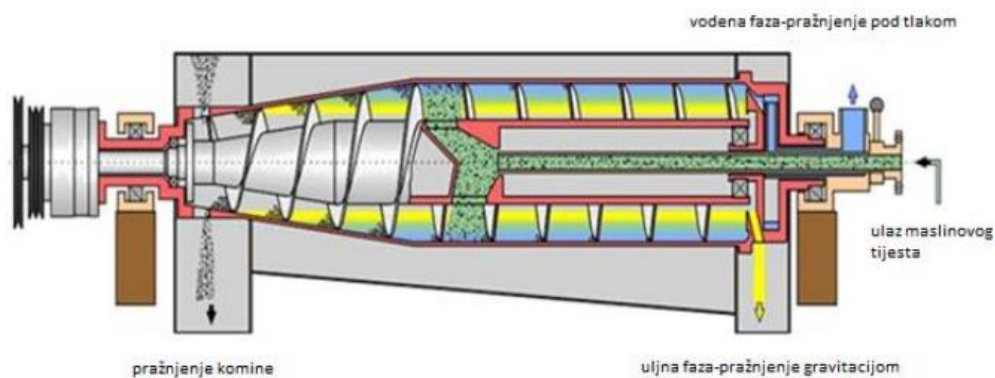


**Slika 6.** Malaksator građen od cilindričnih jedinica (Corti i sur., 2023)

Malaksator je obično građen od inox korita s mješačima i obavijen je plaštem kroz kojeg struji voda. Temperatura tijesta kontrolira se vodom koja struji kroz plašt, a njena temperatura je 5-6 °C viša od željene temperature tijesta. U tijesto se dodaje topla voda kako bi se smanjila njegova viskoznost što daje veće iskorištenje. Za proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja visoke kvalitete potrebno je provoditi miješenje do 60 min i temperatura tijesta ne bi trebala biti viša od 28 °C (Škevin, 2016b). S obzirom da miješenje u najvećoj mjeri određuje svojstva ulja, razvijaju se tehnologije koje bi unaprijedile cijeli proces s ciljem dobivanja većeg iskorištenja i sa što manjim negativnim utjecajem na kvalitetu ulja. Glavni problemi koji se pokušavaju unaprijediti su prijenos topline s plašta na tijesto te kontrola temperature tijekom miješenja. Postoje razne inovacije koje nude potencijalna rješenja za navedene probleme kao što su dvocijevni izmjenjivač topline smješten između drobilice i malaksatora, zatim potpomognuti prijenos topline koristeći ultrazvuk, mikrovalove ili pulsirajuće električno polje te poboljšanja u izvedbi strukture i konfiguracije malaksatora. Međutim, niti jedna od ovih ideja nije široko primijenjena na industrijskoj razini (Corti i sur., 2023).

Nakon miješenja slijedi izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta, a to se može provesti prešanjem, kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom ili procjeđivanjem. Prešanje se smatra tradicionalnim postupkom, a provodi se na hidrauličkoj preši otvorenog tipa. Maslinovo tijesto ravnomjerno se raspoređuje na 4 do 5 filtrirajućih slojnica koje se slažu jedna na drugu te nakon 5 slojnica ulaže se metalni disk kojim se omogućuje ravnomjerno raspoređen pritisak za vrijeme prešanja. Prešanje se provodi postupno kako bi ulje imalo vremena da izađe iz slojnica, a filtraciju omogućavaju vlakna u slojnicama i fragmenti koštica. Prikupljena smjesa ulja i vegetabilne vode odlazi na razdvajanje u centrifugalni separator (Škevin, 2016b).

Kontinuirana centrifugalna ekstrakcija noviji je proces izdvajanja ulja iz tijesta, a temelji se na razlici u gustoći sadržaja maslinovog tijesta tj. ulja, vegetabilne vode i komine. Separacija se odvija pomoću horizontalne centrifuge (dekantera) (Kapellakis i sur., 2008). Dekanter može biti u izvedbi s tri faze i dvije faze. Dekanter s tri faze (slika 7.) sastoji se od bubnja unutar kojeg je koaksijalno smještena pužnica. Bujanj i pužnica rotiraju različitim brzinama. Maslinovo tijesto uvodi se u središnji dio uređaja pomoću cijevi hranilice. Prva faza je ulje koje je najmanje gustoće i ono se raspoređuje u središnjem dijelu centrifuge, a pražnjenje ulja omogućeno je gravitacijom. Druga faza je vegetabilna voda i ona se raspoređuje s vanjske strane bubnja, a pražnjenje ove faze odvija se pod tlakom. Treću fazu predstavlja komina i ona se prazni iz konusnog dijela bubnja. Važan faktor u ovom procesu je količina vode koja se mora dodati u tijesto kako bi ono bilo polutekuće i smanjene viskoznosti. Glavni problem dekantera s 3 faze je velika količina otpadne vode na kraju procesa koju je teško zbrinuti pa se kao rješenje javlja dekanter s dvije faze. Prvu fazu predstavlja djevičansko maslinovo ulje, a druga faza je smjesa komine i vegetabilne vode. U ovom dekanteru ne dodaje se voda, ali problem je vlažna komina koju je potrebno obraditi i zbrinuti. Na kraju procesa, bilo da je korišten dekanter s 3 ili 2 faze, potrebno je uvesti vertikalni separator za krajnje odvajanje maslinovog ulja i vegetabilne vode (Škevin, 2016b).



Slika 7. Dekanter s 3 faze (Škevin, 2016b)

Na slici 8. prikazana je proizvodnja ulja procjeđivanjem. Procjeđivanje je proces izdvajanja ulja koji se uobičajeno ne koristi u praksi zbog svojih nedostataka kao što su skupa oprema i veliki kontakt ulja sa zrakom što pospješuje oksidacijsko kvarenje. Postupak se zasniva na razlikama u površinskoj napetosti ulja i vegetabilne vode. U koritu se odvija miješanje tijesta, a tanke pločice naizmjenično ulaze u tijesto. Kapljice ulja kapaju s pločica u drugo korito i tamo se sakupljaju. Još jedan nedostatak ove metode je zaostajanje 20-30 % ulja u komini koja se onda mora podvrgnuti centrifugalnoj ekstrakciji te to dodatno poskupljuje cijeli proces (Škevin, 2016b).



**Slika 8.** Proizvodnja ulja procjeđivanjem (Škevin, 2016b)

Nakon procesa izdvajanja, dobiveno ulje obavezno se podvrgava bistrenju kako se ne bi stvorio talog prilikom skladištenja. Skladištenje se provodi u spremnicima od inertnog materijala kao što je inox čelik za veliki volumen ulja, a za manje volumene uobičajeno je skladištenje u bocama od tamnog stakla koje pruža potpunu zaštitu od kisika, svjetla i vodene pare (Škevin, 2016b).

### 2.3. Sastav maslinovog ulja

U maslinovom ulju oko 99 % sastava čini osapunjiva frakcija koja se sastoji od triacilglicerola, slobodnih masnih kiselina i fosfolipida. Oko 1 % sastava čini neosapunjiva frakcija u koju spadaju ugljikovodici, steroli, alifatski alkoholi, tokoferoli, pigmenti te razni fenolni i hlapljivi spojevi. Najzastupljenije masne kiseline prisutne u maslinovom ulju su oleinska (C18:1), linolna (C18:2), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), palmitoleinska (C16:1) i linolenska (C18:3). Sastav masnih kiselina varira i ovisi o mjestu proizvodnje, klimi, sorti te stupnju zrelosti ploda. Prisutnost mono- i diacilglicerola ukazuje na lošu kvalitetu ulja (Boskou i sur., 2006).

Najveći dio neosapunjive frakcije čine ugljikovodici, točnije skvalen koji je prekursor sterola. Prisutnost skvalena smatra se djelomično zaslužnom za pozitivni utjecaj maslinovog ulja na zdravlje te za njegovo preventivno djelovanje protiv određenih karcinoma (Boskou i sur., 2006).

Steroli biosintezom nastaju iz skvalena, a udjel ukupnih sterola i njihov sastav govori o podrijetlu i autentičnosti ulja. Najzastupljeniji sterol u djevičanskom maslinovom ulju je  $\beta$ -sitosterol (Škevin, 2016b). Od svih tokoferola u maslinovom ulju najzastupljeniji je  $\alpha$ -tokoferol (oko 90 %), a njegov udio u ulju ovisi o sorti, načinu prerade, stupnju zrelosti ploda. Boja maslinovog ulja dolazi od prisutnih klorofila i karotenoida, a ona ovisi o sorti, indeksu zrelosti ploda, prostoru uzgoja, načinu ekstrakcije i uvjetima skladištenja. Najzastupljeniji klorofil je feofitin *a*. Kad su izloženi svjetlu, zeleni pigmenti apsorbiraju energiju svjetlosti i predaju je kisiku koji se pobuđuje i veže na nezasićene veze masnih kiselina te uzrokuje nastanak primarnih i sekundarnih produkata. Najzastupljeniji karotenoidi su lutein i  $\beta$ -karoten, a njihov udio ovisi o istim čimbenicima koji utječu i na udio klorofila (Boskou i sur., 2006).

Fenolni spojevi imaju važnu ulogu u senzorskim svojstvima te uvelike doprinose roku trajanja poboljšavajući oksidacijsku stabilnost ulja. Oni su prirodni antioksidansi djevičanskog maslinovog ulja jer hvataju i inaktiviraju slobodne radikale (Škevin, 2016b). Udio fenolnih tvari ovisan je o procesu ekstrakcije i miješenja koji je ključan jer se tijekom miješenja aktiviraju enzimi koji kataliziraju oksidaciju fenolnih spojeva što rezultira smanjenjem udjela fenola u djevičanskom maslinovom ulju (Miho i sur., 2020). U maslinovom ulju mogu se naći različite skupine fenolnih spojeva kao što su fenolne kiseline, fenolni alkoholi, flavonoidi, lignani i sekoiridoidi (Servili i sur., 2014). Sekoiridoidi značajna su komponenta fenolnih spojeva jer se mogu naći samo u biljkama iz obitelji *Oleaceae*, a to su maslina, jorgovan i

jasmin, dok se ostali fenolni spojevi mogu naći u mnogim vrstama voća i povrća. U plodu masline najzastupljeniji sekoiridoidi su oleuropein, demetileuropein i verbaskozid, a u koštici se nalazi nuzenid. Sekoiridoidi štite plod od razvoja mikroorganizama na mjestu gdje je plod oštećen, odbijaju nametnike i biljojede (Škevin, 2016b).

Oksidacijska stabilnost opisuje se periodom indukcije. To je vrijeme kroz koje je moguće očuvati ulje od autooksidacije, što je od iznimne važnosti za skladištenje ulja (Škevin, 2016a). Kemijski sastav maslinovog ulja doprinosi njegovoj oksidacijskoj stabilnosti, točnije zbog visokog udjela jednostrukonezasićene oleinske masne kiseline koja je manje podložna oksidaciji od višestrukonezasićenih. Također, optimalan omjer  $\alpha$ -tokoferola i linolne masne kiseline omogućava zaštitu višestrukonezasićenih masnih kiselina od oksidacije. Najsnažniji antioksidansi maslinovog ulja su fenolne tvari, a tokoferoli i fosfolipidi imaju sinergističko djelovanje u odnosu na njih. Tokoferoli i fosfolipidi imaju i međusobno sinergističko djelovanje, a pri visokim temperaturama (temperature pečenja ili prženja) do izražaja dolazi antioksidativno djelovanje sterola (osobito  $\Delta 5$ - i  $\Delta 7$ -avenasterola) preko ometanja polimerizacije masnih kiselina (Škevin, 2016b).

## 2.4. Ultrazvuk

Ultrazvuk je zvučni val frekvencije veće od gornje granice ljudskog sluha (oko 20 kHz). U praksi postoje tri frekvencijska područja ultrazvuka koja imaju različite upotrebe:

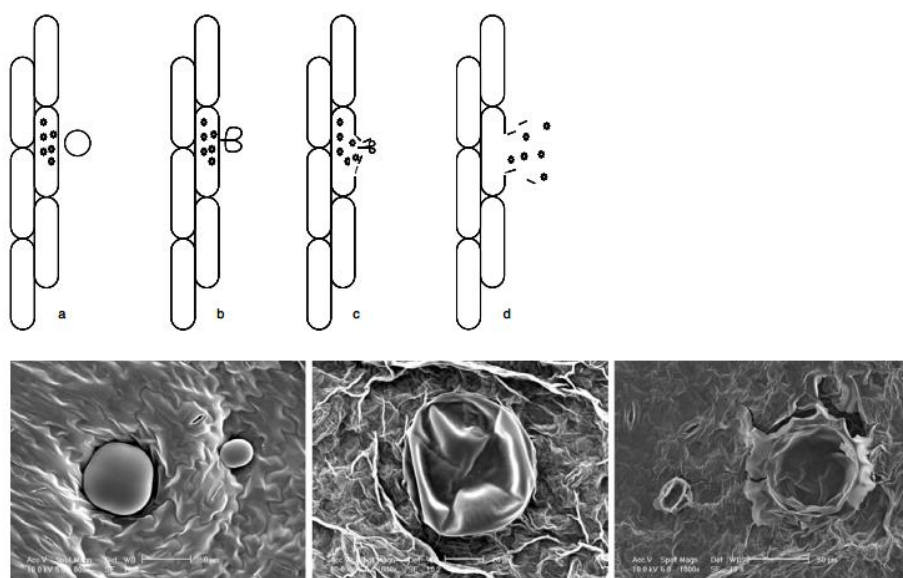
- 1.) od 20 do 100 kHz je raspon relativno niskih frekvencija koji se primjenjuje za konvencionalni snažni ultrazvuk

- 2.) od 300 do 1000 kHz predstavlja srednje frekvencijsko područje, a koristi se u sonokemiji

- 3.) od 2 do 10 MHz je visokofrekvencijski raspon i koristi se u medicinskoj dijagnostici

Primjena ultrazvučnog vala stvara cikluse ekspanzije i kompresije. Ekspanzijski ciklus uzrokuje smanjenje tlaka u tekućini i, ako je amplituda ultrazvučnog vala dovoljno velika, može rezultirati pojavom akustične kavitacije. Kavitacija je proces formiranja, rasta i implozije mjehurića ispunjenih parom i/ili plinom. Na rast i imploziju mjehurića utječu fizikalna svojstva plina i tekućine, početna veličina plinovitih jezgri prisutnih u tekućini i frekvencija i intenzitet ultrazvuka. Prije implozije, kavitacijski mjehurić oscilira u veličini prateći ekspanzijske i kompresijske cikluse ultrazvučnog vala. Kad ti mjehurići implodiraju, tlak i temperatura u mjehuriću mogu doseći i do nekoliko stotina atmosfera, odnosno nekoliko tisuća Kelvina

(Babuponnusami and Muthukumar, 2014). Visoki tlak i temperatura koji se razvijaju generiraju mikromlazove koji se usmjere prema čvrstoj površini. Kada se takav mikromlaz generira u blizini matriksa biljne stanice, visoki tlak i temperatura uništiti će stanične stijenke i sadržaj stanice će se ispustiti u medij (slika 9.). Korištenje ultrazvuka prilikom ekstrakcije pokazuje se kao potencijalna tehnologija kojom se može ubrzati prijenos topline i tvari. Upotreba ultrazvuka u prehrambenoj industriji ima brojne pozitivne strane kao što su poboljšanje produktivnosti, iskorištenja i selekcije, očuvanje kvalitete proizvoda, smanjena kemijska i fizikalna opasnost te ekološka prihvatljivost (Chemat i sur., 2011).



**Slika 9.** Kolaps kavitacijskog mjehurića i ispuštanje staničnog sadržaja (Chemat i sur., 2011)

## 2.5. Diferencijalna motridbena (skenirajuća) kalorimetrija (DSC)

DSC (slika 10.) je komercijalno dostupan instrument koji promatra promjene fizikalnih i kemijskih svojstava kao funkciju temperature tako što detektira toplinske promjene asociirane s prijelazima faza (Vittadini i sur., 2003).

Lipidi, glavni sastojak ulja, podliježu oksidaciji koja daje ulju neugodan okus i aromu, uzrokuje nepoželjne promjene u kvaliteti, smanjuje hranidbenu vrijednost proizvoda te potencijalno može ugrožavati zdravlje potrošača. Općenito, kisik reagira s dvostrukim vezama prisutnim u lipidima, nakon čega slijedi mehanizam autooksidacije u kojem sudjeluju slobodni radikali.

Toplinski procesi (npr. prženje) ubrzavaju oksidaciju lipida. Razne reakcije tijekom oksidacije događaju se istovremeno različitim brzinama i one razvijaju toplinu koja može biti izmjerena diferencijalnom motridbenom kalorimetrijom. Mjerenje oksidacije pomoću DSC odvija se usporedbom topline otpuštene iz oksidiranog ulja s toplinom koja protječe kroz praznu posudicu (referentni uzorak) dok su oba uzorka zagrijavana istom brzinom. Uređaj snima termogram na kojem je vidljiv protok topline kao funkcija vremena, a vremenski period u kojem nisu zabilježene promjene u protoku topline naziva se vrijeme indukcije ili indukcijaska perioda. Duljina vremena indukcije smatra se mjerom oksidacijske stabilnosti, a u tom periodu ne događaju se kemijske reakcije u ulju. Trenutak kada se signal za protok topline odvoji od bazne linije smatra se krajem indukcijske periode (Saldana and Martinez-Monteagudo, 2013).



**Slika 10.** Uređaj DSC 214 Polyma, Netzsch, Selb, Njemačka (Netzsch, 2023)



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali

Korišteni su uzorci djevičanskog maslinovog ulja dobiveni iz 4 hrvatske autohtone sorte maslina (istarska bjelica, rosulja, oblica i levantinka).

#### 3.2. Metode

##### 3.2.1. Proizvodnja DMU

DMU proizvedeno je u laboratorijskoj pilot uljari Abencor MC2 (Ingenieria y Sistemas S.L., Sevilla, Španjolska) koja simulira industrijsku preradu maslina u kontroliranim proizvodnim uvjetima, a sastoji se od mlina čekićara MM-100 s cilindrom promjera otvora 4,5 mm, termomiješalice s vodenom kupelji TM-100 i centrifuge CF-100. Nakon čišćenja i pranja maslina uslijedilo je mljevenje plodova te se dobiveno tijesto podvrgnulo ultrazvučnom tretmanu u ultrazvučnoj kupelji Sonorex digiplus (Bandelin electronic, Berlin, Njemačka) maksimalne snage 640 W, napona 120 - 240 V i frekvencije 20 kHz. Tretman se provodio u različitim kombinacijama vremena i snage ultrazvuka, a uvjeti su prikazani u tablici 1. Nakon tretmana ultrazvukom slijedi proces miješenja u trajanju od 40 min pri temperaturi 27 °C, a zatim se ulje izdvojilo centrifugiranjem pri 3500 o/min u trajanju od 90 s te izbistrilo dodatnim centrifugiranjem pri 5000 o/min u trajanju od 4 min na centrifugi Rotina 320R (Hettich, Tuttlingen, Njemačka) pri 18 °C. Bistrio ulje se do analize skladištilo u bočicama od tamnog stakla na temperaturi do 20 °C. Kao kontrola korišteni su uzorci DMU proizvedeni na istoj laboratorijskoj pilot uljari od istih plodova bez primjene ultrazvuka.

**Tablica 1.** Prikaz uvjeta tretiranja maslinovog tjesta ultrazvukom

Vrijeme tretmana (min)	Snaga ultrazvuka (W)
0	0
10	256
5	320
15	320
3	448
10	448
17	448
5	576
15	576
10	640

### 3.2.2. Određivanje oksidacijske stabilnosti DMU

Oksidacijska stabilnost uzoraka DMU određivana je pomoću DSC metode na uređaju DSC 214 Polyma (Netzsch, Selb, Njemačka). U aluminijsku posudicu odvagano je  $4 \text{ mg} \pm 0,04 \text{ mg}$  uzorka ulja nakon čega se posudica poklopi aluminijskim poklopcem i na sredini poklopca se probuši rupica. Zagrijavanje uzorka provodi se pod strujom dušika protoka  $40 \text{ mL/min}$ , brzinom od  $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$  od  $25$  do  $140 \text{ }^\circ\text{C}$ . Kada temperatura dosegne  $140 \text{ }^\circ\text{C}$ , tamo se zadržava  $5 \text{ min}$  kako bi se sustav stabilizirao te se nakon toga uključi protok kisika od  $100 \text{ mL/min}$  i započinje mjerenje induksijske periode pri  $140 \text{ }^\circ\text{C}$ . Mjerenje se prekida u trenutku pojave značajne oksidacije uzorka, tj. strmog rasta krivulje entalpije. Uzorak se uspoređuje s referentnim uzorkom (prazna aluminijska posudica) koji se prije mjerenja stavlja u uređaj. Tijekom cijelog ovog postupka, instrumentom struji zaštitni plin (dušik) protokom od  $60 \text{ mL/min}$ . U programu NETZSCH Proteus Analysis 8.0.1. dobivena krivulja se „zagladi“ na vrijednost 9/16 i odredi se induksijska perioda. Određivanje induksijske periode za svaki uzorak provodilo se dva puta, a od dobivenih podataka izračunata je srednja vrijednost i standardna devijacija.

### 3.2.3. Statistička obrada

Dobivene vrijednosti upisane u tablici 2 analizirane su s obzirom na utjecaj sorte, vremena tretmana i snage ultrazvuka pomoću analize varijance 2-way ANOVA s 95 %-tnom vjerojatnošću ( $p \leq 0,05$ ) napravljenoj u programu Excel.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Upotreba ultrazvuka u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja može utjecati na iskorištenje procesa, na kvalitetu ulja te na vrijeme samog procesa i energetske troškove. Ultrazvukom je moguće narušiti cjelovitost stanične stijenke i iz stanice osloboditi ulje što rezultira većim iskorištenjem procesa. Naime, u tradicionalnoj proizvodnji dio ulja uvijek ostane zarobljen u stanicama. S obzirom da prilikom tretiranja ultrazvukom dolazi do blagog povećanja temperature u tijestu (ultrazvučni val koji prolazi kroz tkivo biljke djelomično je apsorbiran, a djelomično pretvoren u toplinu), cilj ovog rada bio je istražiti kakav utjecaj ima ultrazvuk na kvalitetu ulja, točnije na oksidacijsku stabilnost (Veneziani i sur., 2016).

**Tablica 2.** Indukcijska perioda (min) DMU proizvedenih bez i s primjenom UZV

VRIJEME *	SNAGA §	SORTA £			
		Istarska bjelica	Rosulja	Oblica	Levantinka
0	0	155,2 ± 3,3cd	206,3 ± 0,4a	55,1 ± 1,9a	138,8 ± 2,9bcd
10	256	177,8 ± 0,2a	192,4 ± 1,0bc	28,7 ± 0,2f	118,5 ± 1,8e
5	320	156,9 ± 1,3c	197,4 ± 2,0b	44,3 ± 0,6bc	132,9 ± 1,6cd
15	320	163,7 ± 2,1bc	185,0 ± 0,0d	32,7 ± 0,5ef	129,8 ± 1,9d
3	448	157,9 ± 2,7c	187,0 ± 1,3cd	33,6 ± 0,2e	157,0 ± 1,3a
10	448	153,4 ± 0,2cde	199,1 ± 0,9b	40,3 ± 1,2cd	143,8 ± 3,0b
17	448	144,9 ± 3,9def	180,9 ± 0,2d	35,0 ± 0,2e	130,4 ± 0,3d
5	576	170,1 ± 0,2ab	186,0 ± 2,3cd	45,5 ± 0,1b	138,0 ± 2,6bcd
15	576	142,1 ± 0,3ef	187,1 ± 0,1cd	36,4 ± 0,3de	132,5 ± 0,0cd
10	640	137,0 ± 2,3f	181,9 ± 1,9d	40,7 ± 0,1c	141,2 ± 0,5bc

\*vrijeme tretiranja ima značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost ( $p < 0,0001$ ); §snaga ima značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost ( $p < 0,0001$ ); £sorta ima značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost ( $p < 0,0001$ )

(uzorci označeni različitim slovima unutar pojedine sorte značajno su različiti)

U tablici 2 prikazane su vrijednosti indukcijskih perioda (min) za svaku pojedinu sortu pri različitim uvjetima tretiranja. Za sortu istarska bjelica pokazalo se da je tretman ultrazvuka snagom od 256 W u trajanju od 10 min poboljšao oksidacijsku stabilnost u usporedbi s kontrolnim uzorkom gdje nije bilo upotrebe ultrazvuka. Najnižu vrijednost oksidacijske stabilnosti imao je uzorak koji je tretiran najjačom snagom. Sorta rosulja je pokazala najveću oksidacijsku stabilnost kada se nije provodio ultrazvučni tretman, a najkraću indukcijsku periodu imao je uzorak tretiran s najvećom snagom ultrazvuka. Sorta levantinka pokazuje najveću indukcijsku periodu pri uvjetima ultrazvuka snage 448 W u trajanju tretmana od 3 min.

Najniža vrijednost indukcijske periode zabilježena je pri uvjetima snage ultrazvuka od 256 W u trajanju tretmana 10 min, što je upravo suprotan rezultat u usporedbi sa sortom istarska bjelica. Sorta oblica ima značajno niže vrijednosti indukcijskih perioda pri svim uvjetima od ostale 3 sorte. Najduža indukcijska perioda izmjerena je u kontrolnom uzorku što znači da je ultrazvučni tretman uzoraka doveo do značajnog smanjenja oksidacijske stabilnosti. Sagledavajući sve rezultate, očigledno je da različite sorte drugačije reagiraju na ultrazvučni tretman. Topić (2022) i Demo (2022) u svojim radovima određivali su indukcijske periode DMU proizvedenih iz ove 4 sorte uz primjenu ubrzanog toplinskog tretmana (UTT) i dobiveno je da je kontrolni uzorak (bez primjene UTT-a) sorte istarska bjelica prošle godine imao indukcijsku periodu od 189 min, dok je ove godine indukcijska perioda bila 155,15 min. Sorta rosulja je prošle godine imala nešto nižu vrijednost indukcijske periode – 193 min, a sorta levantinka višu vrijednost u odnosu na ovu godinu – 167,5 min. Sorta oblica je pokazala najveću razliku indukcijskih perioda gdje je prošle godine ona iznosila 122,3 min, a ove godine je i više nego dvostruko manja – 55,1 min. Na oksidacijsku stabilnost, osim samog procesa proizvodnje, utječe uzgoj masline, klima, indeks zrelosti te naročito različit kemijski sastav svake sorte. Rigane i sur. (2020) proveli su istraživanje utjecaja ultrazvučnog tretmana na oksidacijsku stabilnost DMU u kojem je dobiveno da prilikom tretiranja ultrazvukom snage 150 W u trajanju od 10 min dolazi do povećanja oksidacijske stabilnosti. Uspoređujući te rezultate s vrijednostima indukcijskih perioda u ovom radu, vidljivo je da pri tretmanu od 10 min dolazi do povećanja oksidacijske stabilnosti sorte istarska bjelica samo pri snazi od 256 W, a pri većim snagama dolazi do smanjenja oksidacijske stabilnosti. Sorte rosulja i oblica pokazuju značajan pad oksidacijske stabilnosti prilikom 10-minutnog tretmana pri svim snagama ultrazvuka, a kod sorte levantinka dolazi do povećanja oksidacijske stabilnosti nakon 10 min tretiranja pri uvjetima snage ultrazvuka od 448 i 640 W. Smanjenje oksidacijske stabilnosti DMU nakon tretmana od 10 min pri svim snagama ultrazvuka u ovom radu korelira s rezultatima istraživanja Iqdiem i sur. (2017) gdje je objašnjeno da ultrazvučni tretman nakon 8 min uzrokuje brzo zagrijavanje koje smanjuje udio fenolnih tvari, a one imaju glavnu ulogu u održavanju oksidacijske stabilnosti.

## 5. ZAKLJUČCI

1. Sorta ima najveći utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja, a unutar sorte vrijeme tretiranja i snaga ultrazvuka također pokazuju statistički značajan utjecaj.
2. Upotreba ultrazvuka kao predtretmana miješenja rezultirala je povećanjem oksidacijske stabilnosti djevičanskog maslinovog ulja dobivenog iz sorti istarska bjelica i levantinka.
3. Ulje dobiveno iz sorti rosulja i oblica pokazalo je najveću oksidacijsku stabilnost u uzorcima dobivenim konvencionalnom metodom, što znači da ultrazvučni tretman nije poboljšao oksidacijsku stabilnost.

## 6. POPIS LITERATURE

Babuponnusami A, Muthukumar K (2014) A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment, *J Environ Chem Eng* **2**, 557–572. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.10.011>

Biologija 1 (2023) Biljna eukariotska stanica: Organeli biljnih stanica. <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/074ffbb3-a1b7-4fe1-9f4a-1ea3539d642d/biologija-1/m03/j06/index.html>. Pristupljeno 28. kolovoza 2023.

Boskou D, Blekas G, Tsimidou M (2006) *Olive Oil Composition*. U: Boskou D (ured.) Olive Oil: Chemistry and Technology, 2 izd., AOCS Press, Champaign, Illinois, str. 41-72.

Chemat F, Zill-E-Huma, Khan MK (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction, *Ultrason Sonochem*, **18**, 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultrsonch.2010.11.023>

Corti F, (2023) Innovation in Extra Virgin Olive Oil (EVOO) Processing (thesis), Università degli studi Firenze, Firenze, Italia

Demo L (2022) Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte istarska bjelica i rosulja (završni rad), Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Europski parlament (2013) Uredba (EU) br.1308/2013 Europskog parlamenta i vijeća o uspostavljanju zajedničke organizacije tržišta poljoprivrednih proizvoda i stavljanju izvan snage uredbi Vijeća (EEZ) br. 922/72, (EEZ) br. 234/79, (EZ) br. 1037/2001 i (EZ) br, 1234/2007. Official Journal of the European Union 347, 671-854. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32013R1308#d2073e1989-806-1>  
Pristupljeno: 8 lipnja 2023.

Iqdiam BM, Mostafa H, Goodrich-Schneider R, Baker G., Welt B, Marshall MR (2017) High Power Ultrasound: Impact on Olive Paste Temperature, Malaxation Time, Extraction Efficiency, and Characteristics of Extra Virgin Olive Oil. *Food Bioproc Tech*, **11**, 634–644. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-017-2035-8>

Kantoci D (2006) ‘MASLINA “Olea prima omnium arborum est. Columella”’, *Glasnik zaštite bilja* **29**, 4-14.

Kapellakis IE, Tsagarakis KP, Crowther JC (2008) Olive oil history, production and by-product management, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **7**, 1–26. <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>

Maslinar (2019) Kako lakše ubrati masline. <https://www.maslinar.com/kako-lakse-ubрати-masline/> Pristupljeno 17. kolovoza 2023.

Miho H, Moral J, Lopez-Gonzalez MA, Diez CM, Priego-Capote F (2020) The phenolic profile of virgin olive oil is influenced by malaxation conditions and determines the oxidative stability, *Food Chem* **314**, 126183. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126183>

Netzsch (2023) Products: Differential Scanning Calorimetry. <https://analyzing-testing.netzsch.com/en/products/differential-scanning-calorimeter-dsc-differential-thermal-analyzer-dta/dsc-214-polyma>. Pristupljeno 15. kolovoza 2023.

Rigane G, Yahyaoui A, Acar A, Mnif S, Salem RB Arslan D (2020) Change in some quality parameters and oxidative stability of olive oils with regard to ultrasound pretreatment, depitching and water addition. *Biotechnol Rep*, **26**, e00442. doi:<https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00442>.

Saldana MDA, Martinez-Monteagudo SI (2013) Oxidative Stability of Fats and Oils Measured by Differential Scanning Calorimetry for Food and Industrial Applications, U: Elkordy AA (ured.) Applications of Calorimetry in a Wide Context: Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry, InTech, Rijeka, Hrvatska, str. 445-474.



Servili M, Sordini B, Esposito S, Urbani S, Veneziani G, Di Maio I, Selvaggini R, Taticchi A (2014) Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil, *Antioxid* **3**, 1–23. <https://doi.org/10.3390/antiox3010001>

Škevin D (2016a) Kemija i tehnologija ulja i masti (interna skripta). Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Škevin D (2016b) Procesi prerade maslina i kontrola kvalitete proizvoda (interna skripta). Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Topić M (2022) Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte oblica i levantinka (završni rad), Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Veneziani G, Sordini B, Taticchi A, Esposito S, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I, Servili M (2016) Improvement of Olive Oil Mechanical Extraction: New Technologies, Process Efficiency, and Extra Virgin Olive Oil Quality. U: Boskou D, Clodoveo M (ured.) *Products from Olive Tree*, InTech, Rijeka, Hrvatska, str. 21-42.

Vittadini E, Lee JH, Frega NG, Min DB, Vodovotz Y (2003) DSC determination of thermally oxidized olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **80**, 533–537. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0733-x>

## Izjava o izvornosti

Ja Lucija Karamarko 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.

Lucija Karamarko  
Vlastoručni potpis