

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

**Jerko Hrboka
0058218016**

**PRAĆENJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI DJEVIČANSKOG MASLINOVOG
ULJA, IZ SORTE LEVANTINKA, PROIZVEDENOG UZ KOMBINACIJU
INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA**

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: prof. dr. sc. Dubravka Škevin

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Praćenje oksidacijske stabilnosti djevičanskog maslinovog ulja iz sorte levantinka
proizvedenog uz primjenu inovativnih tehnologija
Jerko Hrboka, 0058218016**

Sažetak:

Primjena inovativnih tehnologija ima potencijal za rješavanje postojećih problema proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja (DMU), no važno je utvrditi njihov utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja. Cilj ovog rada bio je ispitati kako ubrzani toplinski tretman (UTT), ultrazvuk (UZV), pulsirajuće električno polje (PEP) te njihove kombinacije uz i bez procesa miješenja, utječu na oksidacijsku stabilnost DMU iz sorte levantinke, primjenom diferencijalne motridbene kalorimetrije (DSC). Kombinacija UTT i UZV, uz miješenje, daje DMU veće oksidacijske stabilnosti od kontrolnog i od konvencionalno proizvedenog DMU. Kombinacija UTT i PEP, bez miješenja, daje ulje bolje oksidacijske stabilnosti od onog proizvedenog istom kombinacijom predtretmana uz miješenje. Ta kombinacija stoga pokazuje potencijal da zamijeni miješenje u proizvodnji DMU iz levantinke. Primjena UTT, UZV i PEP i njihovih kombinacija ima visoko statistički značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost DMU iz levantinke.

Ključne riječi: djevičansko maslinovo ulje, oksidacijska stabilnost, inovativne tehnologije, miješenje, diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC)

Rad sadrži: 27 stranica, 3 slike, 4 tablice, 35 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: prof. dr. sc. Dubravka Škevin

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

Oxidative stability of virgin olive oil from Levantinka produced with innovative techniques

Jerko Hrboka, 0058218016

Abstract:

Innovative technologies can solve the existing problems in VOO production, but how they affect the oxidative stability of VOO needs to be investigated. In this study, the effects of flash thermal treatment (FTT), ultrasound (US) and pulsed electric field (PEF) with and without malaxation on the oxidative stability of VOO from Levantinka variety were investigated by differential scanning calorimetry (DSC).

VOO obtained by the combination of FTT and US with malaxation showed higher oxidative stability than the control sample and the conventionally prepared sample. The combination of FTT and PEF without malaxation yielded VOO with higher oxidative stability than the VOO prepared with the same combination with malaxation. This shows that malaxation can possibly be replaced in the production of VOO from the Levantinka cultivar. The introduction of FTT, US, PEF and their combinations as malaxation pretreatment has a very high significant effect on the oxidative stability of Levantinka VOO.

Keywords: virgin olive oil, oxidative stability, innovative technologies, malaxation, differential scanning calorimetry (DSC)

Thesis contains: 27 pages, 3 figures, 4 tables, 35 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: Dubravka Škevin, PhD, Full 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 OKSIDACIJSKA STABILNOST DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	2
2.1.1 ANTIOKSIDANSI.....	2
2.1.2 PROOKSIDANSI	3
2.1.3 AUTOOKSIDACIJA.....	3
2.2. UTJECAJ SORTE NA OKSIDACIJSKU STABILNOST DMU.....	4
2.2.1 LEVANTINKA	5
2.3.1 SASTAV MASNIH KISELINA	6
2.3.2 TOKOFEROLI	6
2.3.3 FENOLNI SPOJEVI.....	7
2.3.4 FOSFOLIPIDI.....	7
2.3.5 KLOROFIL	8
2.3.6 KAROTENOIDI	8
2.3.7 STEROLI.....	8
2.3.8. SKVALEN	8
2.4 METODE ZA ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI.....	9
2.4.1 TEST ODREĐIVANJA INDEKSA ODRŽIVOSTI ULJA ILI RANCIMAT TEST	9
2.4.2 DIFERENCIJALNA MOTRIDBENA KALORIMETRIJA (DSC).....	9
2.5 PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	10
2.5.1 ČIŠĆENJE I PRANJE	10
2.5.2 MLJEVENJE.....	10
2.5.3 MIJEŠENJE	11
2.5.4 PROCESI IZDVAJANJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	12
2.6 PROBLEMI SUVREMENE PROIZVODNJE I POTENCIJAL INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA KAO RJEŠENJA.....	12
2.6.1 UBRZANI TOPLINSKI TRETMAN (UTT).....	13
2.6.2 ULTRAZVUK (UZV).....	14
2.6.3 PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE (PEP).....	14

3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1 MATERIJALI	15
3.2 METODE	15
3.2.1. POSTUPAK LABORATORIJSKE PROIZVODNJE DMU UZ PRIMJENU INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA ILI NJIHOVE KOMBINACIJE KAO PREDTRETMANA PROCESU MIJEŠENJA.....	15
3.2.2 ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI DMU	17
3.2.3 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	17
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
5. ZAKLJUČCI.....	24
6. POPIS LITERATURE	25

1. UVOD

Oksidacija lipida predstavlja glavni uzrok kvarenja u jestivim uljima budući da uzrokuje degradaciju kvalitete te pogoduje gubitku nutritivne vrijednosti ulja. Oksidacijska stabilnost može se definirati kao otpornost ulja na reakcije oksidacije tijekom prerade i skladištenja. Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja važno je kako bi se unaprijed mogao definirati rok trajanja ulja. Djevičansko maslinovo ulje (DMU) karakterizira visoka otpornost na oksidacijsko kvarenje zbog povoljnog sastava masnih kiselina s niskim sadržajem višestrukonezasićenih masnih kiselina te visokim udjelom stabilne jednostrukonezasićene oleinske masne kiseline (18:1, ω -9). Jednako značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja imaju i mnogi biološki aktivni spojevi poput tokoferola, sterola, fosfolipida i fenolnih tvari koji pokazuju antioksidacijsko djelovanje te time usporavaju reakcije oksidacije. Za razliku od drugih biljnih ulja, DMU ne prolazi procese rafinacije te tako zadržava svoj intenzivan miris, karakterističnu pikantnost te gorčinu uvjetovanu fenolima i hlapljivim spojevima. S druge strane, prooksidansi (poput kisika ili povišene temperature) djeluju drugačije od antioksidansa te oni ubrzavaju procese oksidacije. Kako bi se proizvelo zdravstveno ispravno ulje visoke kvalitete, ključno je pravilno provesti sve procese prerade. Proces miješenja ima ključnu ulogu jer tijekom miješenja dolazi do značajnih kemijskih promjena zbog katalitičke aktivnosti različitih enzima (oslobođenih u procesu mljevenja) koji pritom oblikuju senzorsku i nutritivnu vrijednost ulja te određuju njegovu oksidacijsku stabilnost. Postoje različite metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja, a one se najčešće temelje na namjerno izazvanoj ubrzanoj reakciji oksidacije pod utjecajem povišene temperature. U novije vrijeme sve se više koristi diferencijalna motridbena kalorimetrija (eng. Differential scanning calorimetry – DSC) koja se osim za određivanje oksidacijske stabilnosti može koristiti i za provjeru autentičnosti ulja. Suvremeni sustavi proizvodnje DMU i dalje nisu uspjeli pronaći rješenje postojećih glavnih problema proizvodnje. Iskorak u potrazi za rješenjem, pronalazi se u primjeni inovativnih tehnologija poput ubrzanog toplinskog tretmana (UTT), ultrazvuka (UZV) i pulsirajućeg električnog polja (PEP). Cilj ovog rada bio je ispitati kako primjena UTT, UZV i PEP te njihovih kombinacija uz i bez procesa miješenja, utječe na oksidacijsku stabilnost DMU iz sorte levantinke primjenom DSC metode.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 OKSIDACIJSKA STABILNOST DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Oksidacijska stabilnost ili održivost ulja predstavlja vrijeme kroz koje se ulja mogu sačuvati od oksidacijskih procesa. Upravo oksidacijski procesi predstavljaju ključni problem u jestivim uljima jer uzrokuju degradaciju kvalitete ulja te dovode do negativnih kemijskih, senzorskih i nutritivnih promjena. Stoga je poznavanje oksidacijske stabilnosti pojedinog ulja važna stavka u definiranju roka trajanja i uporabe te određivanju vremena unutar kojeg će kvaliteta ulja ostati nenarušena. Hoće li procesi oksidacijske prirode nastupiti brže ili sporije ovisi o kemijskom sastavu ulja, uvjetima skladištenja te prisutnosti sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju oksidacijske reakcije (Moslavac i suradnici, 2009).

Djevičansko maslinovo ulje posjeduje izuzetno dobar kemijski sastav koji daje znatan doprinos njegovoj oksidacijskoj stabilnosti. DMU svoju visoku oksidacijsku stabilnost duguje, prije svega, sastavu masnih kiselina, odnosno visokom omjeru jednostrukonezasićenih i višestrukonezasićenih masnih kiselina (Velasco i Dobarganes, 2002). Ono sadrži visok udio jednostrukonezasićene oleinske masne kiseline (18:1, ω -9) koja je manje podložna oksidaciji od višestrukonezasićenih masnih kiselina. U DMU se nalazi i optimalan omjer α -tokoferola i linolne masne kiseline, koji omogućuje zaštitu višestrukonezasićenih masnih kiselina od oksidacije. Veliki doprinos ukupnoj oksidacijskoj stabilnosti daju skupine manjih spojeva, izraženih antioksidacijskih svojstava, poput tokoferola, fosfolipida, sterola, no najveći doprinos daju fenolne tvari koje su ujedno i njegovi najsnažniji antioksidansi (Škevin, 2016b).

2.1.1 ANTIOKSIDANSI

Antioksidansi se mogu definirati kao prirodni ili sintetski spojevi koji svojim djelovanjem usporavaju procese oksidacije. U djevičanskom maslinovom ulju, antioksidacijska svojstva pokazuju različiti fenolni spojevi (poput polifenola ili oleuropeina), tokoferoli (poput vitamina E), steroli i drugi (Žanetić i Gugić, 2005).

Antioksidansi koji svoj aktivni vodikov atom otpuštaju i predaju slobodnom aktiviranom radikalu masne kiseline ili peroksida nazivaju se primarnim antioksidansima. Među najpoznatije prirodne antioksidanse spadaju tokoferoli, fenoli i ekstrakti ružmarina, dok su među sintetskim primarnim antioksidansima to butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT) i galati. Nadalje, antioksidansi koji svoj aktivni vodikov atom predaju primarnom antioksidansu te ga na taj način obnavljaju, nazivaju se sekundarnim antioksidansima. Poznati prirodni sekundarni antioksidansi su fosfolipidi te skvalen dok je od sintetskih sekundarnih antioksidansa poznata limunska kiselina (Škevin, 2016a).

2.1.2 PROOKSIDANSI

S druge strane, prooksidansi su tvari ili pojave koje potiču i ubrzavaju oksidacijsko kvarenje ulja. Među prooksidanse u DMU spadaju kisik, temperatura, svjetlost, ionizacijsko zračenje, prisutnost metala (poput bakra i željeza) te enzimi (peroksidaze) (Škevin, 2016a; Žanetić i Gugić, 2005).

Najznačajniji utjecaj kao prooksidans ima kisik koji se nalazi u prostoru iznad ulja (bilo u boci ili spremniku), a često je i umješan u samo ulje tijekom postupka proizvodnje, što ponajviše ovisi o procesu ekstrakcije ulja i uvjetima skladištenja. Kisik djeluje na nezasićenu vezu nezasićenih masnih kiselina te pritom dolazi do formiranja primarnih produkata oksidacije tj. peroksida, hidroperoksida i slobodnih radikala masnih kiselina. Nastali primarni produkti djeluju kao katalizatori oksidacijskih procesa. Povećanje temperature ubrzava većinu poznatih reakcija pa tako i reakcije oksidacije, dok pojedini metali poput željeza i bakra djeluju katalitički na oksidacijske procese. Enzimi, konkretno peroksidaze, potiču oksidaciju već u samom plodu ili u maslinovom tijestu (Škevin, 2016a).

Svjetlost djeluje na manje spojeve (poput klorofila i njegovih derivata) nakon čega se oni elektronski pobuđuju na račun apsorbirane energije. Nakon toga, pobuđena molekula klorofila može prenijeti višak energije na molekulu kisika što u konačnici dovodi do formiranja singletnog kisika koji potom reagira s nezasićenim vezama u masnim kiselinama. Uočeno je da singletni kisik reagira oko 1000 do 10000 puta brže od „normalnog“ kisika na sobnoj temperaturi (Velasco i Dobarganes, 2002).

2.1.3 AUTOOKSIDACIJA

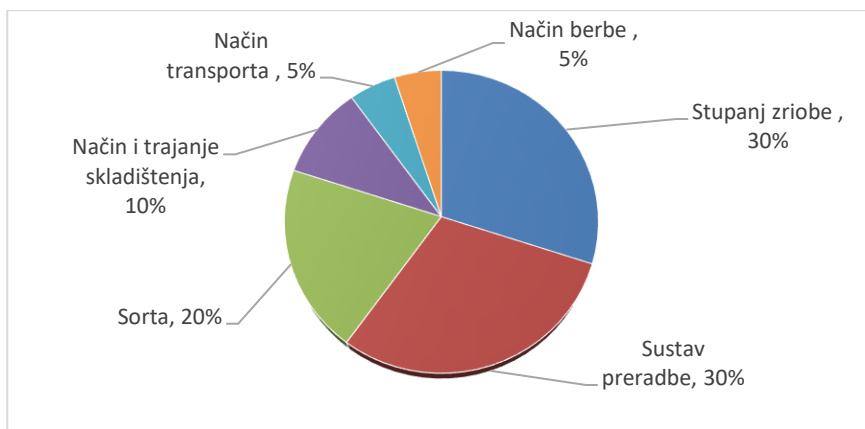
Autooksidacija je najčešći oblik oksidacije do koje dolazi u jestivim uljima. Osim autooksidacije, među oksidacijske reakcije u uljima spadaju još i fotooksidacija (uzrokovana utjecajem svjetla na klorofil), termooksidacija (uzrokovana povišenom temperaturom uz prisustvo vodene pare i zraka), oksidacija inducirana enzimima (peroksidazama, lipazama, lipoksigenazama) te β -oksidacija (oksidacija zasićenih masnih kiselina) (Škevin, 2016a).

Proces autooksidacije, odnosno lančane reakcije slobodnih radikala, sastoji se od 3 faze: faze inicijacije, propagacije i terminacije (Choe i Min, 2006).

U prvoj fazi odnosno fazi inicijacije, kisik iz zraka napada nezasićene veze u masnim kiselinama te pritom dolazi do stvaranja slobodnih radikala. Nastali slobodni radikali reagiraju s masnim kiselinama tako stvarajući nove radikale, što dovodi ubrzavanja procesa zbog niza lančanih reakcija (Rade i suradnici, 2001).

U drugoj fazi, odnosno fazi propagacije, slobodni radikali i dalje reagiraju s kisikom te nastaju

Također se navodi da se sadržaj polifenola i značajnijih sterola razlikuje od sorte do sorte, kao i sadržaj antocijana te sastav triterpenske frakcije ulja.



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

2.2.1 LEVANTINKA

Iako podrijetlo nije u potpunosti razriješeno, levantinka se smatra domaćom sortom masline. Njezin uzgoj ograničen je na područje južne i srednje Dalmacije, a najveća brojnost ove sorte zabilježena je na području otoka Šolte. Levantinka razvija bujno stablo, kuglaste krošnje s veoma bujnim izbojima te se zbog toga često naziva i „ljepoticom“ maslinika. Deblo je visoko, a kora glatka. List levantinke je velik, širok, dugačak i po dužini blago uvijen. Plod je srednje krupan (prosječna mase oko 4,5 g), eliptično izdužen i blago uvijen prema vrhu. Ova sorta rađa u grozdovima u kojima se nalazi između tri i pet plodova. Pred početak zriobe plod je zelene boje koja postepeno prelazi u crveno-ljubičastu i na kraju crnu boju. Levantinka, kao sorta, ima visok postotak samooplodnje, radi čega redovito i obilno rađa. Sadržaj ulja u plodu kreće se oko 20 %, a ulje je dobre kvalitete i slatkastog okusa (Agroportal, 2019; Olea Cult, 2014).



Slika 3. Levantinka (Agrobloghortikultura, 2016)

2.3 UTJECAJ KEMIJSKOG SASTAVA ULJA NA OKSIDACIJSKU STABILNOST

Maslinovo ulje sastoji se, kao i sva druga ulja, od gliceridne frakcije ili osapunjivog dijela i negliceridne frakcije ili neosapunjivog dijela. Osapunjivi dio, koji sačinjava 90-99 % kemijskog sastava ulja, čine uglavnom trigliceridi i slobodne masne kiseline dok neosapunjivi dio, udjela od svega 0,4-5 % u ulju, čini preko dvjesto spojeva različitih struktura poput alifatskih i triterpenskih alkohola, ugljikovodika, sterola, hlapljivih spojeva, karotenoida, fenolnih spojeva i drugi. (Pejović, Barbarić i Jakobušić, 2014).

2.3.1 SASTAV MASNIH KISELINA

Sastav masnih kiselina i triglicerida djevičanskih maslinovih ulja znatno se razlikuje, ovisno o geografskom položaju, klimi, sorti i stupnju zrelosti maslina (Velasco i Dobarganes, 2002). Prirodni sastav masnih kiselina u ulju i pozicije masnih kiselina na okosnici glicerola određuju podložnost ili otpornost na proces oksidacije. Ulja koja sadrže više nezasićenih masnih kiselina oksidiraju brže od onih ulja s manjim udjelom nezasićenih masnih kiselina. Kako raste stupanj nezasićenosti masnih kiselina, tako se povećava brzina oksidacije i formiranja primarnih produkata oksidacije što dovodi do njihovog nagomilavanja (Madhujith i Sivakanthan, 2019).

Xu i suradnici (2015) proveli su istraživanje u kojem su proučavali oksidacijsku stabilnost ulja kamelije (*Camellia Oleifera*) nakon prženja krumpira te su ga uspoređivali s palminim uljem i uljem kikirikija. Objavljeni rezultati studija su pokazali da ulje kamelije ima najveću oksidacijsku stabilnost, nakon njega slijedi palmino ulje te ulje kikirikija koja je pokazalo najmanju oksidacijsku stabilnost. Ulje kamelije sadržavalo je veće udjele jednostrukonezasićenih masnih kiselina u usporedbi s zasićenim i višestrukonezasićenim masnim kiselinama druga dva ispitivana ulja. Uočeno je da su važni čimbenici koji utječu na oksidacijsku stabilnost sastav masnih kiselina i sadržaj tokoferola (Madhujith i Sivakanthan, 2019).

2.3.2 TOKOFEROLI

Tokoferoli su jedni od najvažnijih antioksidanasa prisutnih u jestivom ulju. Sadržaj tokoferola u uljima ovisi o kakvoći ploda, sorti, načinu proizvodnje i uvjetima skladištenja ulja (Škarica i suradnici, 1996). Tokoferoli su u maslinovom ulju prisutni u formi α , β , γ i δ . Oko 9 % tokoferola nalazi se u formi γ , oko 1,1 % tokoferola dolazi u formi δ dok se oko 90 % nalazi u formi α . Tako je α -tokoferol biološki najaktivniji, a poznat je i pod imenom vitamin E (Žužić, 2008). Tokoferoli su poznati i kao dobri antioksidansi koji sprječavaju procese oksidacije ulja. Najbolje

antioksidacijsko djelovanje pokazuje δ , a zatim γ -, β - i α -tokoferol. Optimalna koncentracija tokoferola kao antioksidansa ovisi o njihovoj oksidacijskoj stabilnosti; što je oksidacijska stabilnost niža, to je njihova optimalna koncentracija, također, niža. U visokim koncentracijama tokoferoli mogu djelovati i kao prooksidansi. Najveću prooksidacijsku aktivnost u visokim koncentracijama pokazuje α -tokoferol (Choe i Min, 2006).

2.3.3 FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su u maslinovom ulju prisutni u malim količinama, ali oni značajno utječu na oksidacijsku stabilnost ulja. Za razliku od ostalih spojeva neosapunjivog dijela, fenolni spojevi su topivi u vodi pa je to razlog zašto se za vrijeme prerade određeni dio fenolnih spojeva nepovratno gubi s vegetabilnom vodom (Žanetić i Gugić, 2006). U maslinovom ulju razlikuju se dva tipa fenolnih kiselina: derivati benzojeve kiseline i derivati cimetne kiseline, dok su od fenolnih alkohola najzastupljeniji tirosol i hidroksitirosol. Tirosol i hidroksitirosol su najčešće prisutni u esterificiranom obliku pri čemu nastaju sekoiridoidi; spojevi karakteristični za maslinovo ulje među kojima je najpoznatiji oleuropein (Pejović, Barbarić i Jakobušić, 2014). Upravo je oleuropein glavni polifenolni spoj odgovoran za karakterističnu gorčinu maslinovog ulja. Glavna karakteristika fenolnih spojeva je njihovo antioksidacijsko djelovanje čime utječu na oksidacijsku stabilnost maslinovog ulja, a važan je i njihov utjecaj na njegova prehrambena i biološka svojstva. Tirosol i oleuropein imaju antikancerogeno djelovanje na tumor dojki kod žena te kod muškaraca na tumor prostate (Žužić, 2008; Žanetić i Gugić, 2006).

2.3.4 FOSFOLIPIDI

Prirodna maslinova ulja sadrže skromne količine fosfolipida. Njihova količina ovisi o biološkim i tehnološkim čimbenicima, a osobito o starosti ulja (Škarica i suradnici, 1996). Fosfolipidi mogu djelovati kao antioksidansi ili prooksidansi, ovisno o njihovoj koncentraciji i prisutnosti metala. Karakteristike antioksidansa fosfolipidi ostvaruju zahvaljujući njihovoj sposobnosti keliranja metala čime inaktiviraju njihov prooksidacijski učinak. Također, mogu djelovati i kao sinergisti s fenolnim spojevima i tokoferolima pridonoseći pritom poboljšanju oksidacijske stabilnosti ulja. S druge strane, fosfolipidi posjeduju hidrofilne i hidrofobne skupine u istoj molekuli. One su raspoređene tako da se hidrofilne skupine nalaze na površini ulja, dok su one hidrofobne u jestivom ulju. Takvim se rasporedom omogućuje smanjenje površinske napetosti jestivog ulja čime se povećava brzina difuzije kisika iz prostora u ulje te se posljedično ubrzavaju oksidacijski procesi (Choe i Min, 2006; Velasco i Dobarganes, 2002).

2.3.5 KLOOROFIL

Klorofil je zeleni pigment svojstven prirodnom maslinovom ulju. Sastoji se od mješavine sivozelenog klorofila *a* i žutozelenog klorofila *b* u omjeru 3:1. Količina klorofila u ulju ovisi o načinu prerade, uvjetima skladištenja ulja te najviše o stupnju zrelosti ploda; ulje dobiveno od zelenih plodova masline sadrži veće količine klorofila. U maslinovom ulju se još susreću i značajne količine feofitina *a* i *b* koji su produkti razgradnje klorofila (Škarica i suradnici, 1996). Klorofil i produkti njegove razgradnje zaslužuju poseban interes jer u prisutnosti svjetla djeluju na ulje oksidativno te se degradiraju i ubrzavaju oksidacijske procese, dok se u tamnom prostoru ponašaju antioksidativno u sinergističkom odnosu s fenolima (Žužić, 2008).

2.3.6 KAROTENOIDI

Karotenoidi predstavljaju tetraterpenske nezasićene ugljikovodike od kojih su najvažniji β -karoten, likopen i oksidirani derivati karotena (poput ksantofila) (Žanetić i Gugić, 2006). Njihov sadržaj ovisi o brojnim biološkim i tehnološkim čimbenicima tijekom ekstrakcije, skladištenja ulja i zrenja ploda; ulja dobivena od plodova ubranih na početku maslinske sezone bogatija su karotenoidima od ulja iz zrelih i prezrelih plodova. Karotenoidi imaju provitaminski učinak pošto se djelovanjem posebnih enzima pretvaraju u vitamin A (Škarica i suradnici, 1996).

2.3.7 STEROLI

U procesu biosinteze nastaju od skvalena, a po kemijskom sastavu su visokomolekularni ciklički alkoholi tj. derivati ciklopentanofenantrena (Škarica i suradnici, 1996). Steroli u maslinovom ulju pripadaju u skupini fitosterola, a najvažniji je β -sitosterol koji ima važnu biološku ulogu u sprječavanju crijevnog upijanja viška kolesterola. Karakterizira ih antioksidacijsko djelovanje te inhibicija procesa oksidacijskog kvarenja ulja (Žanetić i Gugić, 2006).

2.3.8. SKVALEN

Skvalen je triterpenski ugljikovodik koji je glavni sastojak neosapunjive frakcije. Karakterizira ga antioksidacijsko (kao sinergist α -tokoferola) te biološko djelovanje (kao prekursor sterola). Njegov udio u ulju ovisi o sorti, a opada tokom skladištenja i osobito rafinacije (Škevin, 2016b).

2.4 METODE ZA ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI

Kako se oksidacijske reakcije odvijaju relativno sporo pri sobnoj temperaturi, za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja i masti razvijene su metode ubrzanog kvarenja. Metode ubrzanog kvarenja temelje se na namjerno uzrokovanim oksidacijskim reakcijama djelovanjem određenih prooksidansa; u praksi je to najčešće toplina odnosno povišena temperatura. Uzorak se izlaže povišenoj temperaturi, a oksidacijske promjene se prate određivanjem peroksidnog broja ili senzorski. Najčešće korištena metoda za određivanje oksidacijske stabilnosti je test određivanja indeksa održivosti ulja (OSI) ili Rancimat test (Rade i suradnici, 2001). U novije vrijeme koristi se i diferencijalna motridbena kalorimetrija ili DSC metoda.

2.4.1 TEST ODREĐIVANJA INDEKSA ODRŽIVOSTI ULJA ILI RANCIMAT TEST

Kod ove metode, oksidacijska stabilnost se određuje pomoću dva uređaja koja rade na isti princip: Rancimat ili Oil Stability Instrument. U uređaju, struja pročišćenog zraka prolazi kroz uzorak ulja koji se održava na konstantnoj temperaturi i dovodu zraka. Zrak obogaćen hlapljivim spojevima iz ulja, koji su nastali uslijed oksidacijskih procesa pri povišenoj temperaturi, se potom uvodi u deioniziranu vodu te se kontinuirano konduktometrijski prati vodljivost u funkciji vremena. Hlapljivi spojevi iz ulja povećavaju vodljivost vode sve dok proces oksidacije napreduje. Indeks održivosti ulja se definira kao vrijeme (u satima) koje je potrebno da se postigne maksimalna promjena vodljivosti. Metoda pokazuje visok stupanj korelacije s AOM testom (Velasco i Dobarganes, 2002; Rade i suradnici, 2001).

2.4.2 DIFERENCIJALNA MOTRIDBENA KALORIMETRIJA (DSC)

Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC) najčešće je korištena toplinska tehnika koja na brz i jednostavan način daje široku paletu informacija o analiziranom uzorku. Ova tehnika nailazi na široki spektar primjene u prehrambenoj, biokemijskoj i farmaceutskoj industriji te industriji polimera, plastike, stakla, keramike i drugo (Almosehly, 2020). Najveće prednosti DSC-a kao analitičke metode jesu mala količina potrebnog uzorka uz minimalnu pripremu, korištenje bez kemijskih sredstava i otapala, kratko trajanje analize te jednostavnost rukovanja (Vittadini i suradnici, 2003). Pomoću DSC metode mogu se odrediti različita termofizička svojstva materijala (poput točke taljenja ili specifičnog toplinskog kapaciteta), fazni prijelazi (poput taljenja, isparavanja, sublimacije ili kristalizacije) te analize sastava materijala (Höhne i suradnici, 2013). Pri uporabi DSC-a, energija se istovremeno dovodi analiziranom i referentnom uzorku. Temperature oba uzorka povisuju se identično kroz određeni vremenski period. Razlika potrebne energije, kako bi temperature analiziranog i referentnog uzorka bile jednake,

predstavlja višak apsorbirane ili oslobođene temperature u uzorku (ovisno dolazi li do endotermne ili egzotermne reakcije) (Gill i suradnici, 2010). Protok topline može biti endoterman (usmjerava krivulju prema dolje) ili egzoterman (usmjerava krivulju prema gore). Razlog usmjerenju krivulje leži u činjenici da endotermne reakcije uzimaju energiju (što dovodi do negativne temperaturne razlike) dok egzotermne reakcije oslobađaju energiju (što dovodi do pozitivne temperaturne razlike). Osim za istraživanje oksidacijske stabilnosti, DSC metoda pogodna je za provjeru autentičnosti odnosno karakterizaciju i otkrivanje patvorenih ulja i masti (Almoselhy, 2020).

2.5 PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Proces proizvodnje maslinovog ulja započinje određivanjem optimalne zrelosti ploda kako bi se odredilo optimalno vrijeme berbe. Optimalno vrijeme berbe smatra se u trenutku kada je plod 2/3 zelene boje, a 1/3 crveno-crne boje. Od toga trenutka nadalje nema inolacije, počinje se gubiti voda iz ploda te se smanjuje njegova masa (Žužić, 2008). Branjem ploda masline u optimalnoj zrelosti omogućava se postizanje bolje kvalitete ulja, izbjegavanje fiziološkog opadanja plodova ili napada maslinove muhe, postizanje veće učinkovitosti berača, postizanje boljeg cvjetanja u sljedećoj vegetacijskoj godini te postizanje stabilnosti u rodu (Škevin, 2016b). Ubrane plodove potrebno je što prije preraditi kako ne bi došlo do fermentacije ploda, a sama prerada sastoji se od pranja plodova i uklanjanja nečistoća, procesa mljevenja i miješenja, izdvajanja ulja iz maslinovog tijesta te odvajanja ulja od vegetabilne vode (Žužić, 2008; Koprivnjak, 2006).

2.5.1 ČIŠĆENJE I PRANJE

Plodovi maslina koji se dovedu u pogon za preradu sadrže nečistoće poput lišća, grančica, zemlje, kamenja i slično. Primjese vegetabilne prirode (poput lišća i grančica masline), budući da utječu na promjenu boje i okusa ulja, uklanjaju se na principu usisavanja, dok se primjese strane prirode (poput čestica zemlje, pijesak, kamenčići ili metani dijelovi), budući da mogu izazvati promjene organoleptičkih svojstava ulja i oštećenje strojeva, uklanjaju pomoću stroja za pranje uz stalni optok vode (Koprivnjak, 2006; Škarica i suradnici, 1996).

2.5.2 MLJEVENJE

Cilj drobljenja i usitnjavanja ploda jest razbijanje biljne stanice pulpe ploda masline s ciljem omogućavanja oslobađanja kapljica ulja iz staničnih vakuola na način da se mogu spajati u kapljice većih dimenzija. Tijekom mljevenja ulje i specifične tvari koje se nalaze u kožici (poput klorofila ili voskova), sjemenci i pulpi (poput različitih enzima i tokoferola) dolaze u kontakt te

se time stvaraju temelji budućih kemijskih i biokemijskih reakcija koje će u konačnici definirati kemijski sastav i svojstva DMU. Mljevenje treba provesti na način da se iz pulpe oslobodi što više ulja, a da se ono pri tome što manje rasprši u sitne kapljice i što manje dovede u stanje emulzije. Pritom je bitan i stupanj usitnjenosti koštice jer fragmenti koštice imaju drenažni učinak te omogućavaju izlazak uljnog mošta. Proces mljevenja može se provesti tradicionalno uz pomoć kamenih mlinova ili suvremeno, različitim izvedbama metalnih mlinova (poput mlinova čekićara ili mlinova s diskovima ili konusnim valjcima). Uporaba različitih izvedbi mlinova uvjetuje ulje različitog kemijskog sastava i količine hlapljivih spojeva (Škevin, 2016b; Žužić, 2008; Koprivnjak, 2006).

2.5.3 MIJEŠENJE

Miješenje tijesta masline je operacija koja je postala nužna uvođenjem metalnih mlinova u preradu maslina jer se miješenje kod kamenih mlinova već djelomično odvijalo kod procesa mljevenja. Proces miješenja za cilj ima skupljanje prisutnog ulja u tijestu odnosno dobiti od sitnih uljnih kapljica veće kapljice ulja pojavom koalescencije. Kako ne bi došlo do narušavanja kvalitete ulja, temperatura tijesta mora iznositi od 25 – 28 °C te se ono mora mijesiti sporo (20 – 40 o/min). Miješenje tijesta može trajati od 15 do 60 min te ovisi o sorti, stupnju zriobe, profilu frakcije i slično. Skraćeno vrijeme miješenja može utjecati na manji randman ulja (od 2-4 % manje) sa smanjenom količinom fenolnih sastojaka. Sporim miješenjem postiže se razbijanje preostalih cijelih stanica (pod utjecajem oštih bridova ostataka koštica) te uzastopno razbijanje lipoproteinske membrane i spajanje manjih u veće kapljice ulja. Na uspješnost povezivanja kapljica ulja utječe i omjer količine vode, ulja i koloidnih tvari koje tijesto sadrži pa se tako u slučaju veće količine vode i koloidnih tvari u odnosu na ulje javljaju tzv. teška tijesta. Proces miješenja ima ključnu ulogu u preradi maslina jer ono u najvećoj mjeri određuje pozitivna ili negativna svojstva ulja. Tvari koje su se oslobodile tijekom procesa mljevenja iz vakuola i membrana sad imaju priliku za preraspodjelu između vodene i uljne faze, a imaju i mogućnost za međusobne reakcije. Pektolitički i hemicelulolitički enzimi razgrađuju stanične stijenke i ovojnice vakuola čime omogućuju olakšano oslobađanje ulja i drugih tvari iz stanice. Osim na iskorištenja procesa proizvodnje ulja, enzimi imaju ključnu ulogu u formiranju poželjnih senzorskih svojstava. Pritom su lipoksigenaza i hidroperoksid liaza ključni enzimi koji tijekom lipoksigenaznog puta pospješuju nastajanje poželjnih tvari arome DMU. Enzimi peroksidaze mogu oksidirati višestrukonezasićene masne kiseline DMU što može dovesti do proizvodnje ulja narušene kvalitete (Škevin, 2016b; Žužić, 2008; Koprivnjak, 2006).

2.5.4 PROCESI IZDVAJANJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Izdvajanje ulja iz tijesta obavlja se utjecajem različitih sila, ovisno o primijenjenom sustavu postrojenja, koje mogu biti: sila pritiska (prešanje), razlike u gustoći ulja, vode i krutih čestica (centrifugalna ekstrakcija) te razlika između površinskih napetosti prethodno navedenih komponenti (procjeđivanje). Prešanje se obavlja pomoću otvorenih hidrauličnih preša visokog pritiska. Maslinovo tijesto se u tankom sloju premazuje preko filtrirajućih slojnica koje u sredini imaju otvor. Središnji otvor skraćuje put izlaska uljnog mošta i time omogućuje prešanje efikasnijim procesom. Nakon svakih 3-5 slojnica ubacuje se po jedan metalni disk s ciljem postizanja stabilnosti i ravnomjernije raspodjele pritiska. Sabijanje stupca mora biti postepeno kako bi ulje, koje je viskoznije od vegetabilne vode, imalo dovoljno vremena i prostora za izlazak iz filtrirajućih slojnica pa se ono provodi u dvije faze. Kod maslina, poput levantinke, koje se teško obrađuju jer imaju veliku količinu vode i nizak sadržaj ulja, postupak prešanja pokazuje slabije iskorištenje te gubitak dijela organskih tvari. Da bi se poboljšala prerada potrebno je povećati vrijeme i temperaturu miješenja tijesta ili dodati suhi materijal (poput komine) da se postigne drenažni efekt. Kod centrifugalne ekstrakcije do razdvajanja komponenti dolazi zbog razlike u gustoći između ulja, vegetabilne vode i komine u uređajima koji se zovu dekanteri. Danas se u upotrebi mogu pronaći klasične centrifuge s 3 izlaza, integralne centrifuge s 2 izlaza te opcijske centrifuge s 2 ili 3 izlaza. Kod klasične centrifuge s 3 izlaza kruti dijelovi tijesta imaju najveću gustoću pa pod djelovanjem centrifugalne sile stvaraju sloj neposredno uz unutarnju stijenku bubnja, dok se ulje, koje je najmanje gustoće, zadržava u središnjem dijelu tako da se vegetabilna voda raspoređuje između. Kod integralne centrifuge s 2 izlaza maslinovo tijesto se odvaja na uljni mošt i vlažnu, polutekuću kominu. Bitna razlika između klasične centrifuge s 3 izlaza i opcijske s 2 izlaza je u tome što se u integralne centrifuge ne dodaje voda ili se dodaje u malim količinama za razliku od klasičnih centrifuga s 3 izlaza. Izlučivanje ulja sustavom selektivne filtracije temelji se na razlici površinskih napetosti između ulja i vegetabilne vode, a separacija se događa u posebnim uređajima pomoću lamela od nehrđajućeg čelika (Koprivnjak, 2006; Škarica i suradnici, 1996)

2.6 PROBLEMI SUVREMENE PROIZVODNJE I POTENCIJAL INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA KAO RJEŠENJA

U posljednjih nekoliko godina, trend zdrave prehrane i težnja za većom održivosti u proizvodnji povećali su interes potrošača i industrije za pronalaskom novih i alternativnih metoda te procesa konzerviranja i obrade hrane. Iako su rađena mnoga istraživanja, postojeći suvremeni sustavi proizvodnje DMU i dalje nisu uspjeli pronaći rješenje glavnih problema proizvodnje koji se očituju u gubitku polifenolnih spojeva zajedno s vegetabilnom vodom i kominom te relativno

niskom iskorištenju proizvodnog procesa. Pojava inovativnih tehnologija omogućila je iskorak u istraživanjima unaprjeđenja proizvodnog procesa DMU te time postala moćno sredstvo u rješavanju postojećih problema. Kod proizvodnje DMU, visok potencijal primjene pokazuju inovativne tehnologije koje dovode do povećanja iskoristivosti i fleksibilnosti samog proizvodnog procesa te daju doprinos u održivosti i smanjenju troškova proizvodnje. S druge strane, inovativne tehnologije, pritom, ne smiju utjecati negativno na senzorska svojstva, dok istovremeno trebaju povećati udio bioaktivnih spojeva DMU, prvenstveno polifenola, te njegovu održivost. Rezultati različitih istraživanja ukazala su da najveći potencijali primjene, od inovativnih tehnologija, imaju ultrazvuk (UZV), pulsirajuće električno polje (PEP) te ubrzani toplinski tretman (UTT). Primjena ovih inovativnih tehnologija u procesu proizvodnje DMU najčešće je vezana uz fazu miješenja pri čemu se istražuje njihov utjecaj kao predtretmana procesu miješenja. Inovativne tehnologije pokazuju potencijal da bi se možda kombinacijom inovativnih tehnologija te njihovim međusobnim pozitivnim učinkom čak u potpunosti mogao zamijeniti proces miješenja.

2.6.1 UBRZANI TOPLINSKI TRETMAN (UTT)

Tehnologija ubrzanog toplinskog tretmana tijesta masline omogućava regulaciju njegove temperature čime se direktno utječe i na kompleksan sustav različitih enzima. Enzimi pritom odigravaju ključnu ulogu u oblikovanju i kontroli nutritivnog i senzorskog profila DMU. Veneziani i suradnici (2017) u svome radu navode kako je posljednjih godina, uslijed novih agronomskih praksi poput sve ranije berbe, ali i globalnog zatopljenja, sve češća pojava da temperatura tijesta nakon procesa mljevenja bude viša od 30 °C. Takva temperatura je previsoka za proizvodnju kvalitetnog DMU jer može narušiti njegove senzorske kvalitete i smanjiti udio fenolnih spojeva. Iz tog su razloga, Veneziani i suradnici (2016) ispitali utjecaj hlađenja maslinovog tijesta do 15 °C primjenom izmjenjivača topline ili suhog leda te su zaključili da nije došlo do nikakvih značajnih razlika u iskorištenju ili osnovnim parametrima kvalitete. Ipak, primjena hlađenja uzrokovala je povećanje udjela fenolnih spojeva u ulju u sve tri analizirane talijanske sorte (Coratina, Peranzana i Ottobratica), a zabilježene su i značajne promjene udjela hlapljivih spojeva koje su ovisile o sorti. Zagrijavanje tijesta masline može skratiti vrijeme miješenja, povećati razinu polifenolnih spojeva i izmijeniti profil hlapljivih spojeva dok hlađenje može povećati razinu polifenolnih spojeva, što uvelike ovisi o sorti.

2.6.2 ULTRAZVUK (UZV)

Tehnologija primjene ultrazvuka obuhvaća obradu hrane zvučnim valom s ciljem postizanja razaranja staničnih stijenki stanica mezokarpa koje su ostale cijele nakon procesa mljevenja. Takvim tretmanom poboljšava se prijenos mase odnosno dolazi do oslobađanja dodatnih količina ulja koje bi, u protivnom, završile u vegetabilnoj vodi ili komini. Zvučni valovi visokih amplituda i malih frekvencija u odgovarajućem frekvencijskom području uzrokuju pojavu kavitacije zbog koje dolazi do kemijskih i fizikalnih promjena u ulju. Ipak, s obzirom na učinak zagrijavanja snagom zvučnih valova, može doći i do zagrijavanja tijesta masline što posljedično uzrokuje aktivaciju pojedinih enzima te dovodi do smanjenog udjela polifenolnih spojeva u DMU te formiranja nepoželjnih hlapljivih spojeva. Clodoveo i suradnici (2013) proveli su istraživanje ekstrakcije maslinovog ulja iz sorti Coratina i Peranzana uz korištenje ultrazvuka te su utvrdili da je došlo do smanjenja udjela polifenola, gorčine i pikantnosti, ali je pritom došlo do povećanja udjela tokoferola, klorofila i karotenoida. Uporaba ultrazvuka u proizvodnji DMU može povećati iskorištenje procesa, skratiti vrijeme miješenja, ali i utjecati na koncentraciju polifenola i hlapljivih spojeva što ponajviše ovisi o sorti te karakteristikama primijenjenog tretmana.

2.6.3 PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE (PEP)

Tehnologija pulsirajućeg električnog polja zasniva se na uporabi kratkih pulseva električnog polja koji uzrokuju elektropermeabilizaciju staničnih struktura. Zbog izlaganja pulsevima električnog polja visokog napona, stanična stijenka postaje poroznija i propusnija za male molekule što dovodi do njezinog bubrenja i naknadnog razaranja stanične strukture. S obzirom na to da se tretman odvija na sobnoj temperaturi te da traje jako kratko (svega nekoliko milisekundi), ne dolazi do značajnog porasta temperature tijesta što sugerira da je PEP netoplinska tehnika. Pritom ne dolazi ni do značajnijeg utjecaja na enzime niti na denaturaciju proteina tako da senzorska svojstva DMU ostaju nepromijenjena. Andreou i suradnici (2017) u svome su radu pratili primjenu PEP-a različitih količina ukupne energije i intenziteta u preradi grčkih sorti (Tsounati, Amfissis i Manaki) uz konvencionalni proces miješenja. Rezultati su pokazali da je u uzorcima tretiranim PEP-om došlo do prosječnog povećanja iskorištenja od 18 %, fenolnih spojeva je bilo 11,5 % više dok je utvrđena i bolja oksidacijska stabilnost. Primjena PEP-a može značajno povećati ekstrakciju ulja iz ploda, ali i utjecati na kemijski sastav što ovisi o uvjetima PEP-a i korištenoj sorti.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

Za ovaj istraživački period su, kao materijali, bili korišteni uzorci DMU proizvedeni iz autohtone hrvatske sorte levantinke te im se pritom određivala oksidacijska stabilnost odnosno period indukcije. Uzorci su proizvedeni na način da se na maslinovo tijesto, odmah nakon mljevenja te neposredno prije procesa miješenja, primjenjivala pojedina inovativna ili kombinacija inovativnih tehnologija. Kao predtretmani miješenju koristili su se ubrzani toplinski tretman (UTT) u uređaju Blast chiller TECNODOM ATT05 ATTILA ABB (Tecnodom SpA, Vigodarzere PD, Italija), ultrazvuk (UZV) primijenjen u ultrazvučnoj kupelji Sonorex digiplus (Bandelin electronic, Berlin, Njemačka) te pulsirajuće električno polje (PEP) primijenjeno u uređaju HVG60/1 PEF (Impel d.o.o., Zagreb, Hrvatska). Pritom je još određena i oksidacijska stabilnost konvencionalnog uzorka djevičanskog maslinovog ulja, proizvedenog u industrijskom postrojenju, iz sorte levantinka te kontrolnih uzoraka. Kontrolne uzorke su predstavljali uzorci djevičanskog maslinovog ulja proizvedenih iz sorte levantinke na laboratorijskoj pilot - uljari OLEUM 30 COMPACT (Enoternica Pillan Pleum 30 Compact, Camisano, Italija) bez primjene inovativnih tehnologija.

3.2 METODE

3.2.1. POSTUPAK LABORATORIJSKE PROIZVODNJE DMU UZ PRIMJENU INOVATIVNIH TEHNOLOGIJA ILI NJIHOVE KOMBINACIJE KAO PREDTRETMANA PROCESU MIJEŠENJA

Prethodno očišćeni, oprani i zdravi plodovi masline samljeveni su pomoću mlina čekićara koji je sastavni dio laboratorijske pilot - uljare OLEUM 30 COMPACT (Enoternica Pillan Pleum 30 Compact, Camisano, Italija). Osim mlina čekićara, laboratorijsku pilot - uljaru još sačinjavaju termomiješalica s vodenom kupelji TM-100 i centrifuga CF-100. Kao proizvod mljevenja nastaje maslinovo tijesto na koje se onda primjenjuje pojedina ili kombinacija inovativnih tehnologija kao predtretman procesu miješenja. Inovativne tehnologije, korištene u ovom istraživačkom projektu, bile su ubrzani toplinski proces, ultrazvuk te pulsirajuće električno polje. Kod uporabe ubrzanog toplinskog procesa kao inovativne tehnologije, uzorci maslinovog tijesta su se hladili na uređaju za ubrzano hlađenje Blast chiller TECNODOM ATT05 ATTILA ABB (Tecnodom SpA, Vigodarzere PD, Italija). Na pladnjeve od inoksa nanijelo se 830 g maslinovog tijesta u sloju visine 1 do 1,5 cm. Toplinska energija se odvodila konvekcijom, a temperatura tijesta se provjeravala ubodnim termometrom (Quartz). Hlađenje tijesta do željene temperature se trebalo postići za 1 do 3 minute, a tijesto se nije hladilo dulje

od 10 minuta. Na pojedine uzorke maslinovog tijesta se djelovalo ultrazvukom, drugim vidom inovativne tehnologije korištene kao predtretman miješenju. Maslinovo tijesto se ravnomjerno raspodijelilo u dvije staklene čaše tako da se u svakoj nalazi približna masa tijesta oko 400 g. Čaše se zatim postavljaju u ultrazvučnu kupelj Sonorex digiplus (Bandelin electronic, Berlin, Njemačka) točno iznad izvora ultrazvuka. Neki uzorci maslinovog tijesta podvrgnuti su djelovanju pulsirajućeg električnog polja s ciljem poboljšanja kvalitete i učinkovitosti proizvodnje DMU, ali i kvalitete samog ulja. Oko 1 kg tijesta masline se prenese u reaktor, promjera 23 cm, koji je posebno dizajniran za ovaj eksperiment. Prilikom punjenja reaktora, nužno je istisnuti višak preostalog zraka s ciljem sprječavanja potencijalnog nastanka plazma izboja u zračnim džepovima. Napunjeni reaktor se potom zabrtvi i spaja na visokonaponsku elektrodu uzemljenu unutar sigurnosne ćelije. Parametri pojedinog primijenjenog predtretmana, na maslinovo tijesto, navedeni su u Tablici 1.

Tablica 1. Karakteristike primijenjenih inovativnih tehnologija na uzorke DMU

Inovativna tehnologija kao predtretman miješenju	Karakteristike primijenjene inovativne tehnologije	
Ubrzani toplinski tretman (UTT)	Temperatura (°C)	19,5
Ultrazvuk (UZV)	Vrijeme trajanja (s)	300
	Snaga (W)	576
Pulsirajuće električno polje (PEP)	Vrijeme trajanja (s)	90
	Jakost električnog polja (kV/cm)	2

Nakon tretmana inovativnom ili kombinacijom inovativnih tehnologija, dio uzoraka se odvodi na procesa miješenja. Miješenje se provodi 40 min na temperaturi od 27 °C. Potom se ulje izdvaja centrifugiranjem pri 3500 o/min u trajanju od 90 s, a ono se bistri dodatnim centrifugiranjem na 5000 o/min u trajanju od 4 min na centrifugi Rotina 320R (Hettich, Tuttlingen, Njemačka) pri 18 °C. Dobiveno bistro ulje se potom skladišti u bočicama od tamnog stakla na temperaturi do 20 °C kako bi se ono očuvalo od oksidacijskog kvarenja prije samih analiza. Kontrolni uzorci su proizvedeni jednakim postupkom proizvodnje iz istog maslinovog tijesta, samo na njih nije primijenjena nikakva inovativna tehnologija.

3.2.2 ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKE STABILNOSTI DMU

Mjerenje perioda indukcije djevičanskog maslinovog ulja važan je alat i sredstvo za određivanje oksidacijske stabilnosti samog ulja. U ovom istraživačkom projektu se za određivanje perioda indukcije koristila metoda diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC). Oksidacijska stabilnost uzoraka DMU određivana je pomoću DSC metode, koja je optimirana u završnom radu Hojka (2022), na uređaju DSC 214 Polyma (Netzsch, Selb, Njemačka). U aluminijsku posudicu, na analitičkoj vagi, potrebno je izvagati uzorak pojedinog djevičanskog maslinovog ulja mase $4,1 \text{ mg} \pm 0,2 \text{ mg}$. Zatim se aluminijska posudica poklopi odgovarajućim poklopcem koji se dodatno zapečati pritiskom na samu posudicu. Poklopac posudice se, prije stavljanja u uređaj, probuši na sredini. Za provođenje mjerenja se još koristi i referentni uzorak kojeg predstavlja prazna zapečaćena aluminijska posudica s 2 probušene rupice na poklopcu. U uređaju za diferencijalnu skenirajuću kalorimetriju, uzorak se prvotno stabilizira na temperaturi od $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Potom se uzorak zagrijava u struji dušika, protoka 40 ml/min , brzinom od $20 \text{ }^{\circ}\text{C/min}$ na temperaturu od $140 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Zatim se uzorak zadržava na temperaturi od $140 \text{ }^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 5 min kako bi se sustav stabilizirao. Oksidacija i postupak mjerenja perioda indukcije započinje onog trenutka kada se protok dušika isključi dok se protok kisika poveća na 100 ml/min . Tijekom čitave analize, u instrumentu struji zaštitni plin (dušik) protokom od 60 ml/min i na taj način štiti uređaj od oštećenja uslijed varijacija u temperaturi. Mjerenje se prekida u trenutku primjetne pojave strmog rasta krivulje entalpije, koja u ovom slučaju, predstavlja da je došlo do značajne oksidacije uzorka. Dobiveni rezultati, odnosno krivulja s jasno izraženim rastom, obrađuju se u računalnom programu NETZSCH Proteus Analysis 8.0.1. Svaku krivulju promjene entalpije uzorka u ovisnosti o vremenu potrebno je prvotno izolirati od ostalih funkcija programa, a potom i izgladiti na vrijednost 9/16. Zatim je nužno postaviti linije unutar kojih će program povući tangente čije bi se sjecište trebalo nalaziti u točki u kojoj je krivulja počela strmo rasti. Točka sjecišta predstavlja period indukcije tj. reprezentira vrijeme oksidacijske stabilnosti uzoraka. Određivanje perioda indukcije je za svaki uzorak DMU provedeno najmanje 4 puta, a od dobivenih rezultata izračunata je srednja vrijednost i standardna devijacija.

3.2.3 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Kako bi se utvrdio utjecaj načina proizvodnje i procesa miješenja na oksidacijsku stabilnost DMU, dobiveni rezultati se statistički obrađuju uporabom analize varijance Two-Factor ANOVA s 95 %-tnom vjerojatnošću ($p \leq 0,05$) napravljenom u programu Excel.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U poglavlju Rezultati i rasprava prikazana je oksidacijska stabilnost DMU iz levantinke proizvedenog uz primjenu inovativnih tehnologija kao predtretman miješenju (Tablica 2), uz kombinacije inovativnih tehnologija bez procesa miješenja (Tablica 3), a rezultati statističke obrade navedenih vrijednosti nalaze se u tablici 4.

Suvremeni sustavi proizvodnje DMU susreću se s mnoštvom poteškoća unutar samog procesa proizvodnje ulja. Među najizraženijim problemima svakako se ističu gubitak polifenola u vegetabilnoj vodi i komini te relativno nisko iskorištenje proizvodnog procesa. Svakodnevnim ubrzanim napretkom znanosti i tehnologije došlo je do uvođenja inovativnih tehnologija u proizvodne procese. Inovativne tehnologije su time postale moćno sredstvo u rješavanju postojećih problema proizvodnje s ciljem povećanja prehrambene vrijednosti proizvoda i održivosti proizvodnje. Iz rezultata mnogobrojnih istraživanja različitih autora, uočeno je da najveći potencijal primjene, od inovativnih tehnologija, imaju ultrazvuk, pulsirajuće električno polje i ubrzani toplinski tretman. Njihova primjena u proizvodnji DMU najčešće je vezana uz fazu miješenja maslinovog tijesta pri čemu se one primjenjuju kao predtretman procesu miješenja. Posebnu pažnju plijeni relativno „mlada“ hipoteza koja pretpostavlja da bi se pozitivnim kombiniranim utjecajem inovativnih tehnologija možda mogao u potpunosti zamijeniti proces miješenja. S obzirom na slabu istraženost navedene hipoteze, treće istraživačko razdoblje HRZZ Projekta CROInEVOO (IP-2020-02-7553) posvećen je upravo toj temi. Sukladno navedenoj problematici i pristupu rješenjima, cilj ovog rada bio je ispitati kako primjena UTT, UZV i PEP te njihovih kombinacija uz i bez procesa miješenja, utječe na oksidacijsku stabilnost DMU iz sorte levantinke.

U Tablici 2 prikazane su vrijednosti perioda indukcije (min) za svaku pojedinu primijenjenu inovativnu ili kombinaciju inovativnih tehnologija. Pritom su inovativne tehnologije korištene kao predtretman procesu miješenja. Kako bi se isključivo ispitaio utjecaj inovativnih tehnologija na uzorak maslinovog tijesta odnosno u konačnici na proizvedeno DMU, dobiveni rezultati se uspoređuju s kontrolnim uzorkom koji je proizveden bez primjene ikakve inovativne tehnologije.

Tablica 2. Oksidacijska stabilnost uzoraka DMU, iz levantinke, proizvedenih uz primjenu inovativnih tehnologija kao predtretman miješenju

Način proizvodnje	Period indukcije (min)
UTT	83,80 ± 1,49
UZV	78,93 ± 3,02
PEP	75,90 ± 10,07
UTT + UZV	95,60 ± 8,96
UZV + PEP	78,18 ± 8,06
UTT + PEP	76,68 ± 4,18
UTT + UZV + PEP	78,55 ± 3,18
KONTROLA*	92,28 ± 2,47
KONVENCIONALNA LEVANTINKA**	86,05 ± 1,48

*KONTROLA – uzorak DMU iz levantinke proizveden bez predtretmana miješenju

**KONVENCIONALNA LEVANTINKA – uzorak DMU iz levantinke proizveden na poluindustrijskom pogonu

Usporedbom dobivenih rezultata perioda indukcije pojedinih ili kombinacija korištenih inovativnih tehnologija i perioda indukcije kontrolnog uzorka, može se primijetiti da je uporaba inovativnih tehnologija u većini slučajeva dovela do smanjenja perioda indukcije odnosno do smanjenja oksidacijske stabilnosti ulja. Jedini slučaj koje odstupa od prethodno navedenog trenda jest onaj u kojem se na uzorak maslinovog tijesta primijenila kombinacija UTT i UZV te je u tom slučaju došlo do porasta oksidacijske stabilnosti od 3,59 %. Također je primjetno i da jedino uzorak DMU tj. tijesta masline na kojeg je primijenjena kombinacija UTT i UZV pokazuje veću oksidacijsku stabilnost odnosno veći period indukcije od uzorka ulja proizvedenog konvencionalnim industrijskim putem. S druge strane, najmanju oksidacijsku stabilnost pokazuje uzorak maslinovog tijesta na kojeg se djelovalo PEP-om. Iz dobivenih rezultata je također vidljivo da je korištenje PEP, bilo kao samostalne inovativne tehnologije ili pak u kombinaciji s nekom drugom inovativnom tehnologijom, dovelo do smanjenja oksidacijske stabilnosti u usporedbi s uzorcima na koje nije primijenjen PEP.

U Tablici 3 prikazani su rezultati perioda indukcije (min) za kombinacije inovativnih tehnologija koje su primijenjene na maslinovo tijesto uz izostavljanje procesa miješenja. Temeljna ideja ovog dijela istraživačkog projekta bila je istražiti hipotezu o zamjeni procesa miješenja kombinacijom inovativnih tehnologija. Pritom se uspoređuju periodi indukcije uzoraka proizvedenih kombinacijom istih inovativnih tehnologija samo uz ili bez primjene procesa miješenja.

Tablica 3. Oksidacijska stabilnost uzoraka DMU, iz levantinke, proizvedenih uz primjenu kombinacije inovativnih tehnologija bez procesa miješenja

Način proizvodnje	Period indukcije (min)
UTT + UZV	91,60 ± 7,03
UZV + PEP	71,40 ± 1,97
UTT + PEP	86,43 ± 1,51
UTT + UZV + PEP	75,73 ± 1,35

Usporedbom dobivenih rezultata, dolazi se do sličnih zaključaka kao i kod Tablice 2, iako se u ovome slučaju preskakao proces miješenja. Naime, najveći period indukcije pa samim time i najveću oksidacijsku stabilnost, pokazuje uzorak tijesta masline na koje je primijenjena kombinacija UTT i UZV. Komparacijom perioda indukcije uzoraka na koje su primijenjen kombinacije istih inovativnih tehnologija samo uz ili bez procesa miješenja, vidljiv je trend opadanja oksidacijske stabilnosti u slučajevima bez miješenja. Ipak, kombinacija UTT i PEP je pokazala veću oksidacijsku stabilnost u slučaju bez miješenja nego uz miješenje te je pritom zabilježen rast oksidacijske stabilnosti od 12,72 %. Najniži period indukcije pokazuje uzorak maslinovog tijesta na kojeg se djelovalo kombinacijom UZV i PEP, što ponovno upućuje da uporaba PEP-a u kombinaciji s nekom inovativnom tehnologijom dovodi do snižene oksidacijske stabilnosti ulja nego u slučaju kada PEP uopće nije korišten. S druge strane, uporaba PEP u kombinaciji s UTT daje naznake da bi njihova kombinacija možda mogla čak i zamijeniti proces miješenja.

Tablica 4. Statistička obrada rezultata prikazanih u tablici 2 i u tablici 3 provedena pomoću Two-Factor ANOVA-e

Izvor varijabilnosti	df	SS	MS	F	p-vrijednost
Način proizvodnje	3,000	2139,701	713,234	28,330	<0,0001
S ili bez miješenja	1,000	8,817	8,817	0,350	0,558
Način proizvodnje x s ili bez miješenja	3,000	387,326	129,109	5,128	<0,01

U Tablici 4. su prikazani rezultati statističke obrade podataka dobiveni ANOVA testom, a ticali su se utjecaja načina proizvodnje, procesa miješenja te njihove interakcije na oksidacijsku stabilnost DMU iz sorte levantinke. Pritom je statistička obrada dobivenih rezultata pokazala da način proizvodnje, odnosno uporaba inovativnih tehnologija, ima visoko statistički značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost DMU proizvedenog iz sorte levantinke. Obrada podataka je također pokazala da proces miješenja kao dio kompletne proizvodnje DMU, nema statistički značaj na oksidacijsku stabilnost DMU iz levantinke. U konačnici, statistička obrada je pokazala da interakcija načina proizvodnje tj. primijenjenih inovativnih tehnologija i procesa miješenja ima statistički značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost DMU.

Sagledavajući rezultate vlastitog istraživanja, može se pretpostaviti da oksidacijska stabilnost ulja u najvećoj mjeri ovisi o količini bioaktivnih tvari antioksidativnih svojstava koje su prešle iz ploda masline u ulje. Inovativne tehnologije imale su za zadaću poboljšati prijenos tvari na način da UTT temperaturom aktivira ili inaktivira pojedine endogene enzime i na taj način povećava prijenos tvari, UZV da snagom svojih valova doprinese razaranju stanične stijenke dok je PEP imalo za zadaću povećati propusnost stanične stijenke pulsirajućim zračenjem.

Oksidacijska stabilnost DMU ovisi o mnoštvu različitih faktora. Pored samog procesa proizvodnje ulja, značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja imaju i uzgoj masline, klima, uvjeti skladištenja, ali i kemijski sastav pojedine sorte i period berbe kao što je u svom radu istražila Bukvić (2017). S obzirom na autohtonost sorte levantinke, dostupni su radovi domaćih stručnjaka koji su svoja istraživanja više orijentirali prema kemijskom sastavu sorte, nego prema primjeni inovativnih tehnologija u proizvodnji DMU. Tako su Šarolić i suradnici (2015) u svojem istraživanju pokazali da DMU iz sorte levantinke ima najveći udio α -tokoferola u odnosu na sorte oblica i lastovka. Upravo su tokoferoli jedni od važnijih bioloških spojeva koji djeluju kao antioksidansi pa njihova prisutnost u DMU povećava oksidacijsku stabilnost samog ulja. Žanetić i suradnici (2021) su objavili da ulje iz sorte levantinke ima viši omjer oleinske i linolne masne kiseline u odnosu na ulje iz oblice te se time sugerira da levantinka ima i veću oksidacijsku stabilnost. Takva tvrdnja zasniva temelje na saznanju da je omjer jednostrukonezasićenih i višestrukonezasićenih masnih kiselina jedan od ključnih faktora kod procjene oksidacijske stabilnosti ulja. Žanetić i suradnici (2010) su se u svojem radu bavili istraživanjem kemijskog sastava dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja od autohtonih sorti maslina oblica, lastovka i levantinka. DMU iz sorte levantinka je zabilježilo veći omjer oleinske i linolne masne kiseline u odnosu na oblicu i lastovku pa se može zaključiti da takvo ulje karakterizira i veća oksidacijska stabilnost. Kod ostalih je sorti detektirana i veća prisutnost višestrukonezasićenih masnih kiselina koje su podložne oksidacijskom kvarenju tako da se može pretpostaviti da ulje iz sorte levantinke ima veću oksidacijsku stabilnost od ostalih testiranih upravo na račun vlastitog kemijskog sastava.

Topić (2022) se u svom radu bavila tematikom određivanja perioda indukcije DMU proizvedenog iz sorti oblica i levantinka uz primjenu ubrzanog toplinskog tretmana (UTT) kao predfaze procesu miješenja te je kontrolni uzorak (proizveden bez uporabe UTT) pokazao period indukcije od $167,5 \pm 11,2$ min što je znatno veći period indukcije nego je dobiveno u ovom radu gdje je ono iznosilo $92,28 \pm 2,47$ min.

Karamarko (2023) je pak ispitala utjecaj ultrazvuka (UZV) na oksidacijsku stabilnost DMU proizvedenog iz sve četiri autohtone hrvatske sorte, među koje spada i levantinka. Usporedbom kontrolnih uzoraka, odnosno uzoraka proizvedenih bez uporabe inovativnih tehnologija, primjetno je da je period indukcije ovogodišnjeg DMU znatno manji nego onog prošlogodišnjeg kada je ono iznosilo $138,8 \pm 2,9$ min. Također valja spomenuti da su, među ostalim, korišteni i jednaki uvjeti tretiranja maslinovog tijesta ultrazvukom te se može primijetiti da je period indukcije i u ovom slučaju niži u odnosu na period indukcije dobiven u radu Karamarko (2023) ($78,93 \pm 3,02$ min nasuprot $138,0 \pm 2,6$ min).

Veneziani i suradnici (2015) u svojem su istraživanju ispitivali utjecaj sorte masline i ubrzanog toplinskog tretmana, apliciranog prije procesa miješenja, na sastav te udio fenolnih i hlapljivih komponenti kod pet glavnih talijanskih sorti (Ottobratica, Cellina di Nardo, Peranzana, Coratina i Moraiolo) karakteriziranih različitim geografskim porijeklom. Rezultati istraživanja su pokazali da je došlo do povećanja koncentracije fenolnih spojeva u DMU kod testiranih sorti. Iako to nije bio predmet istraživanja, iz dobivenih rezultata se može zaključiti kako je porastom fenolnih tvari u ulju došlo i do povećanja oksidacijske stabilnosti DMU. Provedeno istraživanje elaboriralo je pozitivan utjecaj UTT na oksidacijsku stabilnost DMU te je sasvim moguće da je i u ovom istraživanju, uz kombinaciju s UZV, došlo do sličnih reakcija iako je u pitanju bila drugačija sorta masline.

Iqdiam i suradnici (2017) pratili su utjecaj ultrazvuka visoke snage na temperaturu paste od maslina, miješenje, vrijeme, učinkovitost ekstrakcije i karakteristike DMU iz dvije sorte: Arbequina i Frontoio. U radu je korišten direktan ultrazvuk snage 110 W te indirektan ultrazvuk snage 150 W u periodu od 2,4,6,8 i 10 min. Istraživanje je pokazalo značajan pad oksidacijske stabilnosti ulja obje sorte nakon 8 i 10 min direktnog i indirektnog tretmana ultrazvukom. Pretpostavka je da je ultrazvuk uzrokovao brzo zagrijavanje nakon 8 min te je na taj način smanjio razinu fenolnih tvari te time posredno utjecao i na smanjenje oksidacijske stabilnosti. Kod tretmana u trajanju od 2, 4 i 6 min nije bilo značajne razlike u oksidacijskoj stabilnosti kod obje sorte te takvi rezultati nisu u skladu s onim u ovome istraživanju gdje je došlo do pada oksidacijske stabilnosti vjerojatno uzrokovane većom snagom apliciranog ultrazvuka te drugačijom sortom.

Veneziani i suradnici (2019) proveli su istraživanje čiji je cilj bio ispitati utjecaj sorte masline na prinos i kvalitetu EDMU koje je ekstrahirano inovativnom tehnologijom pulsirajućeg električnog polja kao predtretman procesu miješenja. PEP je primijenjeno na 3 talijanske sorte (Carolea, Ottobratica i Coratina) te je u radu pokazano da PEP može povećati propusnost staničnih stijenki i uzrokovati njihovo pucanje što dovodi do povećanog prijenosa tvari u ulje čime se dodatno doprinosi njegovog kvaliteti, oksidacijskoj stabilnosti te senzorskim i zdravstvenim svojstvima. Ipak, rezultati dobiveni u ovom istraživanju ukazuju na suprotan učinak PEP-a na oksidacijsku stabilnost ulja, a razlozi koji se pritom nameću kao potencijalni odgovori su različitost kemijskog sastava sorte, indeks zrelosti ploda masline, vrijeme berbe te uvjeti proizvodnje.

5. ZAKLJUČCI

1. Kombinacija UTT i UZV kao predtretman miješenju doprinijela je povećanju oksidacijske stabilnosti DMU iz levantinke
2. Iako je PEP kao predtretman nepovoljno utjecao na oksidacijsku stabilnost DMU, u kombinaciji s UTT ima potencijala da u potpunosti zamijeni proces miješenja pri proizvodnji DMU iz levantinke
3. Način proizvodnje, odnosno aplicirane inovativne tehnologije, pokazuju visoko statistički značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost DMU, dok interakcija načina proizvodnje i procesa miješenja statistički značajno utječe na oksidacijsku stabilnost DMU. Prisutnost faze miješenja u procesu proizvodnje DMU nema statistički značajan utjecaj.

6. POPIS LITERATURE

Agrobloghortikultura.hr (2016) Levantinka, <https://agrobloghortikultura.wordpress.com/2016/04/29/levantinka/>. Pristupljeno 29. svibnja 2024.

Agroportal.hr (2019) Levantinka, sorta koja redovito i obilno rađa. <https://www.agroportal.hr/maslinarstvo/25801>. Pristupljeno 29. svibnja 2024.

Almoselhy RIM (2020) Applications od Differential Scanning Calorimetry (DSC) in Oils and Fats Reasearch. A Review. *Am Res J Agr* **6**, 1-9

Andreou V, Dimopoulos G, Alexandrakis Z, Katsaros G, Oikonomou D, Toepfl S, i sur. (2017) Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from olives subjected to nonthermal pretreatments for yield increase. *Innov Food Sci Emerg Technol* **40**, 52–57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.009>

Bukvić A (2017) Oksidacijska stabilnost i udio ukupnih fenola maslinovog ulja autohtonih hrvatskih sorti maslina - oblice, buhavice, lastovke i drobnice u periodu rane i kasne berbe (završni rad), Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split.

Choe E, Min DB (2006) Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **5**, 169-186.

Clodoveo ML, Durante V, La Notte D, Punzi R, Gambacorta G (2013) Ultra-sound-assisted extraction of virgin olive oil to improve the process efficiency. *Eur J Lipid Sci Technol* **115**, 1062–1069. DOI: 10.1002/ejlt.201200426

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

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

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

Hojka I (2022) Optimiranje DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

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

Karamarko L (2023) Utjecaj ultrazvuka na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, MIH, Poreč, str. 59-63, 77-106.

Madhujith T, Sivakanthan S (2019) Oxidative Stability of edible plants oil. U: Merillon JM, Gopal Ramawat K (ured.) *Bioactive Molecules in Food*, Springer International Publishing, Berlin/Heidelberg/New York

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

Olea Cult (2014) Hrvatske maslinarske sorte. <http://www.oleacult.com/hr/footer/hrvatske-maslinarske-sorte-2> Pristupljeno 29. svibnja 2024.

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

Rade D, Mokrovčak Ž, Štrucelj D (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 38-41, 48-49

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

Šarolić M, Gugić M, Friganović E, Tuberoso CIG, Jerković I (2015) Phytochemicals and Other Characteristics of Croatian Monovarietal Extra Virgin Olive Oils from Oblica, Lastovka and Levantinka Varieties, *Molecules* **20**, 1420-3049 doi:10.3390/molecules20034395

Škarica B, Žužić I, Bonifačić M (1996) Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, 1. izd., Punat, str. 49-52, 56-62, 64-66, 79-81, 95-97, 138-139, 143-151.

Škevin D. (2016a) Kemija i tehnologija ulja i masti (interna skripta), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str 14-17.

Škevin D. (2016b) Procesi prerade maslina i kontrola kvalitete proizvoda (interna skripta), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str 15-17, 20-27, 45-46, 51-52,

Topić 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

Velasco J, Dobarganes C (2002) Oxidative stability of virgin olive oil. *Eur J Lipid Sci Technol* **104**, 661-676. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200210\)104:9/10<661::AID-EJLT661>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<661::AID-EJLT661>3.0.CO;2-D)

Veneziani G, Esposto S, Taticchi A, Selvaggini R, Sordini B, Lorefice A i sur. (2019) Extra-Virgin Olive Oil Extracted Using Pulsed Electric Field Technology: Cultivar Impact on Oil Yield and Quality. *Front Nutr* **6**, <https://doi.org/10.3389/fnut.219.00134>

Veneziani G, Esposto S, Taticchi A, Selvaggini R, Urbani S, Di Maio I i sur. (2015) Flash Thermal Conditioning of Olive Pastes during the Oil Mechanical Extraction Process: Cultivar Impact on the Phenolic and Volatile Composition of Virgin Olive Oil. *J Agric Food Chem* **63**, 6066-6074. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01666>

Veneziani G, Esposito S, Taticchi A, Urbani S, Selvaggini R, Di Maio I i sur. (2016) Cooling treatment of olive paste during the oil processing: Impact on the yield and extra virgin olive oil quality. *Food Chem* **221**, 107–113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.067>

Vittadini E, Lee JH, Frega NG, Min DB, Vodovotz Y (2003) DSC determination of thermally oxidized olive oil. *J Am Oil Chem Soc* **80** (6), 533-537. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0733-x>

Xu T, Li J, Fan Y, Zheng T, Deng Z (2015) Comparison of oxidative stability among edible oils under continuous frying conditions, *Int J Food Prop* **18**, 1478-1490. DOI: 10.1080/10942912.2014.913181

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

Žanetić M, Jukić Špika M, Ožić MM, Brkić Bubola K (2021) Comparative Study of Volatile Compounds and Sensory Characteristics of Dalmatian Monovarietal Virgin Olive Oils. *Plants* **10**, <https://doi.org/10.3390/plants10101995>

Žanetić M, Štrucelj D, Perica S, Rade D, Škevin D, Serraioco A, Simone N (2010) Chemical composition of Dalmatian virgin olive oils from autochthonous olive cultivars Oblica, Lastovka and Levantinka, *Riv Ital Sostanze Gr* **87**(1), 24-33

Žužić I (2008) Maslina i maslinovo ulje s posebnim osvrtom na Istru, OLEA, Udruga maslinara Istarske županije, str 241-242, 250, 252-255, 276-280, 283-284, 290-292.

Izjava o izvornosti

Ja _____ Jerko Hrboka _____ 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