

**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

Mia Rošćić
0058220710

**UTJECAJ INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA NA SASTAV MASNIH KISELINA
DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA SORTE LEVANTINKA**

ZAVRŠNI RAD

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Utjecaj inovativnih tehnologija na sastav masnih kiselina djevičanskog maslinovog ulja sorte
levantinka
Mia Roščić, 0058220710**

Sažetak:

Specifičan sastav masnih kiselina djevičanskog maslinovog ulja (DMU) uveliko je odgovoran za njegovu visoku nutritivnu vrijednost i oksidacijsku stabilnost. Cilj ovog rada bio je ispitati kako uvođenje inovativnih tehnologija, ubrzanog toplinskog tretmana – UTT, ultrazvuka – UZV i pulsirajućeg električnog polja – PEP te njihovih kombinacija kao predtretmana u proizvodnji DMU iz autohtone dalmatinske sorte levantinka utječe na sastav masnih kiselina. Masne kiseline određene su plinskom kromatografijom. Primjena inovativnih tehnologija pokazala je značajni utjecaj u sastava masnih kiselina. Implementacija inovativnih tehnologija u proizvodnju značajno je smanjila koncentracije oleinske, palmitinske, steariske, linolenske, arahinske, eikozenske i behenske masne kiseline. Koncentracija linolne masne kiseline niža je nakon UTT, a viša nakon UZV i PEP predtretmana. Korištenjem kombinacija istraživanih predtretmana značajno je promijenjena koncentracije svih masnih kiselina, a najjače djelovanje pokazao je predtretman PEP-om. Osim toga, faza miješenja također je pokazala je značajan utjecaj na koncentracije svih masnih kiselina osim na heptadekansku, linolnu i linolensku masnu kiselinu.

Ključne riječi: Sastav masnih kiselina, djevičansko maslinovo ulje, ubrzani toplinski tretman, ultrazvuk, pulsirajuće električno polje

Rad sadrži: 23 stranice, 3 slike, 3 tablice, 34 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić

Pomoć pri izradi: Katarina Filipan, mag. ing. techn. aliment.

Datum obrane: 17. lipnja 2024.

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

The influence of innovative technologies on the fatty acid composition of levantinka virgin olive oils

Mia Roščić, 0058220710

Abstract:

The specific fatty acid composition of virgin olive oil (VOO) has a major impact on its high nutritional value and oxidative stability. The aim of this work was to investigate the effects of the innovative technologies flash thermal treatment (FTT), ultrasound (US) and pulsed electric field (PEF) and their combinations on the fatty acid composition of VOO of the autochthonous Dalmatian variety Levantinka. The fatty acid composition was determined by gas chromatography. The application of innovative technologies has shown a significant influence on fatty acids. The investigated technologies significantly reduced the concentrations of oleic acid, palmitic, stearic, linolenic, arachidic, eicosenoic and behenic fatty acid. The concentration of linoleic acid is lower after FTT pretreatment and higher after US and PEF pretreatment. The combinations of the investigated pretreatments significantly changed the concentrations of all fatty acids, with the PEF pretreatment showing the strongest effect. In addition, the malaxation phase also showed a significant influence on the concentrations of all fatty acids except for heptadecanoic acid, linoleic acid and linolenic acid.

Keywords: fatty acid composition, virgin olive oil, flash thermal treatment, ultrasound, pulsed electric field

Thesis contains: 23 pages, 3 figures, 3 tables, 34 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Klara Kraljić, PhD, Associate professor

Technical support and assistance: Katarina Filipan, mag. ing. techn. aliment.

Thesis defended: June 17, 2024.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. MASNE KISELINE	2
2.1.1. KEMIJSKA SVOJSTVA MASNIH KISELINA	2
2.1.2. FIZIKALNA SVOJSTVA MASNIH KISELINA	4
2.2. SASTAV MASNIH KISELINA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	6
2.3. INOVATIVNE TEHNOLOGIJE U PROIZVODNJI DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA 7	
3. EKSPERIMENTALNI DIO	11
3.1. MATERIJALI	11
3.2. METODE	12
3.2.1. ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA	12
3.2.2. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	13
4. REZULTATI I RASPRAVA	14
5. ZAKLJUČCI	19
6. POPIS LITERATURE	20

1. UVOD

Djevičansko maslinovo ulje (DMU) glavna je masnoća mediteranske prehrane, no njegovo korištenje nije ograničeno samo na prostor Mediterana, već se uveliko koristi širom svijeta. Velikoj popularnosti DMU uveliko doprinose spoznaje o njegovim povoljnim učincima na ljudsko zdravlje poput prevencije krvožilnih, kožnih bolesti i smanjenja oksidacijskog stresa u organizmu. Svoja blagotvorna svojstva posjeduje upravo zbog kemijskog sastava u kojem dominiraju jednostruko nezasićene masne kiseline. DMU sadrži i određenu količinu esencijalnih masnih kiselina poput linolne (C18:2) i linolenske (C18:3). No ono što ga izdvaja od ostalih biljnih ulja je sadržaj antioksidanasa, posebno polifenola koji su, uz visoku nutritivnu vrijednost DMU, odgovorni i za njegova specifična senzorska svojstva. Dnevni preporučeni unos DMU su dvije žlice kako bi se smanjio rizik od srčanih bolesti, prema agenciji za hranu i lijekove Sjedinjenih američkih država (FDA).

Tehnologija proizvodnje maslinovog ulja već je duži niz godina nepromijenjena, ali se istražuju i nove inovativne tehnologije poput ultrazvuka (UZV), pulsirajućeg električnog polja (PEP), ubrzanog toplinskog tretmana (UTT) i mikrovalova. Sve one za cilj imaju povećati prinos ulja, skratiti ili u potpunosti zamijeniti fazu miješenja ulja i time povećati ekonomičnost odnosno smanjiti troškove proizvodnje. Cilj ovog rada bio je ispitati kako inovativne tehnologije (UTT, UZV i PEP) te njihove kombinacije utječu na sastav masnih kiselina djevičanskog maslinovog ulja, proizvedenog iz autohtone dalmatinske sorte levantinka. Navedene inovativne tehnologije korištene su kao predtretmani miješenju, neposredno nakon mljevenja, a dio uzoraka proizveden je bez miješenja kako bi se utvrdila mogućnost izostanka ove dugotrajne i energetske zahtjevne faze.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASNE KISELINE

2.1.1. Kemijska svojstva masnih kiselina

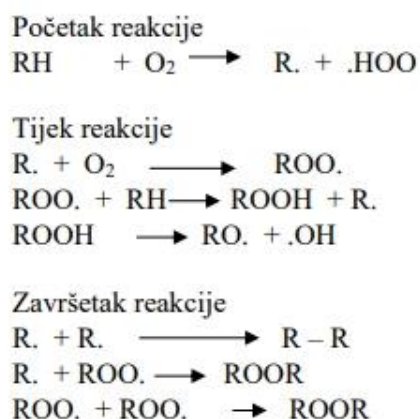
Masne kiseline su ugljikovodični spojevi različite duljine koje sadrže karboksilnu skupinu na jednom kraju te metilnu skupinu na drugom kraju lanca te paran broj ugljikovih atoma, najčešće od 12 do 22 C atoma (Ahmad, 2017). Dije se na zasićene i nezasićene prema vrsti kemijske veze unutar njih. Zasićene masne kiseline u svojoj građi sadržavaju isključivo jednostruke veze i smatraju se nisko reaktivnima. Prisutnost dvostrukih veza kod nezasićenih masnih kiselina povećava njihovu reaktivnost zbog nastanka aktivnog mjesta koje može biti izvor mnogih nepoželjnih reakcija. Neke od tih reakcija su izomerizacija i oksidacija. Ukoliko sadržavaju više nezasićenih veza onda ih jednim imenom nazivamo polinezasićenima. Prisutnost nezasićene veze omogućuje stvaranje optičkih izomera koji mogu biti *cis* ili *trans* oblika, a u prirodi je najviše *cis* izomera. *Trans* izomeri su u prirodi rjeđi, no u laboratorijskim uvjetima moguće ih je dobiti postupkom hidrogenacije uslijed čega može doći i do popratne reakcije izomerizacije (DeMan, 1992).

Masne kiseline u hrani uglavnom se pojavljuju u formi estera s alkoholom glicerolom. U hrani najzastupljeniji esteri su trigliceridi, a prate ih manje količine mono- i diglicerida te slobodne masne kiseline. Kako bih detaljno razumjeli važnost masnih kiselina u uljima i mastima potrebno je poznavati najvažnije kemijske reakcije u kojima one sudjeluju te obratiti pažnju na posljedice tih reakcija. U industriji proizvodnje ulja ovo je od posebne važnosti s obzirom da prilikom nekih reakcija dolazi do kvarenja ulja i nastanka spojeva štetnih za ljudsko zdravlje.

Reakcije adicije kisika unutar masnih kiselina nazivaju se oksidacijom. Ukoliko se adicija kisika odvija na zasićenim masnim kiselinama, tu reakciju nazivamo β oksidacija. Do nje dolazi u prisutnosti enzima te mikroorganizama kada je mast jedna od sastojaka namirnice, a uz nju se nalazi i supstrat za rast mikroorganizama. Primarni produkt β oksidacije je β keto masna kiselina, a sekundarni metil keton. No do adicije kisika puno češće i lakše dolazi na nezasićenim masnim kiselinama, a s obzirom da nastali produkti u prvom stupnju oksidacije pospješuju daljnji tijek reakcije takve reakcije zovemo autooksidacijom. Ove reakcije stvaraju primarne, sekundarne i tercijarne oksidacijske produkte koji čine ulje neadekvatnim za konzumaciju (Chow, 2007).

Pojava autokatalize tijekom autooksidacije tumači se teorijom slobodnih radikala. U prvoj fazi kisik se veže na nezasićene dvostruke veze i pritom nastaju slobodni radikali, koji dalje reagiraju s preostalim masnim kiselinama stvarajući nove radikale. U početku

autooksidacija može biti spora, ali kako postupno nastaje sve više radikala reakcija se ubrzava. U drugom stupnju iz radikala nastaju hidroperoksidi, primarni produkti kvarenja. Hidroperoksidi stvaraju sekundarne produkte oksidacije aldehide, ketone, alkohole itd. Reakcija oksidacije završava u onom trenutku kada slobodni radikali reagiraju međusobno, pritom stvarajući inaktivne polimere. Osim što produkti autooksidacije daju neugodan okus i miris ulju, oni su i ujedno i toksični stoga je autooksidacija izuzetno nepoželjna kemijska reakcija (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). Tijek autooksidacije prikazan je na slici 1.



Slika 1. Autooksidacija ulja (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980)

Brojni čimbenici utječu na brzinu i tijek oksidacije, poput kisika, temperature, metala, svjetla i enzima. Katalizator reakcije nastanka slobodnih radikala u prvoj fazi oksidacije može biti svjetlo pa se takva vrsta reakcije naziva fotooksidacija (Chow, 2007).

Ukoliko je katalizator reakcije temperatura onda takvu reakciju nazivamo termooksidacija. Termooksidacija se odvija primjerice prilikom prženja hrane, a u širem smislu obuhvaća tri reakcije: hidrolizu, autooksidaciju i termooksidaciju u užem smislu. Prilikom reakcije termooksidacije u užem smislu dolazi do pretvaranja *cis-cis* 1,4 dienskog linolata u *trans-trans* 1,3 konjugirane diene. Oni mogu međusobno reagirati dajući nove diene. Osim toga, moguće je stvaranje cikličkih monomera masnih kiselina. Na primjer, linolenska masna kiselina može reagirati s C9 ili C12 dvostrukim vezama stvarajući cikličke spojeve. Produkti termooksidacije u užem smislu su cikličke masne kiseline, dimeri i polimeri masnih kiselina. Određivanjem udjela polarnih spojeva kromatografijom u koloni prati se tijekom termooksidacije (Wanasundara i Shahidi, 2005).

Enzimska oksidacija također je prisutna kod ulja te utječe na nutritivne i senzorske parametre. Lipoksigenaza je metaloprotein s atomom željeza u svom središtu, a dva se tipa lipoksigenaza javljaju kod biljaka. Lipoksigenaza tipa 1 djeluje samo na slobodnim masnim kiselinama koje su oslobođene iz triglicerida dok će lipoksigenaza tipa 2 djelovati na triglicerid.

Lipoksigenaze kataliziraju oksidacijske reakcije između kisika i nezasićenih lipida koji sadrže *cis,cis*-1,4-pentadienske sustave. Hidroperoksidi koji se stvaraju djelovanjem lipoksigenaze na višestruko nezasićene masne kiseline i trigliceride mogu se razgraditi u sekundarne oksidacijske proizvode kao što su aldehidi, ketoni, kiseline ili druge tvari koje uzrokuju nepoželjne okuse i neugodne mirise, što dovodi do oksidativne užeglosti (Wanasundara i Shahidi, 2005).

Reakcije izomerizacije su one reakcije u kojima dolazi do preraspodjele molekulske strukture masnih kiselina, a da se pritom njihova molekulska formula ostaje nepromijenjena. Neke od tih reakcija podrazumijevaju pretvaranje *cis* u *trans* oblike, preraspodjelu dvostrukih veza unutar masne kiseline te razgranjenje strukture masne kiseline.

Izomerizacijom osim *trans* izomera masnih kiselina, nastaju i konjugirane masne kiseline, odnosno masne kiseline koje sadrže dvije ili više dvostrukih veza međusobno odvojenih jednostrukim (Sliva i sur., 2020).

Hidrogenacija je kemijska reakcija adicije vodika na dvostruke nezasićene veze unutar masne kiseline. Ova reakcije od velikog je značaja za industriju zato što omogućava prijelaz tekućih ulja u čvrste masti te proizvodnju margarina i šorteninga. Kod hidrogenacije događa se reakcija između plinovitog vodika, tekućeg ulja i krutog katalizatora (najčešće nikal) u zatvorenom sustavu. Jedna od nuspojava hidrogenacije je formiranje *trans* izomera.

U prisustvu vode esteri masnih kiselina mogu biti hidrolizirani na masne kiseline i alkohole. Ova reakcija poznata je pod nazivom hidroliza a događa se u uvjetima visokog tlaka i temperature u kiselom mediju.

Reakcija koja je suprotna hidrolizi jest esterifikacija. Esterifikacija je reakcija kojom nastaju mono, di i trigliceridi. Iz molekule glicerola odvaja se vodikov atom, a iz molekule masne kiselina hidroksilna skupina. Esterifikacijom nastaje i voda, koju je potrebno ukloniti jer katalizira obrnutu reakciju. Esterifikacija je polagana reakcija, a najčešće se koriste katalizatoru poput ZnCl₂, FeCl₃, SnCl₄, ZnO i dr. (Chow, 2007).

2.1.2. Fizikalna svojstva masnih kiselina

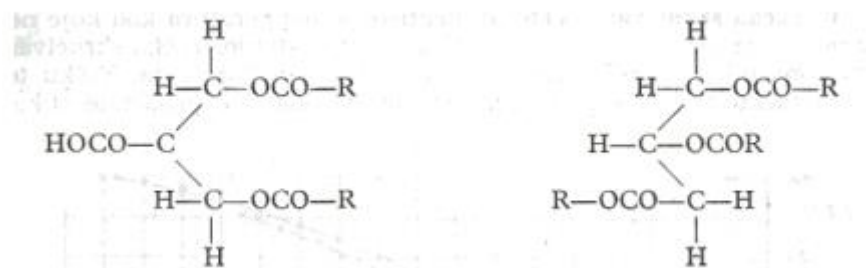
Masne kiseline i njihovi derivati čine veliku skupinu dugo lančanih komponentni koje se razlikuju po duljini lanca i nezasićenosti, što kao rezultat daje kompleksni spektar fizikalnih svojstava. Pod fizikalnim svojstvima masti podrazumijevamo primjerice gustoću, viskoznost, topljivost, vrelište, točku taljenja, točku dimljenja, točku paljenja, točku kapanja, točku očvršćivanja, dilataciju, polimorfizam, indeks loma te površinsku napetost (Škevin, 2016).

Masne kiseline u kiselom, nedisociranom obliku slabo su topljive u vodi dok su

relativno topljive u kalijevim i natrijevim solima. Također masne kiseline dobro su topljive u nepolarnim otapalima. Povećanje topljivosti moguće je snižavanjem pH vrijednosti zato što tada dolazi do formiranja nenabijene karboksilne skupine. Točka taljenja ona je temperatura pri kojoj dolazi do prelaska masti iz čvrstog u tekuće stanje. Točka taljenja masnih kiselina ovisi o njihovoj strukturi. Ona je veća što je veći broj ugljikovih atoma molekuli, a kada uspoređujemo izomere onda veću točku taljenja imaju *trans* izomeri u odnosu na *cis*. Tako na primjer točka taljenja oleinske masne kiseline iznosi 16,3 °C dok je točka topljenja njezinog *trans* izomera, elaidinske masne kiseline, 46,5 °C. Osim toga, razgranati lanci i *cis* dvostruke veze sniziti će točku taljenja u usporedbi s točkom taljenja ekvivalentnih zasićenih lanaca. Točka taljenja neke masne kiseline ovisi i o tome je li lanac paran ili neparan. Neparni lanci imaju više točke taljenja.

Temperatura pri kojoj mast prelazi iz tekućeg u kruto stanje uz oslobađanje latentne topline kristalizacije naziva se točka očvršćivanja. Ona je važna zato što upotpunjuje podatke o konzistenciji masti. Točka kapanja još je jedna od fizikalnih svojstava ulja i masi a definira se kao temperatura pri kojoj se u određenim uvjetima iz masti izdvoji prva kap i padne iz posudice (Sliva i sur., 2020).

Jedno od svojstvo masti je prelazak iz čvrstog u tekuće stanje uz povećanje volumena, a ta pojava se naziva dilatacija masti. Promjena volumena mjeri se u uređaju zvanom dilatometar, a koristi se za određivanje čvrste faze u mastima. Osim toga, specifičnost nekih ulja i masti je pojava polimorfizma. Polimorfizam je pojava kod koje neka tvar postoji u više kristalnih oblika. Polimorfizam kod ulja i masti može se objasniti prisutnošću velikog broja različitih triglicerida unutar pojedine vrste ulja i masti. Osim toga, trigliceridi se u prirodi pojavljuju u dva izomerna oblika, tzv. oblik „vilice“ i oblik „stolice“ (slika 2) i upravo ta različitost u strukturi triglicerida utječe na način formiranja kristalne strukture. Polimorfni oblici razlikuju se u svojim fizikalnim svojstvima i pritom utječu na svojstva proizvoda (npr. margarina, masti) (Ahmad, 2017).



Slika 2. Oblici triglicerida u krutom stanju a) oblik vilice b) oblik stolice (Rac, 1964)

2.2. SASTAV MASNIH KISELINA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

U posljednjih desetak godina mediteranska prehrana dobila je na svojoj važnosti zato što je prepoznata veza između prevencije srčano-krvožilnih bolesti i mediteranske prehrane. U ovom kontekstu, djevičansko maslinovo ulje je primarni izvor masnoće mediteranske prehrane. S kemijskog stajališta, 98,5%-99,5% cjelokupnog sastava djevičanskog maslinovog ulja čini osapunjiva frakcija u koju pripadaju i masne kiseline. Tokoferoli, steroli, skvalen, pigmenti, vitamini (A, D, K) te polifenoli pripadaju neosapunivoj frakciji maslinovog ulja i čine svega 1 – 2 % ulja. Jedan od važnih tokoferola za spomenuti jest i α -tokoferol (vitamin E) kojeg u djevičanskom maslinovom ulju u prosjeku ima 150-330 mg/kg. Studije su pokazale da osim smanjenja rizika krvožilnih bolesti, djevičansko maslinovo ulje ima i antioksidacijska i protuupalna svojstva koja se upravo pripisuju negliceridnim komponentama. Oksidativni stres definiran je kao disbalans između oksidacijskog i antioksidacijskog sistema u tijelu, u korist oksidansa. Oksidativni stres koji nastaje zbog viška slobodnih radikala u tijelu povezan je s razvojem nekolicine bolesti poput kardiovaskularnih i neurodegenerativnih. Djevičansko maslinovo ulje pokazalo se učinkovitim u borbi protiv oksidacijskog stresa koje je povezano s navedenim bolestima kao i s ubrzanim starenjem (Schwingshackl i Hoffman, 2014).

Masne kiseline prisutne u djevičanskom maslinovom ulju su palmitinska (C16:0), palmitoleinska (C16:1), stearinska (C18:0), oleinska (C18:1), linolna (C18:2) i linolenska (C18:3). Miristinska (C14:0), behenska (C22:0) i lignocerinska (C24:0) kiselina nalaze se u tragovima. Od svih masnih kiselina koje pronalazimo u djevičanskom maslinovom ulju, najzastupljenija je mononezasićena oleinska masna kiselina (55-83%). Jedna od esencijalnih masnih kiselina uz linolnu koje u prosjeku bude 3,5%-21% je linolenska čiji udio u ulju ne smije iznositi više od 1% izraženih kao udio od ukupnih masnih kiselina. U prosjeku, DMU sadrži 8%-14% zasićenih masnih kiselina. Zasićene masne kiseline su kemijski stabilnije jer nemaju dvostruke veze koje su podložne oksidaciji. Zbog toga su otpornije na kvarenje i duže zadržavaju svoja svojstva. Mononezasićene masne kiseline, kao što je oleinska kiselina, stabilnije su od polinezasićenih, ali manje stabilne od zasićenih masnih kiselina. Također, ulje s većim brojem zasićenih masnih kiselina će imati višu točku topljenja i veću viskoznost, dok će prisutnost većeg broja nezasićenih masnih kiselina dati nižu točku topljenja i manju viskoznost. Visoki udio oleinske kiseline u djevičanskom maslinovom ulju pruža dobru otpornost na oksidaciju dok održava ulje tekućim na sobnoj temperaturi. Prisustvo manjih količina zasićenih i polinezasićenih masnih kiselina dodatno oblikuje kemijska i fizikalna svojstva, osiguravajući optimalan balans za kulinarske i zdravstvene koristi (Covas i sur, 2009).

Općenito, sastav masnih kiselina djevičanskih maslinovih ulja razlikuje se od sorte do

sorte, a dodano ovisi o geografskoj širini uzgoja maslina, klimatskim uvjetima tijekom rasta, stupnju zrelosti ploda te načinu proizvodnje ulja. Djevičanska maslinova ulja iz Grčke, Španjolske i Italije imaju nizak sadržaj linolne i palmitinske kiseline te visok udjel oleinske masne kiseline. S druge strane, tuniska djevičanska maslinova ulja imaju visok udjel linolne i palmitinske masne kiseline, a niže udjele oleinske. Na temelju analize uzoraka iz raznih zemalja djevičanska maslinova ulja klasificiraju se u dvije vrste: jedna s niskim sadržajem linolne-palmitinske i visokim sadržajem oleinske kiseline, i druga s visokim sadržajem linolne-palmitinske i niskim sadržajem oleinske kiseline (Covas i sur., 2009)

Najzastupljenija mononezasićena masna kiselina u svakodnevnoj prehrani jest oleinska masna kiselina. Oleinska masna kiselina u prehrani zauzima i do 90% od svih mononezasićenih masnih kiselina u prehrani. Jedan od razloga preporuke unošenja u organizam mononezasićenih masnih kiselina jest i prevencija od kardiovaskularnih bolesti. Međutim treba uzeti i u obzir i izvor mononezasićenih masnih kiselina, jer je dokazano da su benefiti vidljivi ukoliko je izvor upravo djevičansko maslinovo ulje. Studije su pokazale da je sveukupni rizik smanjenja svih oblika smrtnosti smanjenjem za 11%, kardiovaskularna smrtnost za 12% te srčani udar za 17% kod osoba koje su u svojoj prehrani koristile mononezasićene masne kiseline porijeklom iz djevičanskog maslinovog ulja (Covas i sur., 2009).

Studije su pokazale da pojedinci koji konzumiraju djevičansko maslinovo ulje imaju značajno niži rizik od razvoja pretilosti i poremećaja rada metabolizma glukoze te niži HDL kolesterol. Osim što je djevičansko maslinovo ulje bogato mononezasićenim masnim kiselinama koje mu daju zdravstvene benefite, važno je spomenuti i ostale bioaktivne spojeve. Polifenol oleuropein i njegovi derivati, koji čine 80% polifenolnog sastava djevičanskog maslinovog ulja imaju značajnu ulogu u borbi protiv slobodnih radikala u organizmu (Frankel, 2011)

2.3. INOVATIVNE TEHNOLOGIJE U PROIZVODNJI DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Djevičansko maslinovo ulje proizvodi se isključivo mehaničkim postupcima, a veliki su naponi uloženi u usavršavanje postupaka proizvodnje. Proizvodnja konvencionalnog djevičanskog maslinovog ulja uključuje sljedeće operacije: pranje plodova i uklanjanje nečistoća, mljevenje, miješenje, izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta te odvajanje ulja od vegetabilne vode nakon čega slijedi dorada, skladištenje i pakiranje ulja (Koprivnjak, 2006). Cilj postupka miješenja je smanjiti viskoznost maslinovog tijesta, povećati iskorištenja te poboljšati nutritivne i senzorske karakteristike. Nedostatak faze miješenja je to što zahtjeva

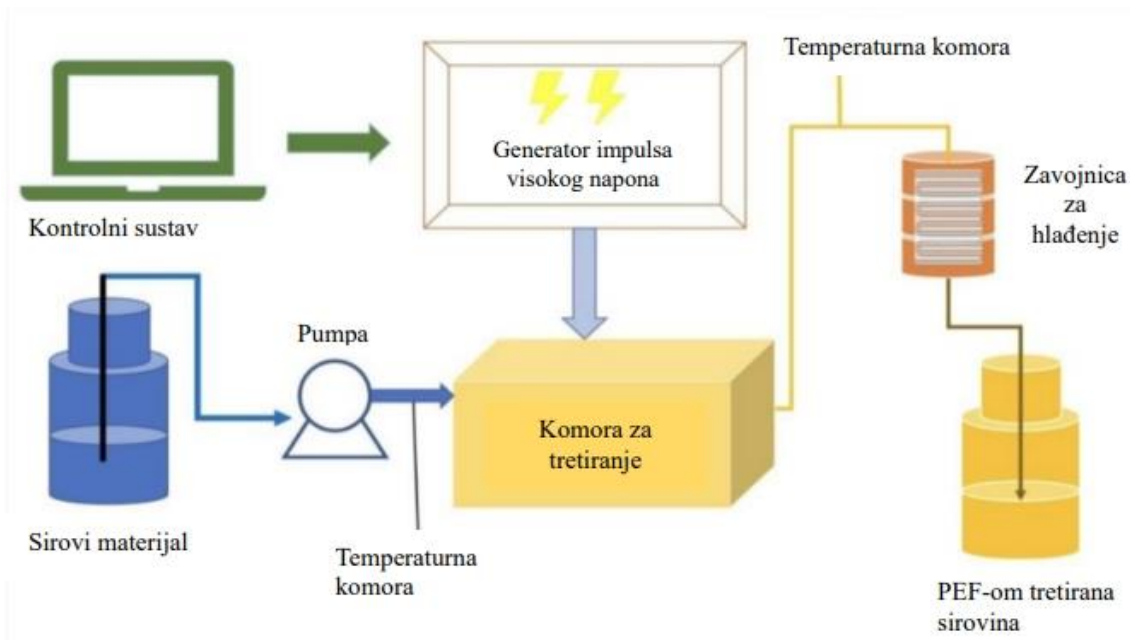
velike vremenske i energetske troškove, stoga se ovaj postupak pokušava skratiti ili u potpunosti zamijenit, kako bi se dobio u potpunosti kontinuirani proces. Iz navedenih razloga, primjenu u proizvodnji DMU pronašle su i inovativne tehnologije (Servili i sur., 2011).

Ono što je zajedničko svim inovativnim tehnologijama jest da se provode pri sobnoj temperaturi ili tek neznatno povišenoj tako da se spriječi oksidacijsko kvarenje koje može biti potaknuto povišenom temperaturom. Neke od inovativnih tehnologija podrazumijevaju korištenje ultrazvuka, pulsirajućeg električnog polja, ubrzanog toplinskog tretmana te mikrovalova.

Primjenom ultrazvuka u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja može se utjecati na iskorištenje procesa, vrijeme, energetske troškove kao i na kvalitetu odnosno sastav ulja. Ultrazvuk narušava cjelovitost stanične stijenke te pospješuje izdvajanje ulja. Korištenje ultrazvuka prilikom ekstrakcije pokazuje se kao potencijalna tehnologija kojom se može ubrzati prijenos topline i tvari. U prehrambenoj industriji korištenje ultrazvuka ima brojne prednosti poput poboljšanja iskorištenja, očuvanja kvalitete proizvoda te ekološka prihvatljivost. Ultrazvučni valovi djeluju na principu dva mehanizma: toplinskog i mehaničkog. Toplinski efekt javlja se kada je kinetička energija ultrazvuka apsorbirana od strane medija koja se potom pretvara u toplinsku energiju. Mehanički efekt nastaje uslijed kavitacijskog fenomena. Kavitacija je formiranje, rast i implozija mjehurića plina uslijed visokog tlaka. Ovaj proces potiče oslobađanje topljivih spojeva iz biljnog tkiva razbijanjem staničnih stijenki i poboljšava prijenos mase također u tkivima masline. S obzirom da prilikom tretiranja ultrazvukom dolazi do blagog povećanja temperature u tijestu provedeni su eksperimenti kako bi se utvrdio utjecaj ultrazvuka na kvalitetu ulja, točnije na njegovu oksidacijsku stabilnost. Upotreba ultrazvuka kao predtretmana miješenja rezultirala je povećanjem oksidacijske stabilnosti djevičanskog maslinovog ulja dobivenog iz hrvatskih autohtonih sorti istarska bjelica i levantinka (Veneziani i sur., 2016).

Tehnologija pulsirajućeg električnog polja (PEP) visokog intenziteta zasniva se na primjeni pluseva napona obično 20-80 kV/cm, na proizvod smješten između dviju elektroda (Abenoza i sur., 2013). Prikaz kontinuiranog PEP uređaja prikazan je na slici 3.

Cijeli proces traje svega nekoliko sekundi, a provodi se pri sobnoj temperaturi, stoga su gubici energije uslijed zagrijavanja minimalni. PEP tretman uzrokuje razvoj pora u staničnim membranama, a stvaranje pora povećava propusnost membrane. Kao rezultat dolazi do gubitka sadržaja stanice. Ovisno o jakosti električnog polja, primjena PEP tretmana može inducirati stres u tkivu, poboljšati prijenos mase ili inaktivirati mikroorganizme (Abenoza i sur., 2013).



Slika 3. Shematski prikaz mogućeg kontinuiranog PEP uređaja koji se koristi za obradu uzoraka hrane (prema Taha i sur., 2022)

Učinci PEP tehnologije ispitivani su u istraživanju Veneziani i sur. (2019) gdje je ispitivanje provedeno na tri različite talijanske sorte maslina. Kod sve tri sorte maslina došlo je do povećanje iskorištenja procesa u rasponu od 2,3 do 6,0 %. Rezultati predstavljeni u tom radu pokazali su da na tehnologiju PEP-a utjecaj ima i sorte i dimenzija plodova masline. U istraživanju Abenoza i sur. (2013), primjena PEP tretmana nije utjecala na senzorska svojstva djevičanskog maslinovog ulja niti na sastav masnih kiselina. Analize su pokazale da nema značajnih razlika u sadržaju zasićenih, nezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina. Međutim, primjena PEP tretmana je rezultirala značajnim povećanjem sadržaja fenolnih spojeva, fitosterola i tokoferola (Martinez-Beamonte i sur., 2022; Veneziani i sur., 2019). U istraživanju (Makovac, 2023) pokazalo se da vrijeme tretiranja i jakost električnog polja, kao i njihova pojedinačna interakcija sa sortom imaju značajan utjecaj na antioksidacijski kapacitet proizvedenog ulja (Taha i sur., 2022).

Ubrzani toplinski tretman (UTT) također se istražuje ako jedna od opcija za unaprijeđenje proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja. Ovaj tretman posebno je zanimljiv u odnosu na ostale inovativne tehnologije, zato što se promjenom temperature tijesta direktno djeluje na aktivnost endogenih enzima. Mijenjajući aktivnost pojedinih enzima, direktno se može utjecati na iskorištenje procesa, nutritivna i senzorska svojstva ulja. (Servili i sur., 2011) Tako je primjerice primjena UTT na tijestu maslina sorte levantika imala značajan utjecaj na aktivnost lipoksigenaze, čija je maksimalna vrijednost zabilježena u ohlađenom tijestu na

15°C. Statističkom obradom dokazano je da postoji značajna veza između temperature i sorte koje djeluju na aktivnost lipoksigenaze (Tokić, 2022). No u literaturi se navodi kako na sastav masnih kiselina više utječe izbor sorte nego ubrzani toplinski tretman (Soldo, 2022).

Mikrovalna ekstrakcija temelji se na zagrijavanju polarnih otapala u kontaktu s krutim uzorcima te odvajanju komponentni uz pomoć energije mikrovalova. Ionska kondukcija se odnosi na kretanje iona, dok se rotacija dipola odnosi na zakretanje polarnih molekula s dielektričnim svojstvima pod utjecajem promjenjivog elektromagnetskog polja (Božac, 2018). Kao posljedica toga, dolazi do razaranja staničnih stjenki u biljnom materijalu te izlaska staničnog sadržaja iz stanice. Zagrijavanje mikrovalovima koristi elektromagnetske valove vrlo visoke frekvencije, najčešće između 915 MHz i 2450 MHz (Lovrić, 2003). Primjena mikrovalova u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja povećava oksidacijsku stabilnost ulja i udio hlapljivih spojeva, dok ne utječe na iskorištenje proizvodnog procesa (Tamborrino i sur., 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

U ovome radu određen je sastav masnih kiselina u uzorcima djevičanskog maslinovog ulja hrvatske autohtone sorte levantinka. Ulje je proizvedeno laboratorijski postupkom centrifugalne ekstrakcije uz primjenu inovativnih tehnologija kao predtretmana fazi miješenja: ubrzanog toplinskog tretmana (UTT), ultrazvuka (UZV) i pulsirajućeg električnog polja (PEP) te njihovih kombinacija. Za svaki od predtretmana inovativnim tehnologijama korišteni su optimalni parametri za sortu levantinku dobiveni u prethodne dvije godine istraživanja - za UTT temperatura hlađenja na 19.5 °C, za UZV vrijeme tretmana 5 min i snaga ultrazvučne kupelji 576 W i za PEP vrijeme tretmana 90 s i jakost električnog polja 2 kV/cm. Ovi postupci provedeni su neposredno nakon mljevenja. Dio uzoraka u kojima su korištene kombinacije inovativnih tehnika proizveden je bez miješenja kako bi se utvrdila mogućnost izostavljanja ove dugotrajne i energetske zahtjevne faze u proizvodnji DMU.

Proizvodnja i izdvajanje djevičanskog maslinovog ulja provedena je kao što je i opisano u završnom radu Makovac (2023). Plodovi maslina se očiste i operu te zatim samelju na mlinu čekićaru koji je dio polu-laboratorijske uljare OLEUM 30 COMPACT (Enotecnica Pillan Oleum 30 Compact, Camisano Vicentino, Italija). Samljeveno tijesto tretira se nekom od inovativnih tehnika (UTT, UZV ili PEP) ili kombinacijom tehnika (UTT+PEP, UTT+UTV, PEP+UZV ili UTT+PEP+UZV). Kontrolni uzorci proizvedeni su bez predtretmana. Tretirano tijesto se prebaci u inoks posude koje se stave u vodenu kupelji Stuart SBS40 (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, SAD) na 27 °C, te se miješenje u trajanju od 40 minuta provodi pomoću miješalice (VELP Scientifica, Usmate, Italija). Nakon provedenog miješenja tijesta, tijesto se centrifugira pri 5000 o/min i sobnoj temperaturi u trajanju od 10 minuta na centrifugi Rotina 380R (Hettich, Tuttlingen, Njemačka) s ciljem odvajanja komine i uljnog mošta. Uzorci bez miješenja proizvedeni su na način da je tijesto odmah po mljevenju i tretmanu centrifugirano te je izdvojen uljni mošt. Uljni mošt se ulije u menzuru, i nakon što se odvoje vodena i uljna faza, uljna faza se prebaci u kivete za centrifugu i dodatno centrifugira pri 5000 o/min u trajanju od 5 minuta na 18 °C. Bistro ulje prebaci se u bučice od tamnog stakla, a prostor iznad ulja u bocama ispuni se dušikom. Uzorci se do analiza čuvaju u mraku na temperaturi od 18 - 22 °C.

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje sastava masnih kiselina

Sastav masnih kiselina određen je prema standardnoj HR EN ISO 12966-2:2017 metodi. Masne kiseline u uzorcima ulja prevode se transesterifikacijom u metilne estere koji se dalje analiziraju plinskom kromatografijom. Za utvrđivanje promjena u koncentraciji pojedinih masnih kiselina, za kvantifikaciju masnih kiselina nije korištena uobičajena metoda normizacije površina, već je korištena metoda internog standarda - otopine metil pentadekanoata u izooktanu ($\gamma = 0,00125$ mg/ml). Za transesterifikaciju korištena je otopina kalijeva hidroksida u metanolu ($c = 2,34$ mol/l), a otopina natrijeva klorida u vodi ($c = 6,85$ mol/l) za lakše odvajanje izooktanskog sloja koji se injektira u plinski kromatograf.

Uzorak ulja (0,1 g) otopi se u 2 mL otopine internog standarda u epruveti od 10 mL. U epruvetu se doda 100 μ L metanolne otopine KOH, zatvori i snažno protrese na vorteksu jednu minutu. Zatim se ostavi dvije minute na sobnoj temperaturi za provedbu reakcije. Nakon isteka vremena, u epruvetu se doda 2 mL otopine NaCl te se kratko protrese. Gornji izooktanski sloj izdvoji se u drugu epruvetu te se doda 1 g bezvodnog natrijeva hidrogen sulfata kako bi se uklonili mogući zaostaci vode. Smjesa se protrese te se bistra otopina izdvoji u vijalicu.

Dobiveni metilni esteri injektiraju se u plinski kromatograf s plameno-ionizacijskim detektorom Agilent Technologies 6890N Network (Agilent, Santa Clara, SAD) prema metodi opisanoj u radu Kraljić i sur. (2018). Za razdvajanje metilnih estera koristi se kapilarna kolona DB-23 (Agilent, 60 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m), uz plin nosioc helij konstantnog protoka 1,4 mL/min. Temperatura injektora i detektora iznosila je 250 °C, uz split 30:1. Temperatura kolone programirana je da raste 7 °C/min od 60 °C do 220 °C na kojoj se zadržava 17 minuta. Masne kiseline identificiraju se usporedbom retencijskih vremena njihovih metilnih estera s retencijskim vremenima metilnih estera iz komercijalnog standarda poznatog sastava (FAME 37, Supelco). Kvantifikacija masnih kiselina provodi se prema formuli 1, a rezultati su izraženi kao miligram masne kiseline po gramu ulja.

$$y(x) = \frac{A_x \cdot \gamma_{is} \cdot V_{is}}{A_{is} \cdot m_{uz}} \quad [1]$$

gdje je:

$y(x)$ – masena koncentracija pojedine masne kiseline (mg/g)

A_x – površina pika masne kiseline

γ_{is} – masena koncentracija internog standarda (mg/ml)

V_{is} – volumen internog standarda (ml)

A_{is} – površina pika internog standarda

m_{uz} - masa uzorka ulja (g)

3.2.2. Statistička obrada podataka

Kako bi se utvrdio utjecaj pojedinog tretmana na sastav masnih kiselina korištena je analiza varijance (1 way ANOVA) s razinom vjerojatnosti 95 % ($p \leq 0,05$) provedena u programu Excel (Microsoft). Također, provedena je i obrada podataka uz analizu varijance (2 way ANOVA) uz 95 %-tnu vjerojatnost ($p \leq 0,05$) kako bi se utvrdilo postoji li razlika između tretmana sa i bez miješanja te njihova interakcija s kombinacijama inovativnih tehnologija.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je utvrditi kako uvođenje inovativnih tehnologija (ubrzani toplinski tretman – UTT, ultrazvuk – UZV i pulsirajuće električno polje – PEP) u proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja utječe na sastav masnih kiselina, mogu li se kombinirati uz miješenje ili ga pak potpuno zamijeniti. Prilikom primjene inovativnih tehnologija od posebne je važnosti bilo odrediti procesne parametre. Optimiranje procesnih parametara bitno je kako bismo mogli proizvesti više ulja bolje oksidacijske stabilnosti i više nutritivne vrijednosti. Optimalni uvjeti za svaku od korištenih inovativnih tehnika korištenih u ovom radu (UTT, UZV i PEP) određeni su na temelju rezultata dobivenih u prve dvije godine istraživanja projekta „Utjecaj inovativnih tehnologija na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja iz hrvatskih autohtonih sorti maslina“ u sklopu kojeg je izrađen i ovaj završni rad.

Općenito inovativne tehnologije pronašle su svoje mjesto u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja zato što nam mogu dati veće iskorištenje i bolje senzorske karakteristike. Tako je primjerice svrha primjene UTT-a olakšano izdvajanje hlapljivih komponenti i razvijanje poželjnijih senzorskih karakteristika. Primjena UZV-a je korisna zbog toga što se skraćuje proces miješenja i povećava iskorištenje postupka proizvodnje. Svrha PEP-a jest povećanje poroznosti stanične stijenke i lakše oslobađanje ulja iz stanice (Abenoza i sur., 2013). Dosadašnjim je istraživanjima dokazano kako se parametri kvalitete ulja i senzorska svojstva te koncentracija bioaktivnih spojeva općenito poboljšavaju nakon ekstrakcijskog procesa potpomognutog inovativnim tehnologijama, ali stupanj poboljšanja ovisi o korištenoj tehnologiji i uvjetima procesa (Perez i sur., 2021). Osim toga, u dostupnoj literaturi (Taha i sur., 2022) također je dokazano kako veliku važnost u uspješnosti primjene inovativnih tehnologija značajnu ulogu igra sorta masline. U ovom završnom radu istraživanje je provedeno na uljima autohtone dalmatinske sorte levantinka.

Sastav masnih kiselina u ovome istraživanju određen je kao koncentracija svake pojedine masne kiseline (mg/g), zbog veće preciznosti koju nam takva metoda pruža. Naime, uobičajeno prikazivanje sastava masnih kiselina kao postotak od ukupnih mogao bi nas navesti na pogrešne zaključke. Ukoliko bi primjerice udio neke masne kiseline bio smanjen kao posljedica pojedinog predtretmana, to bi automatski u izračunu uzrokovalo porast udjela ostalih masnih kiselina što može, ali i ne mora biti točno. Računanje koncentracija masne kiseline kako je i navedeno u formuli 1 daje nam pouzdanije zaključke.

Rezultati koncentracija masnih kiselina djevičanskih maslinovih ulja sorte levantinka provedenih bez i sa predtretmanom UTT-a, UZV-a i PEP-a prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Koncentracija masnih kiselina (mg/g) djevičanskih maslinovih ulja sorte levantinka proizvedenih bez (Kontrola) te uz predtretman ubrzanim toplinskim tretmanom (UTT), ultrazvukom (UZV) i pulsirajućim električnim poljem (PEP)

Masna kiselina	Kontrola	UTT	UZV	PEP
C16:0*	128,2 ± 2,5	124,7 ± 1,1	127,5 ± 1,7	124,8 ± 1,3
C16:1*	6,4 ± 0,3	6,1 ± 0,1	6,7 ± 0,1	6,6 ± 0,1
C17:0*	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	n.d.*	n.d.*
C17:1	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
C18:0*	28,5 ± 0,6	27,5 ± 0,3	28,1 ± 0,8	26,5 ± 0,3
C18:1*	754,1 ± 10,5	736,7 ± 7,0	730,1 ± 9,2	715,3 ± 8,8
C18:2*	70,4 ± 3,6	66,7 ± 0,6	76,0 ± 1,2	73,3 ± 0,8
C18:3*	7,1 ± 0,2	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,8 ± 0,1
C20:0*	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,0	5,0 ± 0,1	4,8 ± 0,1
C20:1*	3,4 ± 0,0	3,3 ± 0,0	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,1
C22:0*	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,3 ± 0,0
C22:1*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	0,3 ± 0,1

*nije detektirano; * primjena inovativnih tehnologija ima značajan utjecaj na koncentraciju masne kiseline ($p \leq 0.05$)

Sastav masnih kiselina proizvedenih djevičanskih maslinovih ulja iz sorte levantinka u potpunosti je u skladu s granicama definiranim u Delegiranoj uredbi Komisije (EU) 2022/2104 (u danjem tekstu Uredba, 2022). Proizvedena ulja sadrže vrlo visoki udjel oleinske masne kiseline (u prosjeku 73,5 %), a slijede je palmitinska (12,7 %), linolna (7,2 %) te stearinska masna kiselina (2,8 %). Sve ostale masne kiseline zastupljene su u udjelu manjem od 1 %. Uspoređujući ove rezultate s ranije objavljenim rezultatima sastava masnih kiselina ulja proizvedenih iz sorte levantinka (Soldo, 2022) vidljivo je kako proizvedena ulja sadrže nešto niže udjele oleinske i linolne masne kiseline te nešto viši udjel stearinske masne kiseline. Navedene razlike mogu se pripisati razlikama u klimatskim uvjetima tijekom različitih godina uzgoja.

Korištenje inovativnih tehnologija kao predtretmana miješenju u proizvodnji djevičanskih maslinovih ulja statistički značajno je utjecalo na koncentraciju svih masnih kiselina osim na heptadecensku masnu kiselinu (C17:1). Koncentracija oleinske masne kiseline značajno je niža svim uzorcima proizvedenim uz predtretman u odnosu na kontrolni uzorak, a isti se trend uočava i kod palmitinske, steariske, linolenske, arahinske, eikozenske i behenske masne kiseline. Linolna masna kiselina ne slijedi taj trend već se može uočiti

smanjenje njezine koncentracije primjenom UTT-a, a porast nakon UZV i PEP predtretmana. UTT je proveden pri temperaturi od 19,5 °C, i uspoređujući rezultate s ranije objavljenim (Soldo, 2022) vidljivo je da je također došlo do blagog smanjenja koncentracije linolne masne kiseline. Korištena temperatura mogla je pozitivno utjecati na aktivnost lipoksigenaze, enzima koji katalizira reakciju pretvorbe linolne kiseline u hlapljive spojeve (Clodoveo, 2012). S druge strane, povećanje koncentracije linolne kiseline kod UZV i PEP-a vjerojatno se može pripisati smanjenju aktivnosti lipoksigenaze. Kraljić i sur. (2023) objavili su kako više snage UZV-a negativno utječu na aktivnost lipoksigenaze. Smanjenje koncentracije ostalih masnih kiselina primjenom UZV može se pripisati pojavi kavitacije, a posljedično i do mikrokavitacije koja može uzrokovati i oksidaciju masnih kiselina (Jimnez i sur., 2007).

Najveći pad koncentracije oleinske i linolenske masne kiseline vidljiv je kod primjene PEP-a u proizvodnji. Razlog tome mogao bi se pronaći u djelovanju PEP-a direktno na molekule masnih kiselina (desaturacija kod zasićenih masnih kiselina i oksidacija kod polinezasićenih masnih kiselina) ali i na hidrolizu triglicerida te formiranje slobodnih masnih kiselina (Mohmad i sur., 2020). Slobodne masne kiseline koje nastaju hidrolizom, a s obzirom na sastav istraživanog ulja to je primarno oleinska, ne mogu se metilirati i odrediti metodom korištenom u ovom istraživanju što bi moglo objasniti niže koncentracije navedene masne kiseline.

Ovi rezultati nisu u skladu s ranijim istraživanjima primijenjenih inovativnih tehnika na sastav masnih kiselina djevičanskih maslinovih ulja. Esposto i sur. (2013) nisu utvrdili nikakve značajne razlike u sastavu masnih kiselina korištenjem UTT-a, a Bejaoui i sur. (2018) korištenjem UZV-a, dok su Martínez-Beamonte i sur. (2022) u svom su istraživanju utjecaja PEP-a utvrdili minimalne promjene u kemijskom sastavu.

U tablici 2 prikazan je sastav masnih kiselina djevičanskih maslinovih ulja proizvedenih primjenom kombinacija tretmana inovativnih tehnologija uz miješenje. Statistički značajan utjecaj vidljiv je kod svih masnih kiselina. Takvi rezultati su očekivani s obzirom na to da svaka primijenjena tehnika posjeduje svoj mehanizam djelovanja. Iz rezultata je vidljivo kako PEP i u kombinaciji s UTT-om i u kombinaciji s UZV-om značajno utječe na smanjenje koncentracije oleinske, linolenske, palmitinske i stearinske masne kiseline. Ti rezultati slični su kao i oni koji su dobiveni primjenom PEP-a kao zasebnog tretmana. Osim toga, u svim uzorcima u kojima je korišten PEP u kombinaciji s ostalim tehnikama zamijećena je viša koncentracija linolne masne kiseline. Iz tih rezultata moglo bi se zaključiti kako PEP ima najjače djelovanje na sastav masnih kiselina od sve tri korištene tehnike. Uzorak proizveden uz kombinaciju UTT i UZV predtretmana ima sastav masnih kiselina koji je najbliži kontrolnom uzorku (tablica 1). Najveća razlika između ta dva uzorka očituje se u nižoj koncentraciji linolne kiseline, što se može pripisati povećanoj aktivnosti lipoksigenaze zbog niže temperature tijesta. Vjerojatno je

niža temperatura tijesta koje je nakon toga podvrgnuto UZV tretmanu umanjila njegov utjecaj i na ostale masne kiseline.

Tablica 2. Koncentracija masnih kiselina (mg/g) djevičanskih maslinovih ulja sorte levantinka proizvedenih uz miješenje te kombinaciju UTT (ubrzani toplinski tretman), UZV (ultrazvuk) i PEP (pulsirajuće električno polje) predtretmana

Masna kiselina(mg/g)	UTT+PEP	UTT+UZV	PEP+UZV	UTT+PEP+UZV
C16:0 [‡]	127,8 ± 1,0	128,1 ± 0,8	125,8 ± 0,8	129,7 ± 0,6
C16:1 [‡]	6,7 ± 0,0	6,3 ± 0,0	6,3 ± 0,1	6,7 ± 0,0
C17:0 [‡]	n.d.*	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,7 ± 0,0
C17:1 [‡]	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	n.d.*
C18:0 [‡]	27,1 ± 0,2	27,9 ± 0,2	27,0 ± 0,2	28,0 ± 0,6
C18:1 [‡]	727,3 ± 6,9	751,3 ± 4,6	721,4 ± 9,6	749,3 ± 7,2
C18:2 [‡]	75,5 ± 0,9	68,6 ± 0,4	70,5 ± 1,3	74,3 ± 0,7
C18:3 [‡]	6,9 ± 0,1	7,0 ± 0,1	6,7 ± 0,1	7,1 ± 0,1
C20:0 [‡]	4,9 ± 0,0	5,1 ± 0,0	4,8 ± 0,1	5,1 ± 0,1
C20:1 [‡]	3,2 ± 0,0	3,4 ± 0,0	3,2 ± 0,1	3,3 ± 0,0
C22:0 [‡]	1,4 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,4 ± 0,0
C22:1 [‡]	0,8 ± 0,0	n.d.*	0,6 ± 0,5	n.d.*

*nije detektirano; [‡] kombinacija inovativnih tehnologija ima značajan utjecaj na koncentraciju masne kiseline ($p \leq 0.05$)

Jedan od ciljeva bio je utvrditi mogućnost zamjene faze miješenja kombinacijom istraživanih inovativnih tehnologija. Stoga je ulje proizvedeno izostavljajući fazu miješenja te je tijesto odmah po tretmanima podvrgnuo izdvajanju ulja. Rezultati sastava masnih kiselina tako proizvedenih tijesta prikazani su u tablici 3. Statistička je obrada podataka pokazala kako faza miješenja ima utjecaj na sve masne kiseline osim na heptadekansku, linolnu i linolensku masnu kiselinu ($p \leq 0,05$). S druge strane, interakcija upotrjebljenih tehnika i miješenja nije utjecala samo na koncentraciju heptadekanske masne kiseline ($p > 0,05$). Najznačajnije razlike u sastavu masnih kiselina ipak su vidljive na koncentraciji oleinske masne kiseline, posebno u kombinaciji PEP-a s druge dvije tehnike. Ti uzorci (UTT+PEP, PEP+UZV i UTT+PEP+UZV) pokazuju značajno više koncentracije oleinske od istih uzoraka proizvedenih s miješenjem. Očekivano je da će uvjeti tijekom miješenja (prisutnost vode, temperatura od 27 °C i produženo vrijeme) pospješiti hidrolizu indiciranu PEP-om te da će nakon miješenja ti uzorci

imati manje koncentracije oleinske masne kiseline.

Tablica 3. Koncentracija masnih kiselina (mg/g) djevičanskih maslinovih ulja sorte levantinka proizvedenih uz kombinaciju UTT (ubrzani toplinski tretman), UZV (ultrazvuk) i PEP (pulsirajuće električno polje) predtretmana ali bez miješenja

Masna kiselina(mg/g)	UTT+PEP	UTT+UZV	PEP+UZV	UTT+PEP+UZV
C16:0 ^{¥,£,§}	127,9 ± 1,5	127,3 ± 0,8	131,1 ± 1,1	131,4 ± 3,5
C16:1 ^{¥,£,§}	6,5 ± 0,1	6,2 ± 0,1	6,9 ± 0,3	6,9 ± 0,4
C17:0 [¥]	n.d.*	0,5 ± 0,0	n.d.*	n.d.*
C17:1 ^{¥,£,§}	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
C18:0 ^{¥,£,§}	27,3 ± 0,4	28,4 ± 0,5	28,2 ± 0,3	28,7 ± 0,4
C18:1 ^{¥,£,§}	738,8 ± 9,6	751,5 ± 5,3	755,4 ± 6,6	760,8 ± 14,5
C18:2 ^{¥,§}	71,2 ± 1,8	67,2 ± 0,7	75,3 ± 2,1	74,8 ± 3,8
C18:3 ^{¥,§}	6,9 ± 0,1	6,9 ± 0,2	7,0 ± 0,1	7,1 ± 0,1
C20:0 ^{¥,£,§}	5,0 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,2 ± 0,0
C20:1 ^{¥,£,§}	3,3 ± 0,0	3,3 ± 0,0	3,3 ± 0,0	3,3 ± 0,0
C22:0 ^{¥,£,§}	1,4 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0
C22:1 ^{¥,£,§}	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*

*nije detektirano; [¥] kombinacija inovativnih tehnologija ima značajan utjecaj na koncentraciju masne kiseline ($p \leq 0.05$); [£] miješenje ima značajan utjecaj na koncentraciju masne kiseline ($p \leq 0.05$); [§] interakcija inovativnih tehnologija i miješenja ima značajan utjecaj na koncentraciju masne kiseline ($p \leq 0.05$)

Svi uzorci bez miješenja imaju više koncentracije stearinske masne kiseline u odnosu na uzorke proizvedene s miješenjem. Zanimljivo je kako upravo na esencijalne masne kiseline (linolnu i linolensku) miješenje nema značajan utjecaj. To znači da prilikom miješenja tijesta, iako dolazi do blagog povećanja temperature, ona ipak nema utjecaj na oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina djevičanskog maslinovog ulja.

5. ZAKLJUČCI

1. Djevičansko maslinovo ulje proizvedeno iz autohtone hrvatske sorte levantinka karakterizira visoki udjel oleinske masne kiseline te niži udjel linolne masne kiseline.
2. Uvođenje inovativnih tehnologija (ubrzanog toplinskog tretmana, ultrazvuka i pulsirajućeg električnog poja) značajno utječe na sastav masnih kiselina. Koncentracije oleinske palmitinske, stearinske, linolenske, arahinske, eikozenske i behenske masne kiseline značajno su niže u svim uzorcima proizvedenim uz predtretmane u odnosu na kontrolni uzorak. Koncentracija linolne masne kiseline niže je nakon UTT-a, a viša nakon UZV i PEP predtretmana vjerojatno zbog utjecaja inovativnih tehnologija na aktivnost lipoksigenaze.
3. Kombinacija istraživanih predtretmana inovativnih tehnologija značajno je utjecala na koncentracije svih masnih kiselina, a rezultati pokazuju kako upravo pulsirajuće električno polje ima najjače djelovanje od sva tri korištena predtretmana.
4. Faza miješenja ima značajan utjecaj na koncentracije svih masnih kiselina osim na heptadekansku, linolnu i linolensku masnu kiselinu.

6. POPIS LITERATURE

Abenoza M, Benito M, Saldaña G, Álvarez I, Raso J, Sánchez-Gimeno AC (2013) Effects of pulsed electric field on yield extraction and quality of olive oil. *Food Bioproc Tech* **6**, 1367-1373. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0817-6>

Ahmad MU (2017) *Fatty acids: Chemistry, synthesis, and applications*, AOCS press, Champaign.

Bejaoui MA, Sánchez-Ortiz A, Aguilera MP, Ruiz-Moreno MJ, Sánchez S, Jiménez A, Beltrán G (2018). High power ultrasound frequency for olive paste conditioning: Effect on the virgin olive oil bioactive compounds and sensorial characteristics. *Innov Food Sci Emerg Technol* **47**, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.002>

Božac N (2018) Nove tehnologije izolacije fenolnih spojeva iz komine maslina (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Chow CK (2007) *Fatty acids in foods and their health implications*, 3. izd, CRC press, Boca Raton.

Clodoveo ML (2012) Malaxation: Influence on Virgin Olive Oil Quality. Past, Present and Future – An Overview. *Trends Food Sci Technol* **25**, 13 - 23. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2011.11.004>.

Covas MI, Konstantinidou V, Fitó M (2009) Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol* **54**, 477-482. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181c5e7fd>

Delegirana uredba Komisije (EU) 2022/2104 od 29. srpnja 2022. o dopuni Uredbe (EU) br. 1308/2013 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu tržišnih standarda za maslinovo ulje i o stavljanju izvan snage Uredbe Komisije (EEZ) br. 2568/91 i Provedbene uredbe Komisije (EU) br. 29/2012

DeMan JM (1992) Chemical and physical properties of fatty acids. U: Chow CK (ured.) *Fatty acids in foods and their health implications*, CRC press, Boca Raton, str.17-45.

Esposito S, Veneziani G, Taticchi A, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I, Sordini B, Minnocci A, Sebastian 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. <https://doi.org/10.1021/jf400037v>

Frankel EN (2011) Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. *J Agric Food Chem* **59**, 785-792. <https://doi.org/10.1021/jf103813t>

HRN EN ISO 12966-2:2017 Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom – 2. dio: Priprava metilnih estera masnih kiselina.

Jiménez A, Beltrán G, Uceda M (2007) High-power ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics. *Ultrason sonochem* **14**, 725-731. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.12.006>

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, MIH, Poreč.

Kraljić K, Balbino S, Filipan K, Herceg Z, Ivanov M, Vukušić Pavičić T, Stuparević I, Pavlić K, Škevin D (2023). Innovative Approaches to Enhance Activity of Endogenous Olive Enzymes - A Model System Experiment: Part I—Thermal Techniques. *Processes* **11**, 1194. <https://doi.org/10.3390/pr11041194>

Kraljić K, Stjepanović T, Obranović M, Pospišil M, Balbino S, Škevin D (2018) Influence of conditioning temperature on the quality, nutritional properties and volatile profile of virgin rapeseed oil. *Food Tech Biotech* **56**, 562-572. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.04.18.5738>

Lovrić T (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 262-274.

Makovac E (2023) Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na antioksidacijski kapacitet hrvatskih djevičanskih maslinovih ulja (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Martínez-Beamonte R, Ripalda M, Herrero-Continente T, Barranquero C, Dávalos A, Lopez de las Hazas MC, Sanchez-Gimeno AC, Raso J, Arnal C, Surra JC, Osada J, Navarro MA (2022) Pulsed electric field increases the extraction yield of extra virgin olive oil without loss of its biological properties. *Front Nutr* **9**, 1065543. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1065543>

Mohamad A, Shah NNAK, Sulaiman A, Adzahan NM, Aadil RM (2020) Impact of the pulsed electric field on physicochemical properties, fatty acid profiling, and metal migration of goat milk. *J Food Process Pres* **44**, 114940. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14940>

Oštrić Matijašević B, Turkulov J (1980) Tehnologija ulja i masti, I. dio. Tehnološki fakultet, Novi Sad, str. 149-155.

Pérez M, López-Yerena A, Lozano-Castellón J, Olmo-Cunillera A, Lamuela-Raventós RM, Martín-Belloso O, Vallverdú-Queralt A (2021). Impact of emerging technologies on virgin olive oil processing, consumer acceptance, and the valorization of olive mill wastes. *Antioxidants* **10**, 417. <https://doi.org/10.3390/antiox10030417>

Rac M (1964) Ulja i masti, Poslovno udruženje proizvođača biljnih ulja, Beograd.

Schwingshackl L, Hoffmann G (2014) Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids Health Dis* **13**, 1-15. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-154>

Servili M, Esposto S, Taticchi A, Urbani S, Selvaggini R, Di Maio I, Veneziani G (2011) Innovation in extraction technology for improved virgin olive oil quality and by-product valorisation. *Acta Hort* **888**, 303-16. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.888.35>

Sliva P, Mandić M, Krković J, Raljević J, Pierobon A, Serdar S, Bošnjir J (2020) Istraživanje utjecaja temperature na promjenu kvalitete maslinovog ulja. *J Appl Health Sci* **6**, 249 - 259. <https://doi.org/10.24141/1/6/2/7>

Soldo A (2022) Sastav masnih kiselina djevičanskog maslinovog ulja proizvedenog uz ubrzani toplinski tretman (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Škevin D (2016) Kemija i tehnologija ulja i masti (interna skripta), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 17-20, 25-46.

Taha A, Casanova F, Šimonis P, Stankevič V, Gomaa MAE, Stirké A (2022) Pulsed electric field: fundamentals and effects on the structural and techno-functional properties of dairy and plant proteins. *Foods* **11**, 1556. <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/11/1556>

Tamborrino A, Romaniello R, Zagaria R, Leone A (2014) Microwave-assisted treatment for continuous olive paste conditioning: Impact on olive oil quality and yield. *Biosyst Eng* **127**, 92-102. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2014.08.015>

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

Veneziani G, Esposto S, Taticchi A, Selvaggini R, Sordini B, Lorefice A, Daidone L, Pagano M, Tomasone R, Servili M (2019) Extra-virgin olive oil extracted using pulsed electric field

technology: Cultivar impact on oil yield and quality. *Front Nutr* **6**, 134.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00134>

Veneziani G, Sordini B, Taticchi A, Esposto S, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I, Servilli 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

Wanasundara PKJPD, Shahidi F (2005) *Antioxidants: science, technology, and applications*. U: Shahidi F (ured.) *Bailey's industrial oil and fat products*, John Wiley & Sons, Ltd., Oxford.

Izjava o izvornosti

Ja Mia Roščić 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