

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2025.

Barbara Brunović

**UTJECAJ ULTRAZVUKA NA SASTAV
HLAPLJIVIH SPOJEVA HRVATSKIH
DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju ulja i masti na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Klare Kraljić te uz pomoć Katarine Filipan, mag. ing. aliment. techn.



Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom “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) pod voditeljstvom prof. dr. sc. Dubravke Škevin

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

UTJECAJ ULTRAZVUKA NA SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA HRVATSKIH DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA

Barbara Brunović, univ. bacc. ing. techn. aliment., 0058217510

Sažetak: Kvaliteta djevičanskog maslinovog ulja (DMU) u užem smislu ovisi o razini hidrolitičkog i oksidacijskog kvarenja, ali i o prisutnim hlapljivim spojevima koji nastaju putem nekoliko mehanizama od kojih je najvažniji lipoksigenazni (LOX) put budući da se njime formiraju spojevi odgovorni za poželjnu aromu ulja. Inovativne tehnike, jedna od kojih je ultrazvuk (UZV), nastoje povećati iskorištenje procesa proizvodnje DMU, ali i poboljšati kvalitetu proizvedenog ulja. Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj ultrazvuka na sastav hlapljivih spojeva DMU hrvatskih autohtonih sorti rosulja, istarska bjelica, oblica i levantinka. Rezultati su pokazali da UZV utječe pozitivno na udio spojeva LOX puta pri nižim snagama UZV-a u uljima rosulje i oblice. UZV smanjuje udio produkata oksidacije u svim uljima te smanjuje produkte mikrobiološke aktivnosti u uljima dalmatinskih sorti i povećava udio u uljima istarskih sorti. Istraživane sorte različito odgovaraju na tretman UZV-om, no generalno se preporučuju tretmani niskih do srednjih snaga.

Glavne riječi: djevičansko maslinovo ulje, hlapljivi spojevi, ultrazvuk, hrvatske autohtone sorte

Rad sadrži: 40 stranica, 9 slika, 7 tablica, 53 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

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

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

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof.dr.sc. Dubravka Škevin (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić (mentor)
3. prof.dr.sc. Zoran Herceg (član)
4. prof.dr.sc. Sandra Balbino (zamjenski član)

Datum obrane: 29. rujna, 2025.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

EFFECT OF ULTRASOUND ON THE VOLATILE PROFILE OF CROATIAN VIRGIN OLIVE OILS

Barbara Brunović, univ. bacc. ing. techn. aliment., 0058217510

Abstract: The quality of virgin olive oil (VOO) depends not only on the extent of hydrolytic and oxidative deterioration but also on the presence of volatile compounds. These compounds are produced through several mechanisms, the most important being the lipoxygenase (LOX) pathway, which generates the molecules responsible for the oil's characteristic aroma. Innovative processing techniques, such as ultrasound (US), are being explored to enhance both the efficiency of VOO production and the quality of the final product. This study investigated the influence of ultrasound on the volatile composition of VOO obtained from Croatian indigenous varieties—Rosulja, Istarska bjelica, Oblica, and Levantinka. The results showed that at lower US power levels, Rosulja and Oblica oils exhibited an increased proportion of LOX-derived compounds. In all varieties, ultrasound reduced the presence of oxidation products. Moreover, it lowered the levels of compounds linked to microbial activity in Dalmatian varieties, while in Istrian varieties, these compounds increased. Overall, the findings indicate that different varieties respond uniquely to ultrasound treatment, though low- to medium-power applications are generally recommended.

Keywords: virgin olive oil, volatile compounds, ultrasound, Croatian indigenous varieties

Thesis contains: 40 pages, 9 figures, 7 tables, 53 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in the Library of the University of Zagreb Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

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

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

Reviewers:

1. Dubravka Škevin, PhD, Full professor (president)
2. Klara Kraljić, PhD, Associate professor (mentor)
3. Zoran Herceg, PhD, Full professor (member)
4. Sandra Balbino, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 29th, 2025.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. HLAPLJIVI SPOJEVI DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	2
2.1.1. Lipoksigenazni put.....	2
2.1.2. Reakcije oksidacije	4
2.1.3. Reakcije mikroorganizama	5
2.2. PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	6
2.2.1. Utjecaj proizvodnje DMU na hlapljive spojeve	7
2.3. UTJECAJ HLAPLJIVIH SPOJEVA NA SENZORSKA SVOJSTVA DMU.....	9
2.4. ULTRAZVUK	10
2.4.1. Primjena ultrazvuka u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	13
3.1. MATERIJALI.....	13
3.1.1. Kemikalije	13
3.1.2. Uzorci djevičanskog maslinovog ulja	13
3.1.2. Proizvodnja DMU uz tretman ultrazvukom.....	13
3.2. METODE.....	14
3.2.1. Izolacija hlapljivih komponenti DMU.....	14
3.2.2. GC/MS analiza hlapljivih komponenata	15
3.2.3. Statistička obrada.....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	17
4.1. UTJECAJ SORTE MASLINE NA SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	18
4.2. UTJECAJ ULTRAZVUKA NA SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA	23
5. ZAKLJUČCI.....	34
6. LITERATURA	35

1. UVOD

Djevičansko maslinovo ulje (DMU) važan je simbol mediteranske prehrane te se zapisi o njegovoj proizvodnji protežu od 5000 godina pr. Kr. kada su bosonogi primitivni ljudi gazili po plodu masline i shvatili da im ulje njeguje tabane (Kapellakis i sur., 2008). Osim povijesnog značaja, DMU nosi brojne zdravstvene i nutritivne vrijednosti. Sastav DMU koji uključuje visok udio oleinske masne kiseline, brojne fenole poput sekoiridoida, hidroksitirosola, skvalena itd. djeluje protiv brojnih bolesti uključujući kardiovaskularne bolesti i karcinome (Owen i sur., 2000).

U modernoj proizvodnji DMU, najveći izazov predstavlja povećanje iskorištenja procesa proizvodnje bez narušavanja kvalitete ulja. U skladu s time, proteklih godina sve se više istražuje primjena inovativnih tehnika poput ultrazvuka, mikrovalova, pulsirajućeg električnog polja i ubrzanog toplinskog tretmana putem kojih bi se skratilo vrijeme proizvodnje uz povećanje iskorištenja proizvodnog procesa i poboljšanje kvalitete DMU. Nekolicina istraživanja pokazala su da primjena ultrazvuka kao predtretman proizvodnje DMU povoljno utječe na iskorištenje procesa proizvodnje te skraćuje vrijeme miješenja tijesta bez narušavanja kvalitete (Clodoveo i sur., 2013, Clodoveo i sur., 2019, Jiménez i sur., 2007). Tretiranje ultrazvukom dovodi do fenomena kavitacije koji razara staničnu stijenku i oslobađa ulje iz stanice. No, primjena ultrazvuka djeluje i na kemijski sastav DMU te se današnja istraživanja orijentiraju prema određivanju utjecaja ultrazvuka (i preostalih inovativnih tehnologija) na pojedine komponente ulja poput antioksidansa, polifenola, sastav masnih kiselina i hlapljivih spojeva. Hlapljivi spojevi su od velike važnosti zbog direktnog utjecaja na percepciju kvalitete DMU. Formiranje hlapljivih spojeva odvija se putem tri glavna mehanizma: lipoksigenazni put, reakcije oksidacije i reakcije mikrobiološke aktivnosti.

Cilj ovog rada je istražiti utjecaj predtretmana ultrazvukom na sastav i koncentraciju hlapljivih spojeva tijekom proizvodnje DMU proizvedenih iz hrvatskih autohtonih sorti maslina od kojih su dvije istarske (istarska bjelica i rosulja) te dvije dalmatinske (oblica i levantinka).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. HLAPLJIVI SPOJEVI DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

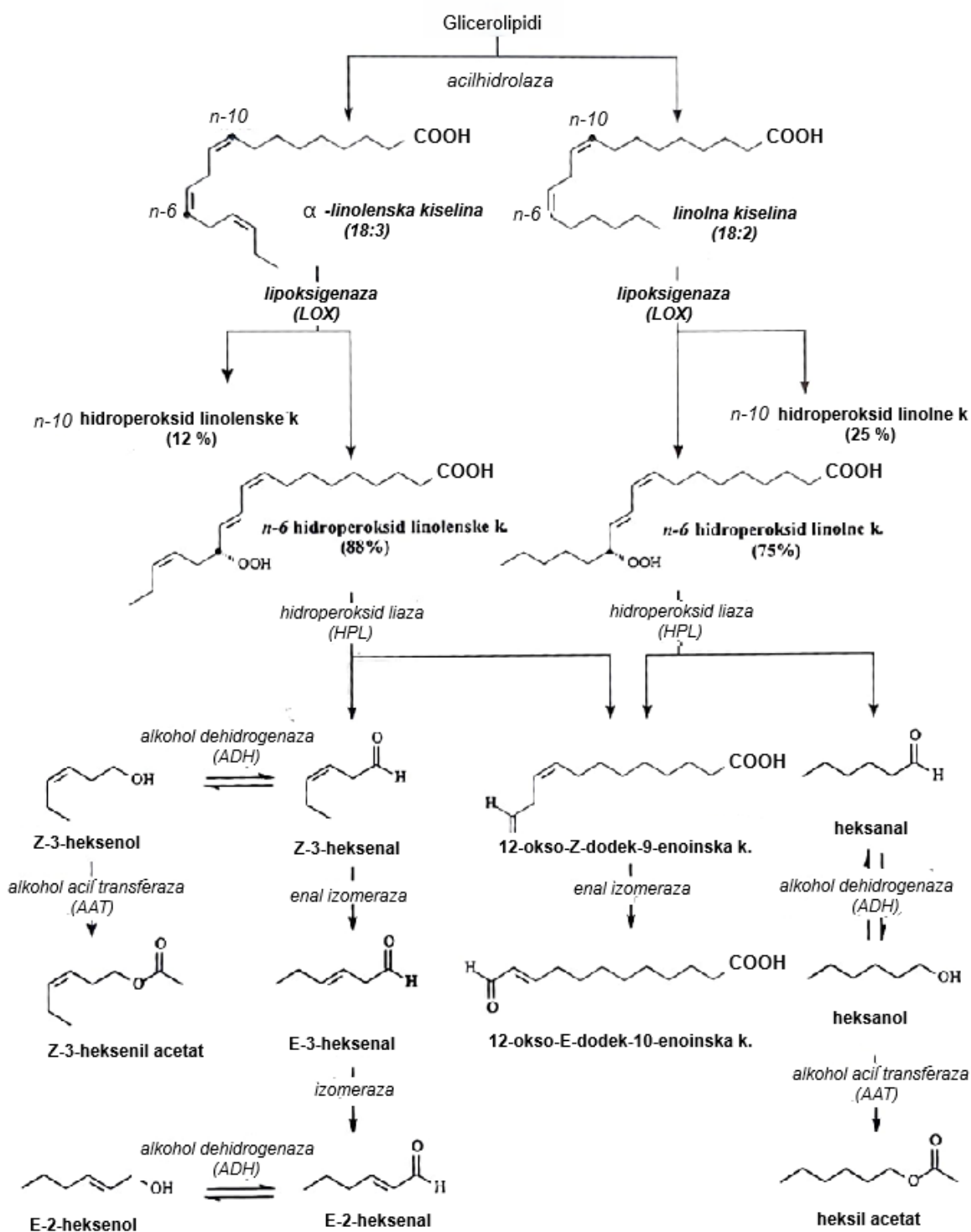
Kvaliteta djevičanskog maslinovog ulja znatno ovisi o sastavu i udjelima hlapljivih spojeva koji su odgovorni za miris i okus ulja. Hlapljivi spojevi su spojevi male molekulske mase (<300 Da), topivi u vodi i uljima te se mogu vezati na određene proteine (Gomes da Silva i sur., 2012). Njihov sastav i omjer u ulju direktno se očituje se na percepciju kvalitete ulja putem OAV (engl. odour activity value) tj. mirisne aktivnosti u ulju koji omogućuje procjenu doprinosa svakog hlapljivog spoja aromi ulja. OAV se računa dijeljenjem koncentracije spoja s njegovim pragom detekcije (Reboredo-Rodriguez i sur., 2013).

U djevičanskom maslinovom ulju, hlapljivi spojevi počinju se formirati tijekom zrenja ploda masline. Veliki udio spojeva se formira tijekom miješenja djelovanjem enzima koji se oslobađaju mljevenjem plodova masline (Kalua i sur., 2007). Većina hlapljivih spojeva odgovornih za poželjne arome u DMU nastaje putem lipoksigenaznog (LOX) puta, no također se u obzir uzimaju spojevi nastali procesima oksidacije (OX) i mikrobiološke aktivnosti (MBA) koji su odgovorni za nepoželjnu aromu. Skupine spojeva koje čine hlapljive spojeve u DMU su alifatski i aromatski ugljikovodici, alifatski i triterpenski alkoholi, aldehidi, ketoni i esteri (Gomes da Silva i sur., 2012). Pozitivna svojstva pripisuju se nezasićenim C5 i C6 aldehydima koji uglavnom potječu iz LOX puta, dok su negativna svojstva povezana s kratkolančanim razgranatim i C7-C11 aldehydima (Cecchi i sur., 2021).

2.1.1. Lipoksigenazni put

Lipoksigenazni put (LOX) započinje otpuštanjem enzima nakon oštećivanja tkiva ploda masline te čini slijed biokemijskih reakcija kojim nastaju hlapljivi spojevi odgovorni za zelenu i voćnu aromu DMU. LOX put započinje formiranjem 9- i 13-hidroperoksida linolne i linolenske kiseline djelovanjem enzima lipoksigenaze. Cijepanje 13-hidroperoksida kataliziraju hidroperoksid liaze (HPL) te se formiraju C6 aldehidi poput heksanala ili (Z)-3-heksanala, od kojih nezasićeni mogu izomerizirati u (Z)-3 ili (E)-2 izomere. Alkohol dehidrogenaza (ADH) reducira C6 aldehide u odgovarajuće alkohole, koji dalje mogu biti prevedeni u estere djelovanjem alkohol acetil transferaze (AAT). Ovim slijedom reakcija mogu nastati spojevi poput (E)-2-heksenala, (Z)-3-heksen-1-ol, heksil acetat, (E)-2-heksen-1-ol i (Z)-3-heksenil acetat. No, kada je supstrat linolenska kiselina, enzim lipoksigenaza također može katalizirati cijepanje preko alkoksil radikala što dovodi do formiranja stabilnih 1,3-penten radikala. Navedeni radikali mogu dimerizirati u C10 hidrokarbone (tj. penten dimere) ili zajedno s

hidroksi radikalima mogu tvoriti C5 alkohole koji se mogu enzimatski oksidirati u odgovarajuće C5 karbonilne spojeve poput 1-penten-3-ol, 1-penten-3-on, 2-penten-1-ol i 2-pentenal. (Angerosa i sur., 2004). Na slici 1 prikazan je slijed reakcija u lipoksigenaznom putu.



Slika 1. Nastajanje C5 i C6 hlapljivih spojeva u lipoksigenaznom putu (Koprivnjak, 2006)

Enzim lipoksigenaza je dva puta više aktivan prema linolenskoj kiselini nego linolnoj masnoj kiselini što dovodi do većeg broja sinteza C6 nezasićenih hlapljivih spojeva poput (Z)-3-heksenala, 2-heksen-1-ola i ostalih. Aktivnost LOX enzima najčešće se promatra u kiselim uvjetima sličnima u tijestu masline tijekom ekstrakcije ulja, no najviša aktivnost zabilježena je u lužnatom rangu kod kultura kalusa (masa neorganiziranih stanica biljnog parenhima) maslina što može značiti da postoje različite izoforme enzima ili je razlika u aktivnosti uzrokovana različitim metodama ekstrakcije enzima i korištenim kultivarima maslina (Kalua i sur., 2007). Lipoksigenaza je aktivna u pH rasponu od 4,5 do 8,5, no najviše je aktivna pri pH 6 (Olias i sur., 1993).

Najčešća izoforma HPL enzima je ona kojoj su supstrati 13-hidroperoksidi putem kojih nastaju spojevi odgovorni za zelenu aromu DMU. S druge strane, izoforma koja koristi 9-hidroperokside daje spojeve čije arome podsjećaju na krastavce. Najviša aktivnost HPL zabilježena je u zelenim plodovima masline tijekom prvoće faze razvoja. Tijekom pune zrelosti ploda dolazi do blagog pada aktivnosti, no kroz cijeli period zrenja aktivnost ostaje visoka. Pad koncentracije C6 hlapljivih spojeva u zrelih plodovima maslina nije prouzrokovan aktivnošću HPL, već dostupnošću supstrata jer su u maslini prisutni i drugi enzimi koji metaboliziraju 13-hidroperokside što smanjuje udio nezasićenih C6 aldehida. HPL je termolabilan te mu je optimalna aktivnost u blago kiselim uvjetima. Maksimalna aktivnost određena je pri 15 °C s značajnim padom pri 35 °C.

Aktivnost ADH smanjuje se prijelazom ploda masline iz zelene u ljubičastu boju tijekom zrenja što se slaže s opažanjem da se koncentracija C6 alkohola smanjuje porastom zrelosti ploda masline. ADH djeluje u pH rangu od 5,0 do 8,5 s optimumom pri 6,8.

AAT katalizira reakcije kojima nastaju esteri odgovorni za slatkastu i voćnu aromu DMU. Ne pokazuje aktivnost prema kratkolančanim alkoholima poput metanola i etanola te pokazuje slabu aktivnost prema butanolu i 3-metilbutanolu. Smanjena aktivnost prema kratkolančanim alkoholima objašnjava slabu pojavu heksenil acetata u DMU iako je koncentracija prekursora (Z)-3-heksenola i (E)-2-heksenola značajna među hlapljivim alkoholima. Optimalno pH područje za djelovanje AAT je u neutralnom do blago lužnatom te se značajno smanjuje u kiselom području, dok maksimalnu aktivnost pokazuje pri 35 °C (Kalua i sur., 2007).

2.1.2. Reakcije oksidacije

Neenzimatska oksidacija nezasićenih masnih kiselina odvija se procesima autooksidacije. Autooksidaciju predstavljaju niz lančanih reakcija izazvanih radikalima zbog kojih dolazi do gubitka antioksidansa te nastaju slobodni radikali i hidroperoksidi. Prvi korak autooksidacije je inicijacija tijekom koje dolazi do uklanjanja atoma vodika s lanca masne kiseline što dovodi do nastanka slobodnih radikala. Inicijaciju pospješuju toplina, metalni katalizatori i UV/VIS

svijetlo. Druga faza, propagacija, kreće reakcijom radikala s molekulom kisika što dovodi do formiranja lipidnih peroksil radikala. Hidroperoksidi su vrlo nestabilni te se razgrađuju u hlapljive i nehlapljive spojeve koji mogu oksidirati u sekundarne produkte od kojih su nekolicina odgovorna za nepoželjne arome poput užeglosti. Tijekom posljednje faze, terminacije, radikali međusobno reagiraju što dovodi do nastanka neradikalnih produkata (Cecchi i sur., 2021).

Izlaganje DMU svijetlu može dovesti do fotooksidacije zbog prisutnosti klorofila i sličnih fotosenzibilnih spojeva u ulju. Energija iz svijetla se prenosi na fotosenzibilni spoj koji potom prelazi u pobuđeno stanje te može reagirati s lipidima što dovodi do formiranja slobodnih radikala. Također, pobuđeni fotosenzibilni spoj može u reakciji s kisikom formirati singlet kisika koji tvori hidroperokside u reakciji nezasićenom masnom kiselinom (Morales i Przybylski, 2013). Hlapljivi spojevi koji se uzimaju kao indikatori oksidacije u DMU su nonanal, (E)-2-heptenal i (E,E)-2,4-heptadienal (Cecchi i sur., 2021).

2.1.3. Reakcije mikroorganizama

Plijesni i drugi mikroorganizmi mogu negativno djelovati na sastav hlapljivih spojeva prije drobljenja ploda masline zbog neispravnog skladištenja što uzrokuje rast mikroorganizama zbog truljenja plodova tijekom skladištenja nefiltriranih DMU. Stoga se preporučuje proizvesti ulje što prije nakon berbe ili skladištiti plodove u hladnim i tamnim prostorijama što je kraće moguće, a ulje filtrirati kako bi se uklonila voda i čvrste čestice, no nakon filtriranja uvijek postoji mogućnost zaostajanja čestica u ulju. Neispravno skladištenje ploda masline dovodi do rasta i razvoja mikroorganizama zbog povišene temperature i udjela vlage (Angerosa i sur., 2004).

Bakterije rodova *Clostridium* i *Pseudomonas* razvijaju se formirajući razgranate aldehide, razgranate alkohole te njihove odgovarajuće kiseline koje su odgovorne za pljesniv miris i okus. Prisutnost bakterija roda *Acetobacter* dovodi do nastanka octene arome zbog formiranja octene kiseline. Kvasci razgrađuju aminokiseline te su odgovorni za formiranje nekih razgranatih aldehida, alkohola i karboksilnih kiselina poput 2-metilbutanala i 2-metil-1-butanola iz aminokiseline izoleucin te 3-metilbutanal i 3-metil-1-butanol iz aminokiseline leucin. Zaostali kvasci te razne mliječne, octene i enterobakterije tijekom skladištenja DMU tvore hlapljive fenole dekarboksilacijom ferulinske, vanilinske i kumarinske kiseline. Također, može doći do formiranja etanola i etil acetata djelovanjem kvasaca pri povišenim temperaturama, što dovodi do nepoželjne vinske arome. Prisutnost plijesni roda *Penicillium* i *Aspergillus* smanjuje udio hlapljivih spojeva nastalih u LOX putu zbog povećane kiselosti koja inhibira LOX put te zbog kompeticije enzima dolazi do porasta koncentracije C8 hlapljivih spojeva (Cecchi i sur., 2021).

2.2. PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Proizvodnja DMU započinje berbom plodova masline pri optimalnoj zrelosti plodova. Tijekom zrenja plod masline mijenja boju te prolazi kroz razne promjene u sastavu od kojih su neke smanjenje udjela klorofila i polifenola te povećavanje udjela antocijana i triterpenskih alkohola. Optimalna zrelost opisuje se kao vrijeme u kojem plodovi masline sadržavaju najbolji omjer količine i kvalitete ulja koja se može postići u procesu proizvodnje. Plodovi se mogu ubrati i prije optimalne zrelosti, no iskorištenje procesa proizvodnje bit će znatno niže (Koprivnjak, 2006). U svrhu određivanja optimalne zrelosti ploda, uvedene su metode određivanja indeksa zrelosti ploda na temelju kojeg se određuje početak berbe. IOC (eng. International Olive Council) razvio je metodu određivanja indeksa zrelosti masline na temelju sedam pigmentacijskih razina kože i pulpe ploda čiji su primjeri prikazani na slici 2. Generalna preporuka je započeti berbu kada je trećina plodova crne, a ostatak zelene boje. Berba se uglavnom provodi ručno ili korištenjem tresača. Nakon berbe, plodovi masline trebaju se skladištiti što kraće vrijeme u tamnoj i hladnoj prostoriji.



Slika 2. Pigmentacijske razine kože i pulpe masline (IOC, 2011)

Prije samog procesa proizvodnje DMU, plodove je potrebno očistiti što uključuje odstranjivanje lišća i pranje. Zatim, plodovi se podvrgavaju mljevenju koje se može provoditi različitim strojevima. U početku su se koristili kameni mlinovi, no u modernoj proizvodnji se uglavnom koriste metalni mlinovi koji se dijele na: metalni mlin s diskovima, mlin čekićar i konusni mlin. Ako je DMU proizvedeno koristeći metalni mlin, obavezno se provodi miješenje. Tijekom procesa miješenja, dobiveno maslinovo tijesto se miješa u malaksatoru uz dodatak tople vode kako bi se smanjila viskoznost tijesta na temperaturi od maksimalno 28 °C u trajanju do maksimalno 60 minuta. Miješenje izravno doprinosi formiranju poželjnih hlapljivih spojeva. Cilj opisanog procesa je postići bolje razdvajanje uljne i vodene faze te preraspodjela poželjnih tvari poput fenola, enzima i masnih kiselina.

Sljedeći korak u proizvodnji DMU je izdvajanje samog ulja koje se provodi prešanjem na otvorenoj hidrauličkoj preši. Proces se provodi postupno radi postizanja što boljeg iskorištenja. Najveći nedostatak proizvodnje prešanjem je začepljenje i onečišćenje filtrirajućih slojnica na kojima se zadržavaju dijelovi tijesta zbog čega može doći do formiranja nepoželjnih aroma koje se mogu prenijeti na ulje. No, u modernoj proizvodnji sve se više primjenjuju dvofazni i trofazni centrifugalni dekanteri koji uz korištenje centrifugalne sile razdvajaju ulje, vodu i kominu (tj. ulje i smjesa komine i vegetabilne vode u slučaju dvofaznog dekantera). Prednost centrifugalnih dekantera je u velikom kapacitetu procesa, ali rezultira velikom količinom otpadne vode. U pojedinim državama, provodi se dodatna proizvodnja maslinovog ulja iz komine korištenjem otapala, no tada se dobiveno ulje ne smije deklarirati kao djevičansko, već kao ulje od komine maslina (Vossen, 2007).

Dobiveno ulje i dalje može biti mutno zbog prisutnog biljnog tkiva i kapi vegetabilne vode. Stoga se provodi bistrenje ulja prirodnim putem ili filtriranjem. Prirodno bistrenje odvija se u spremnicima te se temelji na principu taloženja. Talog se uklanja pretakanjem, a sadržava anaerobne mikroorganizme i enzime koji mogu formirati nepoželjnu aromu. S druge strane, filtriranje ulja se provodi na filtarskim prešama te proces može ubrzati oksidaciju ulja zbog kontakta sa zrakom, no bistrenje ulja je obavezan proces prije punjenja u boce.

Skladištenje DMU preporuča se u staklenim bocama tamne boje ako se radi o manjim volumenima ili u spremnicima od inoksa čelika predviđenog za DMU (Piscopo i Poiana, 2012).

2.2.1. Utjecaj proizvodnje DMU na hlapljive spojeve

Indeks zrelosti i sorta masline jedni su od glavnih čimbenika koji utječu na sastav i koncentraciju hlapljivih spojeva u DMU. Većini enzima uključenih u LOX put smanjuje se aktivnost većom zrelošću ploda, poput LOX i ADH što se vidi po smanjenom udjelu C6 hlapljivih spojeva (posebice onih poteklih iz linolenske kiseline). Maksimalna koncentracija većine C6 aldehida pojavljuje se kada plod masline mijenja boju iz zelene u ljubičastu. U ranoj

fazi zrelosti, udio C6 aldehida je sličan udjelu alkohola. Većina aldehida nastalih u LOX putu, poput (E)-2-heksenala, doživljava pad koncentracije većom zrelošću ploda, izuzev 3-heksenala kojemu koncentracija raste (Kalua i sur., 2007). No, navedeno ne mora vrijediti za sve sorte maslina. Benincasa i sur. (2003) zabilježili su smanjenje udjela heksan-1-ola u talijanskoj sorti Nocellara del Belice, ali porast u sorti Coratina.

Razlika u sastavu C5 i C6 hlapljivih spojeva može se pripisati i geografskom položaju uzgoja masline. Rezultati više istraživanja pokazali su da je dominacija (E)-2-heksenala tipična za europska DMU te da su talijanska ulja bogata C6 aldehydima, dok su u marokanskim uljima dominantni voćni esteri (Kalua i sur., 2007).

U samom procesu proizvodnje DMU, varijabilnost hlapljivih spojeva potječe od utjecaja uvjeta proizvodnje na aktivnost enzima odgovornih za njihovo formiranje. Visoka temperatura vode prilikom pranja plodova masline može dovesti do smanjenja udjela C6 aldehida i C5 hlapljivih spojeva zbog djelomične inaktivacije LOX i HPL enzima, dok se C6 alkoholima i esterima ne mijenja udio zbog veće termostabilnosti ADH i AAT enzima (Angerosa i sur., 2004). Tijekom mljevenja ploda masline može doći do porasta temperature što povećava iskorištenje procesa, ali i koncentraciju razgranatih kratkolančanih aldehida i alkohola koji su odgovorni za nepoželjnu aromu ulja (Cecchi i sur., 2021, Kalua i sur., 2006). Mljevenje mlinom čekićarom povišuje temperaturu tijesta i smanjuje aktivnost enzima HPL što rezultira smanjenim udjelom hlapljivih spojeva poput (E)-2-heksenala, heksanala i (Z)-3-heksen-1-ola u usporedbi s DMU koje je dobiveno mljevenjem s kamenim mlinom. U suvremenoj proizvodnji primjenom kontinuiranih metalnih mlinova zabilježene su veće koncentracije hlapljivih spojeva poput heksanala, (E)-2-heksenala i C6 estera što rezultira jačim cvjetnim i travnim aromama (Angerosa i sur., 2004).

Miješenje tijesta na 30 °C barem 45 min rezultira uljem s ugodnom zelenom aromom, dok povećanjem temperature miješenje na 35 °C rezultira nekolicinom nedostataka u ulju bez značajnog povećanja iskorištenja (Kalua i sur., 2006). Više temperature miješenja dovode do smanjenja udjela estera i (Z)-3-heksen-1-ola te povećanja udjela 1-heksanola i (E)-2-heksen-1-ola. Nadalje, više temperature aktiviraju reakcije pretvorbe aminokiselina u 2-metilbutanal i 3-metilbutanal koji su odgovorni za pljesnivu aromu. Dulje vrijeme miješenja može dovesti do smanjene zelene arome DMU, a visoka temperatura do smanjenja svih pozitivnih senzorskih nota (Angerosa i sur., 2004).

Di Giovacchino i sur. (2001) nisu zabilježili značajnu razliku u sastavu i koncentraciji hlapljivih spojeva primjenom dvofaznog i trofaznog centrifugalnog dekantera, dok su Kalogeropoulos i sur. (2014) primjenom dvofaznog dekantera zabilježili veću koncentraciju hlapljivih spojeva nastalih LOX putem u usporedbi s trofaznim dekanterom. Prilikom izdvajanja ulja koristeći trofazne centrifugalne dekantere dodaje se topla voda radi razrjeđivanja tijesta masline što može objasniti smanjeni udio C6 alkohola poput 1-heksanola i (E)-2-heksen-1-ola

u usporedbi s DMU dobivenim prešanjem zbog interakcija spojeva s vegetabilnom vodom (Angerosa i sur., 2004).

Tijekom skladištenja DMU dolazi do promjene u senzorskom profilu zbog smanjenja udjela produkata LOX puta, ali i formiranja određenih hlapljivih spojeva koji su odgovorni za nepoželjne arome krastavca, mutnog sedimenta i užglosti. Prisutnost sedimenta u nefiltriranim DMU može dovesti do razvoja nepoželjne arome mutnog sedimenta zbog fermentacije koja tvori maslačne spojeve (Angerosa i sur., 2004).

2.3. UTJECAJ HLAPLJIVIH SPOJEVA NA SENZORSKA SVOJSTVA DMU

Glavna karakteristika DMU njegov je jedinstven okus i miris zbog velikog broja različitih hlapljivih spojeva. Hlapljivi spojevi stimuliraju gustativne i olfaktorne receptore što potiče kemestetičku percepciju pikantnosti, trpkosti i metalnih aroma (Gomes da Silva i sur., 2012).

Tri su glavne pozitivne arome DMU: voćno, gorko i pikantno. Voćna aroma je skup olfaktornih osjeta karakterističnih za DMU ovisno o sorti te nastaje od zdravih i svježih plodova masline. Percipira se izravno ili kroz stražnji dio nosa. Gorka aroma je primarni okus DMU dobivenog od zelenih maslina ili maslina koje mijenjaju boju te se osjeća na stražnjem dijelu jezika u „V“ području. Pikantnost ulja je oštar taktilni osjećaj karakterističan za ulja proizvedena na početku berbe, primarno od plodova masline koji nisu još zreli te se može osjetiti u cijeloj usnoj šupljini i posebice u grlu (IOC, 2024).

Hlapljivi spojevi odgovorni za poželjnu aromu DMU formiraju se u LOX putu, a sastoje se od C6 aldehida i alkohola, njihovih odgovarajućih estera te C5 spojevi. Navedeni spojevi odgovorni su za zelenu aromu DMU (Morales i sur., 1999). DMU proizvedeno pravilima struke sadržava od 60 do 80 % C6 aldehida, alkohola i estera koji se formiraju u LOX putu (Koprivnjak, 2006).

Zreli plodovi masline daju ulje koje je blaže, više aromatično i voćno. Zeleni plodovi masline daju ulje koje je travnato, zeljasto, više gorko i trpko. Voćnost ovisi o sorti masline, a sveukupne zelene i voćne arome ovise o sastavu i koncentraciji hlapljivih spojeva (Reboredo-Rodriguez i sur., 2013). Hlapljivi spojevi odgovorni za zelenu, voćnu i generalno poželjnu aromu DMU nastaju u LOX putu te uključuju ponajviše aldehide od kojih su za zelenu i voćnu aromu odgovorni (E)-2-heksenal i (Z)-3-heksenal. Za voćnu notu odgovorni su spojevi poput 1-penten-3-on, 1-penten-3-ol i 1-heksanol. U tablici 1. prikazana su mirisna svojstva hlapljivih spojeva u DMU.

Tablica 1. Mirisna svojstva hlapljivih spojeva DMU

Spoj	Mirisno svojstvo
2-metilbutanal	Mokro drvo, pljesnivo (Angerosa i sur., 1996, Inarejos-Garcia i sur., 2010)
1-penten-3-ol	Slatko, egzotično voće (Salivaras, 2017)
1-penten-3-on	Slatko, jagodasto (Morales i sur., 1995)
pentanal	Drvenasto, gorko, uljasto (Pitarević, 2013)
2-pentenal	Zeleno, ugodno (Kiritsakis, 1998)
(E)-2-penten-1-ol	Egzotično voće (Salivaras, 2017)
(Z)-2-penten-1-ol	Banana, badem, egzotično voće, zeleno voćno (Kiritsakis, 1998, Salivaras, 2017)
3-heksenal	Zeleno, artičoka (Kiritsakis, 1998)
2-heksenal	Voćno, bademasto (Morales i sur., 1995)
3-heksen-1-ol	Banana (Morales i sur., 1995)
(Z)-2-heksen-1-ol	Zeleno voćno (Salivaras, 2017)
(E)-2-heksen-1-ol	Zeleno, travnasto, cvjetno (Morales i sur., 1995, Salivaras, 2017)
1-heksanol	Voćno, aromatično, nježno (Morales i sur., 1995)
2,4-heksadienal	Zrelo voće (Morales i sur., 1995)
3-heksenil acetat	Zelena banana, zeleno lišće (Morales i sur., 1995)
heksil acetat	Slatko, voćno, zeleno (Morales i sur., 1995)
nonanal	Citrusno voće (Salivaras, 2017)

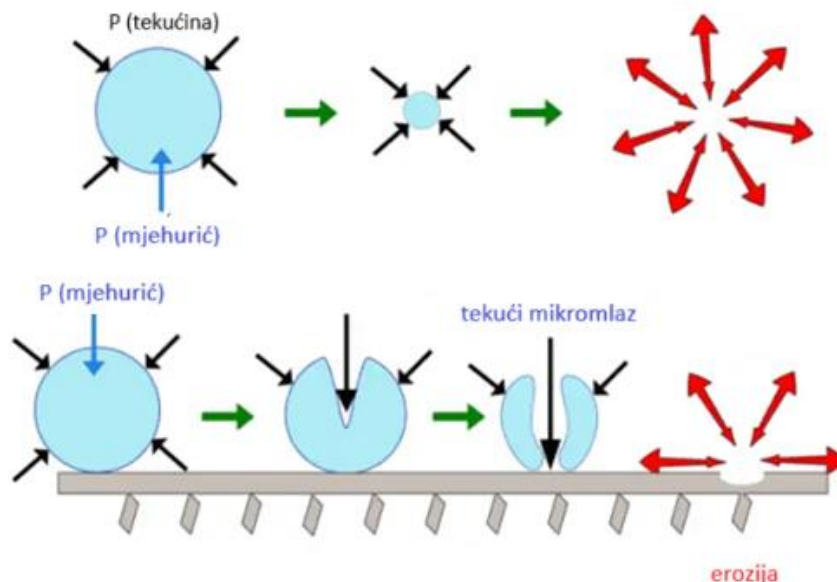
Osim pozitivnih aroma, IOC (2024) odredio je i glavne negativne arome DMU koje uključuju: pljesnivi sediment, vlažno/zemljano, octeno, kiselo, užeglo i vlažno drvo. Hlapljivi spojevi odgovorni za negativne arome uglavnom se formiraju procesima oksidacije i mikrobiološke aktivnosti. Kao jedan od indikatora oksidacije u DMU uzima se omjer udjela heksanala i nonanala te heksanala i (E)-2-heksanala. Heksanal sam po sebi nije adekvatan indikator jer može nastati u LOX i OX putu. Također, karboksilne kiseline, oktani, laktoni i furani povezuju se s procesom oksidacije (Cecchi i sur., 2013).

2.4. ULTRAZVUK

Ultrazvuk (UZV) predstavljaju mehanički valovi kojima je za širenje potreban elastični medij na frekvencijama od 20 kHz nadalje. Dijeli se na ultrazvuk visokog (od 20 do 100 kHz) i

niskog (od 1 do 10 MHz) intenziteta. U prehrambenoj industriji primjenjuje se zbog mehaničkog učinka izazivanja fenomena kavitacije. Do kavitacije u tekućini dolazi kada su vrijednosti negativnog tlaka ispod tlaka pare tekućine, što znači da dolazi do promjene faze iz tekućine u plin čime nastaju šupljine tj. mjehurići koji sadržavaju paru. Promjenom tlaka dolazi do implodije nastalih mjehurića što stvara intenzivne udarne valove (slika 3). Ako se implodija dogodi blizu stanične stijenke u stanici, nastaje tekući mikromlaz koji razbija stijenku što oslobađa sadržaj stanice (Clodoveo i sur., 2019).

Osim mehaničkog učinka, UZV primjenom na tekućine pokazuje i toplinski učinak koji nastaje apsorpiranjem kinetičke energije UZV valova te se ona može pretvoriti u toplinu. Biljna tkiva mogu apsorbirati kinetičku energiju što dovodi do porasta temperature u stanicama te se opisani fenomen naziva atenuacija (Clodoveo, 2013).



Slika 3. Ekspanzija i kolaps kavitacijskog mjehurića (Sarkar i sur., 2018)

2.4.1. Primjena ultrazvuka u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja

U modernoj proizvodnji DMU, najveći izazov predstavlja iskorištenje procesa uz održavanje visoke kvalitete. Ultrazvuk je jedna od inovativnih metoda koja sve više pronalazi primjenu u proizvodnji DMU zbog prijašnje opisanog fenomena kavitacije. Ekstraktibilnost ulja iz ploda masline ovisi o udjelu vlage tijesta te o procesnim parametrima poput vremena i temperature miješenja te se primjenom UZV-a nastoji smanjiti vrijeme miješenja.

Proces miješenja može se podijeliti u dvije faze: „zagrijavanje“ i „efektivno miješenje“. U

prvoj fazi promatra se vrijeme potrebno da tijesto dostigne radnu temperaturu, a u drugoj fazi zapravo započinje miješenje. Trajanje zagrijavanja može biti do 50 % ukupnog vremena procesa te na njega utječe i temperatura prostorije. Primjenom UZV-a vrijeme potrebno da se tijesto zagrije na radnu temperaturu smanjeno je za 60 % s prvotnih 25 minuta na 10 minuta bez negativnih utjecaja na parametre kvalitete DMU (Clodoveo, 2013).

Juliano i sur. (2017) zabilježili su povećanje ekstraktibilnosti DMU za 3,2 % primjenom duljeg tretmana UZV-om (do 15 minuta) te olakšano razdvajanje ulja sonikacijom prije i/ili nakon miješenja. Tretmani duljeg trajanja s nižom snagom UZV-a rezultirali su većim iskorištenjem procesa u usporedbi s tretmanima kraćeg trajanja i više snage. UZV nije imao negativan utjecaj na parametre kvalitete DMU.

Almeida i sur. (2016) proveli su istraživanje u kojem je 15 minuta provedeno tradicionalno miješenje te 15 minuta sonikacije tijesta ($f = 25 \text{ kHz}$, $P = 520 \text{ W}$). Tretman UZV-om pozitivno je utjecao na iskorištenje procesa ekstrakcije ulja, zabilježeni su veći udjeli fenola, C5 i C6 hlapljivih spojeva te nije došlo do promjene parametara kvalitete (udio slobodnih masnih kiselina i peroksidni broj) DMU.

U istraživanju Jiménez i sur. (2007) provedeno je tretiranje tijesta direktnom ($f = 24 \text{ kHz}$, $P/V = 105 \text{ W/cm}^2$) i indirektnom ($f = 25 \text{ kHz}$, $P = 150 \text{ W}$) sonikacijom. Oba tretmana povećavala su iskorištenje ekstrakcije ulja. Nadalje, nakon oba tretmana zabilježena je niža vrijednost peroksidnog broja, K_{232} i K_{270} koji su pokazatelji oksidacijskog kvarenja DMU. S druge strane, tretmanima je došlo do smanjenja ukupnog broja polifenola i tokoferola, ali i do povećanja udjela karotenoida i klorofila. Autori navode kako se najboljim tretmanom pokazala direktna sonikacija u trajanju od 4 minute.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Kemikalije

Kao interni standard u ovom istraživanju korišten je 4-metil-2-pentanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Njemačka).

3.1.2. Uzorci djevičanskog maslinovog ulja

Ovo istraživanje provedeno je na DMU proizvedenima u maslinarskoj godini 2022./2023. od hrvatskih autohtonih sorti maslina od kojih su dvije istarske (istarska bjelica i rosulja) te su dvije dalmatinske sorte (levantinka i oblica). Masline za proizvodnju ulja istarskih sorti uzgojene su i ubrane na OPG Vandelić na području Bala u Istri, a masline za proizvodnju ulja dalmatinskih sorti uzgojene su i ubrane na području Kaštela u masliniku Instituta za jadranske kulture i melioraciju krša. Ulja su proizvedena laboratorijskim postupkom nakon kojeg je proveden predtretman ultrazvukom prije faze miješenja. Proizvedena ulja skladištena su u bocama tamnog stakla na temperaturi do 20 °C do analiza.

3.1.2. Proizvodnja DMU uz tretman ultrazvukom

Uzorci DMU ovog istraživanja proizvedeni su koristeći Abencor MC2 sistem (Ingenierías y Sistemas, Sevilla, Španjolska) uz korištenje ultrazvuka kao predtretman miješenju. Za proizvodnju DMU uzeto je 800 g plodova maslina svake istraživane sorte koji su prethodno očišćeni i oprani. Očišćeni plodovi masline samljeveni su na mlinu čekićaru (MM-100) koji je dio navedenog Abencor MC2 sistema. Dobiveno maslinovo tijesto podvrgnuto je predtretmanima UZV-om pomoću ultrazvučne kupelji Sonoreks Digiplus (BANDELIN Electronic, Berlin, Njemačka), maksimalne snage 640 W, napona od 120 do 240 V te frekvencije od 20 kHz. U tablici 2 navedeni su parametri predtretmana ultrazvukom. Parametri snage UZV kupelji i vremena predtretmana određeni su prema centralnom kompozitnom planu.

Tablica 2. Parametri predtretmana ultrazvukom: snaga UZV kupelji (W) i vrijeme predtretmana (min)

Oznaka uzorka	Broj paralelnih proizvodnji	Vrijeme (min)	Snaga UZV kupelji (W)
Kontrola	3	-	-
10/256	1	10	256
5/320	1	5	320
15/320	1	15	320
3/448	1	3	448
10/448	5	10	448
17/448	1	17	448
5/576	1	5	576
15/576	1	15	576
10/640	1	10	640

Nakon tretiranja UZV-om, provedeno je miješenje tijesta na termomiješalici s vodenom kupelji (TM-100) u trajanju od 40 minuta pri temperaturi od 27 °C i centrifugiranje pomoću centrifuge (CF-100) u trajanju od 90 sekundi pri 3500 o/min radi izdvajanja ulja. Dobiveno ulje dodatno je izbistreno finim centrifugiranjem na centrifugi Hettich Universal 320R (Andreas Hettich GmbH & Co. KG) na 18 °C u trajanju od 4 minute pri 5000 o/min.

3.2. METODE

3.2.1. Izolacija hlapljivih komponenti DMU

U vijalu od 20 mL izvagano je 15 mg otopine internog standarda (0,15 % otopina 4-metil-2-pentanola u rafiniranom suncokretovom ulju) i 10 g uzorka DMU. Dodan je magnet te je vijala zatvorena čepom sa silikonskom septom. Vijala s uzorkom je postavljena u termoblok s magnetskom miješalicom (Pierce Reacti-Therm Heating/Stirring Module, Artisan, Champaign, SAD) i temperirana na 40 °C kroz 10 minuta nakon čega je kroz silikonsku septu čepa postavljeno vlakno za mikroekstrakciju na čvrstoj fazi (SPME). Upotrijebljeno je divinilbenzen/karboxen/polidimetilsiloksansko (DVB/CAR/PDMS) vlakno debljine omotača polimera 50/30 µm i duljine 2 cm (Supelco, Bellfonte, SAD). Adsorpcija hlapljivih komponenata iz prostora iznad uzorka provedena je kroz 30 minuta pri 40 °C uz konstantno miješanje uzorka.

3.2.2. GC/MS analiza hlapljivih komponenata

Nakon izolacije, vlakno je odmah postavljeno na injektor plinskog kromatografa u „splitless“ načinu rada radi provođenja desorpcije spojeva u trajanju od jedne minute na temperaturi injektora od 260 °C. Korišten je plinski kromatograf Agilent Technologies 8890 GC System s masenim detektorom Agilent Technologies 7000D Triple Quadrupole mass detector (Agilent, Santa Clara, SAD). Početna temperatura pećnice od 30 °C zadržana je tri minute te je nakon toga povišena na 150 °C brzinom od 5 °C/min, a zatim na 250 °C brzinom od 20 °C/min te je navedena maksimalna temperatura zadržana pet minuta. Ukupno vrijeme analize bilo je 37 minuta, a za razdvajanje spojeva korištena je HP-5 kapilarna kolona (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm; Agilent, Santa Clara, SAD) s 5 %-tnim fenil-metil-polisiloksanom kao stacionarnom fazom i helijem kao mobilnom fazom s konstantnom brzinom protoka od 1,5 mL/min. Temperatura ionskog izvora bila je postavljena na 250 °C, a transfer line-a na 260 °C. Maseni spektri snimani su u rasponu od 50-550 *m/z*.

Nakon analize, identifikacija spojeva provedena je uspoređivanjem masenih spektara detektiranih spojeva s onima dostupnima u NIST bazi podataka (eng. National Institute of Standards and Technology). Maseni udio svakog spoja izračunat je koristeći vrijednosti površine pika na kromatogramu, mase i masenog udjela internog standarda te mase uzorka prema navedenoj formuli:

$$\gamma(x) = \frac{A(x) * m(IS) * \gamma(IS) * 1000}{A(IS) * m(uz)}$$

gdje je:

$\gamma(x)$ – maseni udjel spoja (mg/kg)

$A(x)$ – površina pika spoja

$m(IS)$ – masa internog standarda (g)

$\gamma(IS)$ – maseni udjel internog standarda (mg/g)

$A(IS)$ – površina pika internog standarda

$m(uz)$ – masa uzorka (g)

1000 – faktor korekcije za izračun u mg/kg

3.2.3. Statistička obrada

Kako bi se utvrdio utjecaj UZV-a na sastav hlapljivih komponenti DMU-a hrvatskih autohtonih sorti maslina definiran je plan pokusa prema centralnom kompozitnom planu, u programskom sustavu Design-Ekspert 10.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, SAD). Planom pokusa varirane su nezavisne varijable, vrijeme od 3 do 17 min i snaga ultrazvučne kupelji od 256 do 640 W. Svi rezultati su prikazani kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija najmanje dva analitička određivanja. Kako bi se utvrdio utjecaj sorte na sastav hlapljivih spojeva na kontrolnim je uzorcima provedena je one-way analiza varijance (ANOVA). Za spojeve koji su pokazali statistički značajnu ovisnost o sorti proveden je Tukey-ev test višestruke usporedbe radi utvrđivanja razlika između sorata. Ista je metodologija korištena za utvrđivanje utjecaja načina proizvodnje na sastav hlapljivih tvari unutar pojedine sorte. Analiza varijance (ANOVA) i Tukey-ev test provedeni su s razinom vjerojatnosti od 95 %, ($p \leq 0,05$) koristeći program XLSTAT 2023 (Lumivero, Denver, SAD).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Suvremena proizvodnja DMU temeljena isključivo na mehaničkim postupcima osigurava dobivanje ulja visoke kvalitete. No s druge strane, korištenje samo mehaničkih postupaka uzrokuje relativno nisko iskorištenje proizvodnje što i danas ostaje glavni problem proizvodnje DMU. U posljednjih dvadesetak godina, taj se problem nastoji riješiti uvođenjem novih tehnologija u proizvodnju poput ultrazvuka, mikrovalova, pulsirajućeg električnog polja, visokog hidrostatskog tlaka, ubrzanog toplinskog tretmana i dr. Iako je cilj uvođenja inovativnih tehnika veća količina proizvedenog ulja, izrazito je bitno očuvanje kvalitete i nutritivne vrijednosti proizvedenog ulja. Kvaliteta DMU se, osim kemijsko-fizikalnim metodama, određuje i senzorskom analizom na koju direktno utječe sastav hlapljivih spojeva. Navedenim tehnikama pokušava se povećati iskorištenje procesa proizvodnje DMU-a, ali i povoljno utjecati na profil hlapljivih spojeva zbog čega se sve više istražuje njihov utjecaj i primjena u proizvodnji.

Ultrazvuk postaje sve češće istraživana inovativna tehnika budući da njegovom primjenom dolazi do fenomena „efekta spužve“ kojim je omogućeno kretanje tekućine (u ovom slučaju DMU) kroz mikrokanale koji nastaju u krutim dijelovima stanica što pospješuje ekstrakciju ulja. Neka od dosadašnjih istraživanja pokazala su kako direktna sonikacija povećava ekstraktibilnost ulja kod maslina s visokim udjelom vode (>50 %), a indirektna sonikacija povećava ekstraktibilnost kod plodova s nižim udjelom vode (<50 %). Tretman ultrazvukom povećao je udjele tokoferola, klorofila i karotenoida te nije došlo do detekcije hlapljivih spojeva koji su povezanim s neugodnim okusima i mirisima (Jiménez i sur., 2007). Također, u navedenom istraživanju te u istraživanju Clodoveo i sur. (2013) došlo je do smanjenja gorčine i trpkosti proizvedenih ulja.

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj ultrazvuka na sastav hlapljivih spojeva DMU hrvatskih autohtonih sorti od kojih su dvije istarske (rosulja, istarska bjelica) i dvije dalmatinske (oblica, levantinka). Utjecaj ultrazvuka određen je praćenjem promjena u sastavu poželjnih spojeva koji nastaju iz LOX puta u odnosu na kontrolne uzorke, ali i praćenjem promjena u sastavu nepoželjnih spojeva koji nastaju procesom oksidacije ili kao rezultat mikrobiološke aktivnosti. Uzorci DMU proizvedeni su uz tretman ultrazvukom koji je proveden odmah nakon mljevenja, a prije faze miješenja, nakon čega je provedena mikroekstrakcija hlapljivih spojeva na čvrstu fazu (SPME) iz nadprostora uzoraka ulja. Analiza hlapljivih spojeva provedena je plinskom kromatografijom (GC), a identifikacija i kvantifikacija detektiranih hlapljivih spojeva provedena je masenom spektrometrijom (MS). Dobiveni rezultati statistički su obrađeni te prikazani grafički i tablično.

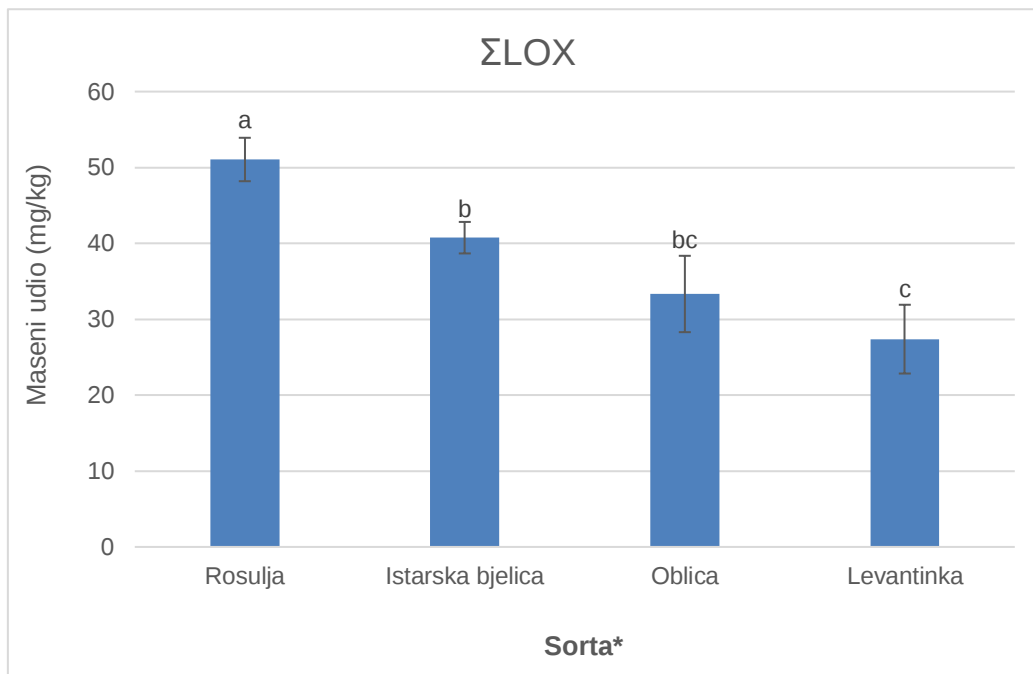
4.1. UTJECAJ SORTE MASLINE NA SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Utjecaj sorte na sastav hlapljivih spojeva proizvedenih DMU ispitan je analizom sastava hlapljivih komponenti laboratorijski proizvedenih uzoraka ulja bez predtretmana ultrazvukom (kontrolni uzorci) sorti rosulje, istarske bjelice, oblice i levantinke. Na slikama 2-4 prikazani su maseni udjeli produkata LOX puta, oksidacije (OX) i mikrobiološke aktivnosti (MBA) u navedenim kontrolnim uzorcima.

Kao produkti LOX puta detektirani su sljedeći spojevi:

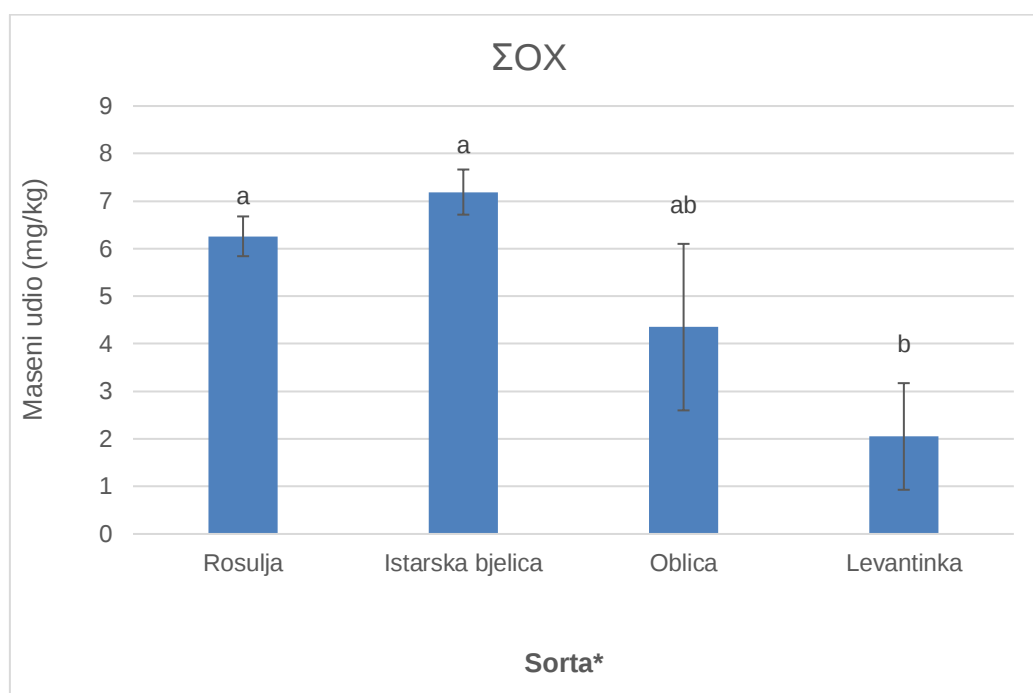
- Aldehidi: 2-pental, 3-heksenal, 2-metil-4-pental, 2-heksenal, s time da 3-heksenal i 2-metil-4-pental nije bilo moguće razdvojiti tijekom obrade podataka, stoga je njihov udio prikazan kao zbroj udjela oba spoja.
- Alkoholi: 1-penten-3-ol, (E)-2-penten-1-ol, (Z)-2-penten-1-ol, (Z)-3-heksen-1-ol, 2-heksen-1-ol, 1-heksanol
- Ketoni: 1-penten-3-on
- Esteri: 3-heksenil acetat i heksil acetat.

Ukupni udio produkata oksidacije sačinjavaju pentanal, 2,4-heksadienal, 4-oksoheksa-2-enal i nonanal, dok je od produkata mikrobiološke aktivnosti detektiran jedino 2-metilbutanal.



Slika 4. Ukupni maseni udjel (mg/kg) produkata lipoksigenaznog puta (Σ LOX) u kontrolnim uzorcima hrvatskih autohtonih djevičanskih maslinovih ulja; *sorta ima značajan utjecaj na udjel hlapljivih spojeva ($p \leq 0,05$); uzorci označeni različitim slovima statistički se razlikuju prema Tukeyevom testu višestruke razlike ($p \leq 0,05$)

Na slici 4 vidljivo je da je u uljima istarskih sorti (rosulja i istarska bjelica) viši maseni udio produkata LOX puta nego u uljima dalmatinskih (oblica i levantinka). Slični rezultati dobiveni su i u istraživanju Belavić (2025) u kojem se također navodi da istarske sorte sadržavaju više spojeva LOX puta. Kao razlog tome navode se niže prosječne temperature u Istri nego u Dalmaciji, a isti zaključak naveli su i Lukić i sur. (2019) u svome istraživanju. Rezultati Tukey-evog testa višestruke usporedbe potvrđuju da geografski položaj i agroklimatski uvjeti tijekom razvoja i zrenja ploda utječu na ukupnu koncentraciju produkata LOX puta.

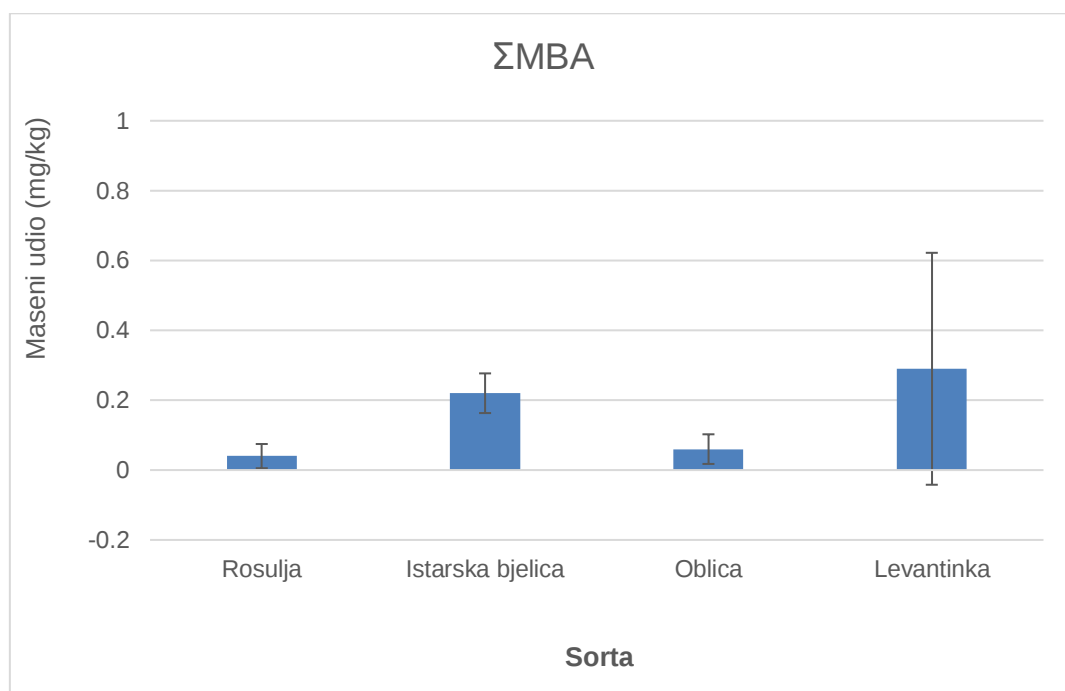


Slika 5. Ukupni maseni udjel (mg/kg) produkata oksidacije (Σ OX) u kontrolnim uzorcima hrvatskih autohtonih djevičanskih maslinovih ulja; *sorta ima značajan utjecaj na udjel hlapljivih spojeva ($p \leq 0,05$); uzorci označeni različitim slovima statistički se razlikuju prema Tukeyevom testu višestruke razlike ($p \leq 0,05$)

Rezultati određivanja udjela spojeva koji nastaju oksidacijom (slika 5) pokazuju da ulja istarskih sorti također imaju više udjele produkata oksidacija u odnosu na dalmatinske sorte. Dobiveni rezultati ne slažu se s rezultatima u radu Belavić (2025) u kojemu ulju rosulje sadržava najmanju koncentraciju produkata oksidacije, ali u oba rada je visok maseni udio produkata oksidacije u ulju istarske bjelice. Obzirom da su uzorci iz rada Belavić (2025) proizvedeni iste godine kao i uzorci ovog rada, razlika u koncentraciji produkata oksidacije može se pripisati uvjetima skladištenja i rukovanja uzoraka tijekom proizvodnje. Istraživanje Lukić i sur. (2019) pokazalo je da istarske sorte istarska bjelica i rosulja sadržavaju više

ukupnih fenola od dalmatinske sorte oblice, što bi trebalo rezultirati manjom koncentracijom produkata oksidacije budući da fenoli djeluju antioksidacijski. Rezultati ovog rada pokazali su da ulja istarskih sorti imaju više produkata oksidacije što se ne slaže sa zaključkom navedenog istraživanja, no uzrok tome može biti različit indeks zrelosti maslina u trenutku berbe.

Soldo i sur. (2024) ističu da koncentracija ukupnih fenola ovisi o zrelosti ploda masline u trenutku berbe i varira ovisno o godini tj. klimatskim uvjetima. Viši indeks zrelosti maslina dalmatinskih sorti oblice i levantinke rezultirao je manjom ukupnom koncentracijom fenolnih spojeva u ulju. Isti zaključak postigli su Škevin i sur. (2003) istražujući utjecaj indeksa zrelosti na koncentraciju fenola u uljima istarskih sorti istarska bjelica i buža. Osim fenola, tokoferoli su iznimno bitni antioksidansi čija je primarna uloga zaštita polinezasićenih masnih kiselina od oksidacije. U radu Grujin (2024) određen je udio tokoferola u DMU hrvatskih sorti. Rezultati su pokazali da je u ulju rosulje najniži udio tokoferola, dok je u ulju levantinke najviši što se slaže s rezultatima ovog rada obzirom da ulje rosulje sadržava visok udio produkata oksidacije, a ulje levantinke najniži.



Slika 6. Ukupni maseni udjel (mg/kg) produkata mikrobiološke aktivnosti (Σ MBA) u kontrolnim uzorcima hrvatskih autohtonih djevičanskih maslinovih ulja

Rezultati prikazani na slici 6 prikazuju da sorta nije imala utjecaj na udjele produkata mikrobiološke aktivnosti kontrolnih uzoraka ($p > 0,05$) što je u skladu s rezultatima iz rada Belavić (2025). Mikrobiološke kulture pronađene u DMU uglavnom su plijesni roda *Aspergillus* i kvasci. Budući da se DMU ne rafinira, svježe ekstrahirano ulje može sadržavati niske količine vode koja je emulgirana u ulju te sadržava navedene mikroorganizme (Palumbo i Harris,

2011). Istraživanje Vichi i sur. (2011) pokazuje da aktivnost mikrobiote DMU tijekom ekstrakcije ulja znatno utječe na sintezu hlapljivih spojeva tako da smanjuje razinu C5 spojeva nastalih u LOX putu. Lukić i sur. (2019) istraživali su sastav hlapljivih spojeva u istarskim i dalmatinskim sortama DMU. Koncentracija 2-metilbutanala u ulju istarske bjelice veća je od koncentracije u ulju rosulje te je koncentracija spoja u ulju oblice najniža što se slaže s rezultatima ovog rada, no koncentracija 2-metilbutanala u navedenom istraživanju značajno je viša uspoređujući s ovim radom.

Tablica 3. Maseni udjeli hlapljivih komponenti iskazani u mg/kg u kontrolnim uzorcima DMU

Spoj	Sorta			
	Rosulja	Istarska bjelica	Oblica	Levantinka
Aldehidi				
2-metilbutanal	0,04 ± 0,03	0,22 ± 0,06	0,06 ± 0,04	0,29 ± 0,33
pentanal	0,35 ± 0,30	0,29 ± 0,33	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
2-pentenal	0,16 ± 0,11	0,24 ± 0,04	0,21 ± 0,05	0,14 ± 0,18
2-heksenal	37,18 ± 4,21 a	15,32 ± 1,20 b	9,99 ± 1,22 b	9,58 ± 5,18 b
3-heksenal + 2-metil-4-pentenal	7,20 ± 0,89 c	14,3 ± 0,63 a	10,16 ± 0,91 b	1,58 ± 0,93 d
2,4-heksadienal	3,28 ± 0,26 a	2,97 ± 0,21 a	2,40 ± 1,34 ab	1,37 ± 0,88 b
4-oksoheks-2-enal	2,27 ± 0,25 b	3,61 ± 0,38 a	1,83 ± 0,45 b	0,47 ± 0,33 c
nonanal	0,36 ± 0,06 a	0,33 ± 0,05 b	0,13 ± 0,01 c	0,21 ± 0,04 b
Alkoholi				
1-penten-3-ol	1,49 ± 1,46	0,38 ± 0,44	1,47 ± 2,37	4,46 ± 3,41
(E)-2-penten-1-ol	0,05 ± 0,06	0,16 ± 0,03	0,12 ± 0,09	0,37 ± 0,75
(Z)-2-penten-1-ol	1,32 ± 0,08 ab	1,95 ± 0,12 a	0,88 ± 0,17 b	1,31 ± 0,88 ab
(Z)-3-heksen-1-ol	1,17 ± 2,02	2,16 ± 0,51	5,51 ± 2,45	2,65 ± 1,84
2-heksen-1-ol	0,10 ± 0,02	0,00 ± 0,00	2,08 ± 2,36	1,36 ± 1,57
1-heksanol	0,00 ± 0,00	0,11 ± 0,02	0,71 ± 0,71	1,63 ± 1,89
Ketoni				
1-penten-3-on	1,93 ± 1,67 b	6,14 ± 0,65 a	2,21 ± 1,65 b	0,00 ± 0,00 b
Esteri				
3-heksenil acetat	0,44 ± 0,25 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	2,72 ± 0,38 a
heksil acetat	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	1,59 ± 0,11 a

Prema podacima iz tablice 3, 2-heksenal je najzastupljeniji hlapljivi spoj u svim sortama. Istarske sorte sadržavaju značajno veću koncentraciju navedenog spoja što se može pripisati genetskim obilježjima sorte, ali i zrelosti ploda prilikom berbe. Naime, Kalua i sur. (2007) u svome istraživanju navode da se u velikom broju sorti maslina koncentracija 2-heksenala i većine aldehida iz LOX puta smanjuje što je plod zreliji, izuzev koncentracije 3-heksenala čija se koncentracija povećava. Razlog tomu je da se smanjuje aktivnost enzima LOX puta sa zrelosti ploda. Glavni indikatori zrelosti ploda masline su (Z)-3-heksen-1-ol, 2-heksen-1-ol i heksil acetat (Aparicio i Morales, 1998). Uzorci oblice i levantinke sadrže veći maseni udio (Z)-3-heksen-1-ola i 2-heksen-1-ola, manji udio 2-heksenala te levantinka znatno veći maseni udio heksil acetata, što bi trebalo indicirati viši indeks zrelosti dalmatinskih sorti, no u trenutku berbe indeks zrelosti levantinke iznosio je 2,01 te oblice 1,75 što djelomično potvrđuje zaključak navedenog istraživanja obzirom da su indeksi zrelosti istarske bjelice 1,32 i rosulje 2,19. Rosulja sadržava najveći udio 2-heksenala, najniži udio (Z)-3-heksen-1-ola i heksil acetata te nizak udio 2-heksen-1-ola što se ne slaže sa zaključkom radova Kalua i sur. (2007) te Aparicio i Morales (1998), no u istraživanjima Brkić Bubola i sur. (2012) i Lukić i sur. (2019) ulje rosulje sadržavalo je najviši udio 2-heksenala u usporedbi s ostalim sortama što može značiti da je visok udio navedenog spoja karakteristika sorte. Smanjenje masenog udjela 2-heksenala te povećanje masenog udjela (Z)-3-heksen-1-ola i 2-heksen-1-ola zrenjem maslina također su zabilježili Soldo i sur. (2024) u DMU oblice.

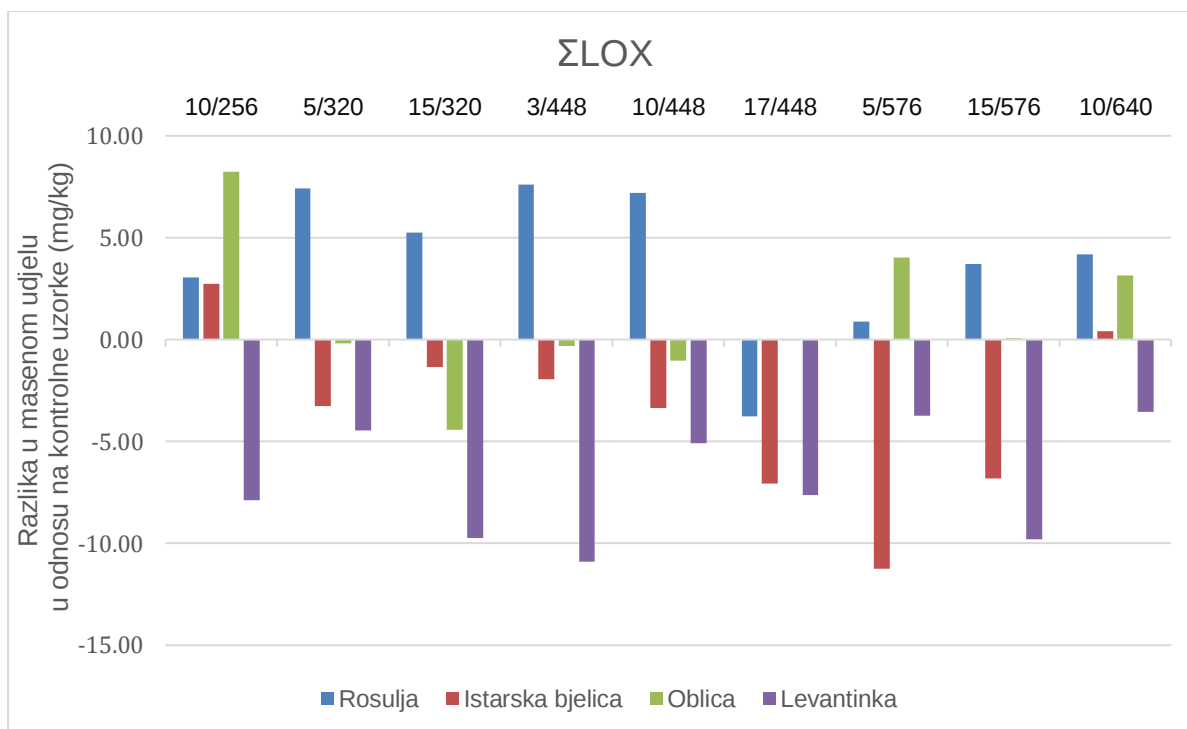
Viši udio alkohola detektiran je u dalmatinskim sortama DMU, od kojih prevladavaju 1-penten-3-ol kod levantinke i (Z)-3-heksen-1-ol kod oblice. Žanetić i sur. (2021) i Belavić (2025) također su zabilježili (Z)-3-heksen-1-ol kao dominantni alkohol u ulju oblice. U DMU levantinke detektirani su esteri 3-heksenil acetat i heksil acetat čija se prisutnost može pripisati djelovanju AAT enzima koji katalizira sintezu estera iz alkohola (Soldo, 2016). Uz ulje levantinke, još je jedino u DMU rosulje detektiran ester 3-heksenil acetat što je u skladu s rezultatima objavljenima u radu Belavić (2025). Jedinu zabilježen keton je 1-penten-3-on što se slaže s rezultatima dobivenima u radu Belavić (2025) izuzev ulja levantinke u kojem on nije detektiran.

U istraživanju Brkić Bubola i sur. (2012) određeni su udjeli hlapljivih spojeva u DMU rosulje. Zabilježeni su znatno niži udjeli aldehida 2-heksenal i 2-pentenal te ketona 1-penten-3-on u usporedbi s rezultatima ovog rada, dok su udjeli alkohola (Z)-3-heksen-1-ol, 2-heksen-1-ol i 1-heksanol te estera heksil acetat viši. Prema rezultatima Koprivnjak i sur. (2012), udjeli aldehida 2-heksenal i 2-pentanal, alkohola (Z)-2-penten-1-ol i (Z)-3-heksen-1-ol i ketona 1-penten-3-on u ulju istarske bjelice niži su od udjela navedenih u ovome radu, dok je udio alkohola 2-heksen-1-ol viši i udio estera heksil acetat gotovo jednak. Soldo i sur. (2024) prilikom određivanja udjela hlapljivih spojeva u uljima oblice i levantinke zabilježili su niže udjele alkohola 1-penten-3-ol, (Z)-3-heksen-1-ol, 2-heksen-1-ol i 1-heksanol te estera heksil

acetat, no veći udio 2-heksenala i pentanala uspoređujući s udjelima iz ovog diplomskog rada. U istraživanju Žanetić i sur. (2021) određen je veći udio 2-heksenala te niži udio 2,4-heksadienala i 3-heksenala u uljima oblice i levantinke u odnosu na rezultate ovog rada. Udjeli alkohola (E)-2-penten-1-ol, (Z)-2-penten-1-ol i (Z)-3-heksen-1-ol su viši. U ulju oblice udio 1-penten-3-ola je viši, a udio 1-heksanola niži, dok je ulju levantinke suprotno. Udio estera heksil acetat u ulju oblice je jednak, a u ulju levantinke niži. Rezultati navedenih istraživanja te rezultati ovog rada utvrđuju da sorta masline uvjetuje sastav hlapljivih spojeva, ali uvjeti rasta i zrenja također mogu utjecati na njihov sastav.

4.2. UTJECAJ ULTRAZVUKA NA SASTAV HLAPLJIVIH SPOJEVA DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA

Kako bi se odredio utjecaj ultrazvuka korištenog kao predtretman miješenju na sastav hlapljivih spojeva DMU hrvatskih autohtonih sorti, provedeni su eksperimenti u kojima su varirani snaga ultrazvučne kupelji (od 256 do 640 W) i vrijeme trajanja (od 3 do 17 min). Pokusi su provedeni za svaku sortu posebno prema centralnom kompozitnom planu prikazanom u tablici 2. Rezultati hlapljivih spojeva prikazani su kao razlika izmjerenih udjela u ispitivanom i kontrolnom uzorku radi lakšeg prikaza pozitivnog ili negativnog utjecaja predtretmana na pojedini spoj. Na temelju dobivenih rezultata provedena je jednofaktorska analiza varijance (one-way ANOVA) i Tukey-ev test višestruke usporedbe za svaku sortu posebno. Oba su testa provedena s razinom vjerojatnosti od 95 % ($p \leq 0,05$) u programu XLSTAT 2023 (Lumivero, Denver, SAD). Promjene u masenim udjelima grupa hlapljivih spojeva (ΣLOX , ΣOX i ΣMBA) prikazani su grafički (slike 7 - 9) dok su promjene udjela svakog pojedinačnog detektiranog spoja prikazani u tablicama 4 - 7.



Slika 7. Utjecaj tretmana ultrazvukom (UZV) na maseni udjel produkata lipoksigenaznog puta (Σ LOX). Rezultati su prikazani kao apsolutna razlika između UZV-tretiranih uzoraka i kontrole.

Predtretman UZV-om u pravilu je negativno utjecao na ukupni udio produkata LOX puta u sortama istarska bjelica i levantinka (slika 7). S druge strane, kod sorte rosulja u pravilu je došlo do povećanja koncentracija produkata LOX puta osim pri snazi UZV kupelji od 448 W kroz 17 min. Iz prikazanih rezultata vidljivo je da su niže i srednje snage ultrazvučnog tretmana kroz kraće vrijeme imale pozitivan utjecaj na produkte LOX puta kod sorte rosulja, a najveći porast postignut je UZV tretmanom s 448 W kroz 3 min. No, uzevši u obzir i ostale istraživane sorte, najboljim tretmanom za povećanje koncentracija hlapljivih spojeva koji su nositelji pozitivnih senzorskih svojstava pokazao se tretman najslabijom snagom (256 W) kroz 10 min. Primjenom tog tretmana došlo je do porasta produkata LOX puta kod svih istraživanih sorti osim kod levantinke. U DMU oblice također je i nakon tretmana pri 576 W kroz 5 minuta blago viši udio LOX produkata. No, rezultati ANOVA-e pokazali su da UZV tretman nije imao statistički značajan utjecaj na ukupni udio produkata LOX puta kod nijedne od četiri istraživane sorte.

U radu Hojka (2024) istražen je utjecaj UZV-a na aktivnost LOX enzima s pretpostavkom da će predtretmani UZV-om povećati njihovu aktivnost i posljedično povećati udio produkata LOX puta u DMU. Rezultati su pokazali da je tretiranje UZV-om smanjilo aktivnost LOX enzima u ulju rosulje što se ne slaže s rezultatima dobivenima u ovome istraživanju budući da je ulje rosulje jedino pokazalo povećanje udjela produkata LOX puta nakon većinu tretmana.

Nadalje, u ulju levantinke većinom je došlo do smanjenja aktivnosti LOX enzima što se potvrđuje i rezultatima iz ovog rada izuzev tretmana 3/448 i 5/576 u kojima je aktivnost LOX enzima bila povećana. U ulju oblice rezultati se slažu primjenom tretmana 10/640 nakon kojeg je zabilježena veća aktivnost LOX enzima te je povećan udio produkata LOX puta, no nakon tretmana 15/320 zabilježena je najviša aktivnost enzima, dok je u ovome radu došlo do najvećeg pada produkata LOX puta. Rezultati ulja istarske bjelice se također ne slažu, svi tretmani UZV-om povećali su aktivnost LOX enzima, dok su udjeli produkata LOX puta viši jedino nakon tretmana 10/256 i 10/640 za vrlo niske količine. Uzrok tomu može biti nedostupnost supstrata za LOX enzime, ali i moguće različito djelovanje UZV-a na ostale enzime LOX puta.

Prema rezultatima iz tablica 4 - 7, vidljivo je da su UZV predtretmani generalno smanjili ukupne udjele aldehida u svim uljima izuzev ulja rosulje. Povećanje udjela aldehida u svim sortama zabilježeno je jedino nakon tretmana 10/640. Najzastupljeniji aldehid u svim uljima je 2-heksenal te je UZV povoljno utjecao na njegov udio u ulju rosulje, dok je u dalmatinskim uljima došlo do smanjenja njegovog udjela. U ulju istarske bjelice utjecaj varira, ali može se zaključiti da predtretman u trajanju od 10 minuta slabe do srednje jačine UZV kupelji povoljno utječe na udio 2-heksenala, dok visoka snaga UZV kupelji (576 W) djeluje suprotno. Drugi najveći peak među detektiranim aldehydima u analiziranim uzorcima DMU bio je nerazdvojen peak 3-heksenala i 2-metil-4-pentenala. Njihov se ukupni udjel smanjio u svim uljima djelovanjem UZV, osim u ulju levantinke u kojem su se tretmani 10/256 i 5/320 pokazali povoljnima.

Tablica 4. Maseni udjeli hlapljivih komponenti iskazani u mg/kg u uzorcima DMU sorte rosulja (R)

Spoj	Oznaka uzorka (sorta - vrijeme (min) / snaga UZV kupelji (W))								
	R - 10/256	R - 5/320	R - 15/320	R - 3/448	R - 10/448	R - 17/448	R - 5/576	R - 15/576	R - 10/640
Aldehidi									
2-metilbutanal*	0,03 ± 0,00 d	0,04 ± 0,00 d	0,06 ± 0,01 cd	0,06 ± 0,01 cd	0,06 ± 0,02 cd	0,12 ± 0,00 a	0,06 ± 0,01 cd	0,12 ± 0,01 ab	0,08 ± 0,00 bc
pentanal*	-0,06 ± 0,06 a	-0,35 ± 0,00 b	-0,07 ± 0,01 a	-0,35 ± 0,00 b	-0,35 ± 0,00 b	-0,35 ± 0,00 b	-0,35 ± 0,00 b	-0,01 ± 0,01 a	-0,05 ± 0,01 a
2-pentenal	-0,06 ± 0,00	-0,04 ± 0,00	-0,05 ± 0,00	-0,07 ± 0,00	-0,04 ± 0,04	-0,04 ± 0,04	-0,07 ± 0,00	-0,07 ± 0,01	-0,07 ± 0,00
2-heksenal	1,40 ± 0,05	7,55 ± 1,14	6,57 ± 0,94	8,16 ± 1,57	6,37 ± 6,09	-0,15 ± 0,86	1,40 ± 2,02	5,48 ± 1,29	5,48 ± 2,06
3-heksenal + 2-metil-4-pentenal*	-0,69 ± 0,22 ab	0,20 ± 0,86 a	-2,09 ± 0,04 bc	-0,63 ± 0,36 ab	-0,64 ± 0,46 ab	-2,80 ± 0,88 c	-1,08 ± 0,23 ab	-1,03 ± 0,08 ab	-1,54 ± 0,31 bc
2,4-heksadienal	-1,26 ± 0,24	-1,59 ± 0,85	-1,46 ± 0,46	-1,56 ± 0,64	-1,22 ± 0,65	-1,25 ± 0,04	-1,63 ± 0,65	-0,95 ± 0,06	-1,07 ± 0,01
4-oksoheks-2-enal	-0,57 ± 0,01	-1,06 ± 1,39	-0,49 ± 0,46	-0,61 ± 0,46	-0,54 ± 0,23	-0,93 ± 0,08	-0,74 ± 0,01	-0,61 ± 0,01	-0,71 ± 0,05
nonanal	0,05 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,02	-0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,11	0,01 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,09 ± 0,03	0,00 ± 0,00
Alkoholi									
1-penten-3-ol	-0,70 ± 0,03	-0,57 ± 0,06	-0,61 ± 0,01	-0,71 ± 0,03	-0,58 ± 0,06	-0,56 ± 0,01	-0,66 ± 0,02	-0,58 ± 0,02	-0,65 ± 0,04
(E)-2-penten-1-ol	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,01
(Z)-2-penten-1-ol	0,09 ± 0,06	0,26 ± 0,06	0,22 ± 0,07	0,14 ± 0,09	0,15 ± 0,16	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,09	0,09 ± 0,04	-0,02 ± 0,06
(Z)-3-heksen-1-ol	2,18 ± 0,16	-1,17 ± 0,0	0,62 ± 2,53	0,46 ± 2,3	1,26 ± 1,79	-0,44 ± 1,03	1,11 ± 2,40	-0,69 ± 0,67	0,60 ± 2,50
2-heksen-1-ol*	0,09 ± 0,01 ab	0,09 ± 0,01 ab	0,10 ± 0,01 ab	0,09 ± 0,01 ab	0,07 ± 0,04 ab	0,06 ± 0,01 b	0,02 ± 0,01 b	0,15 ± 0,02 a	0,07 ± 0,01 ab
1-heksanol	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,05	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,06	0,13 ± 0,01	0,09 ± 0,00
Ketoni									
1-penten-3-on*	0,73 ± 0,13 ab	1,18 ± 0,10 a	0,51 ± 0,01 b	0,41 ± 0,08 b	0,70 ± 0,26 ab	0,21 ± 0,13 b	0,23 ± 0,09 b	0,34 ± 0,03 b	0,33 ± 0,14 b
Esteri									
3-heksenil acetat	-0,19 ± 0,01	-0,27 ± 0,02	-0,22 ± 0,01	-0,38 ± 0,01	-0,23 ± 0,09	-0,26 ± 0,00	-0,24 ± 0,01	-0,19 ± 0,03	-0,19 ± 0,01

*primijenjeni parametri ultrazvuka imali su značajan utjecaj na udjel spoja ($p \leq 0,05$); vrijednosti označene različitim slovima unutar pojedinog retka su statistički različite ($p \leq 0,005$) prema Tukey-evom testu višestruke usporedbe

Tablica 5. Maseni udjeli hlapljivih komponenti iskazani u mg/kg u uzorcima DMU sorte istarska bjelica (IB)

Spoj	Oznaka uzorka (sorta - vrijeme (min) / snaga UZV kupelji (W))								
	IB - 10/256	IB - 5/320	IB - 15/320	IB - 3/448	IB - 10/448	IB - 17/448	IB - 5/576	IB - 15/576	IB - 10/640
Aldehidi									
2-metilbutanal*	0,10 ± 0,06 ab	0,04 ± 0,00 ab	0,05 ± 0,04 ab	0,10 ± 0,07 ab	0,11 ± 0,08 ab	0,22 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 ab	-0,07 ± 0,00 b	0,01 ± 0,01 b
pentanal*	0,11 ± 0,06 a	-0,29 ± 0,00 b	-0,12 ± 0,24 ab	-0,01 ± 0,39 ab	-0,16 ± 0,21 ab	-0,29 ± 0,00 b	-0,29 ± 0,00 b	-0,29 ± 0,00 b	-0,29 ± 0,00 b
2-pentenal	0,02 ± 0,04	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,04	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,08	-0,03 ± 0,01	-0,05 ± 0,00	0,00 ± 0,04	-0,01 ± 0,01
2-heksenal	2,46 ± 2,81	-1,82 ± 0,45	0,23 ± 0,42	0,03 ± 1,76	1,50 ± 3,41	-0,37 ± 0,40	-2,87 ± 0,23	-2,37 ± 2,40	0,84 ± 1,47
3-heksenal + 2-metil-4-pentenal	-0,77 ± 2,60	-1,38 ± 0,35	-1,69 ± 1,15	-2,20 ± 0,20	-3,29 ± 2,36	-4,45 ± 0,35	-6,25 ± 0,08	-4,19 ± 2,55	-1,18 ± 2,47
2,4-heksadienal	0,13 ± 0,46	-0,34 ± 0,06	-0,19 ± 0,17	-0,71 ± 0,96	-1,30 ± 0,70	-0,89 ± 0,07	-2,11 ± 0,02	-0,27 ± 1,05	0,11 ± 0,97
4-oksoheks-2-enal	-0,32 ± 0,55	-0,14 ± 0,23	-0,12 ± 0,41	0,13 ± 0,07	-0,74 ± 0,67	-1,26 ± 0,14	-1,24 ± 0,11	-0,36 ± 0,11	0,79 ± 1,28
nonanal	0,09 ± 0,06	0,03 ± 0,03	0,06 ± 0,00	0,08 ± 0,02	-0,04 ± 0,05	-0,03 ± 0,02	0,08 ± 0,03	-0,08 ± 0,01	0,03 ± 0,10
Alkoholi									
1-penten-3-ol	0,49 ± 0,17	-0,38 ± 0,00	0,01 ± 0,55	0,03 ± 0,58	0,42 ± 0,15	0,49 ± 0,00	0,41 ± 0,04	2,35 ± 3,85	3,46 ± 3,60
(E)-2-penten-1-ol	0,03 ± 0,04	0,00 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,00 ± 0,02	-0,01 ± 0,01	-0,03 ± 0,01	-0,04 ± 0,01	-0,06 ± 0,14
(Z)-2-penten-1-ol	0,26 ± 0,45	-0,10 ± 0,04	0,09 ± 0,08	0,08 ± 0,19	-0,13 ± 0,24	-0,19 ± 0,08	-0,32 ± 0,11	-0,30 ± 0,30	-0,01 ± 0,34
(Z)-3-heksen-1-ol	0,74 ± 0,51	0,24 ± 0,31	0,09 ± 0,07	0,15 ± 0,21	-0,41 ± 0,37	-0,59 ± 0,53	0,04 ± 0,07	0,37 ± 0,55	0,40 ± 0,66
1-heksanol	0,04 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,00	-0,07 ± 0,05	-0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	-0,11 ± 0,00	-0,03 ± 0,11
Ketoni									
1-penten-3-on	-0,53 ± 0,92	0,15 ± 0,12	-0,12 ± 1,28	-0,07 ± 1,48	-1,36 ± 0,73	-1,93 ± 0,34	-2,2 ± 0,06	-2,51 ± 5,13	-2,99 ± 4,45

*primijenjeni parametri ultrazvuka imali su značajan utjecaj na udjel spoja ($p \leq 0,05$); vrijednosti označene različitim slovima unutar pojedinog retka su statistički različite ($p \leq 0,005$) prema Tukey-evom testu višestruke usporedbe

Tablica 6. Maseni udjeli hlapljivih komponenti iskazani u mg/kg u uzorcima DMU sorte oblica (O)

Spoj	Oznaka uzorka (sorta - vrijeme (min) / snaga UZV kupelji (W))								
	O - 10/256	O - 5/320	O - 15/320	O - 3/448	O - 10/448	O - 17/448	O - 5/576	O - 15/576	O - 10/640
Aldehidi									
2-metilbutanal	0,02 ± 0,01	-0,06 ± 0,00	-0,02 ± 0,00	-0,06 ± 0,00	0,00 ± 0,06	-0,06 ± 0,00	-0,06 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,01
2-pental* ab	-0,16 ± 0,07 ab	-0,21 ± 0,00 b	-0,21 ± 0,00 b	-0,21 ± 0,00 b	-0,13 ± 0,10 ab	-0,21 ± 0,00 b	-0,21 ± 0,00 b	-0,21 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 a
2-heksenal	-3,80 ± 0,51	-9,56 ± 0,12	-9,40 ± 0,07	-8,74 ± 0,24	-3,07 ± 7,36	-7,72 ± 0,52	-6,14 ± 0,01	-5,48 ± 0,33	3,08 ± 0,29
3-heksenal + 2- metil-4-pental* ab	0,16 ± 0,25 ab	-10,16 ± 0,00 c	-8,93 ± 1,00 c	-8,39 ± 0,12 bc	-6,43 ± 3,94 bc	-10,16 ± 0,00 c	-6,26 ± 0,00 bc	-8,26 ± 2,69 bc	2,58 ± 0,13 a
2,4-heksadienal	-1,35 ± 0,64	-2,4 ± 0,00	-2,32 ± 0,00	-2,29 ± 0,01	-1,65 ± 0,78	-2,21 ± 0,11	-2,17 ± 0,04	-2,14 ± 0,08	-1,22 ± 0,69
4-oksoheks-2-enal* ab	-1,18 ± 0,00 ab	-1,83 ± 0,00 b	-1,83 ± 0,00 b	-1,83 ± 0,00 b	-1,31 ± 0,48 ab	-1,67 ± 0,09 b	-1,69 ± 0,01 b	-1,71 ± 0,03 b	-0,62 ± 0,04 a
nonanal* ab	0,06 ± 0,00 ab	-0,13 ± 0,00 b	0,04 ± 0,01 ab	0,04 ± 0,01 ab	0,07 ± 0,10 a	0,17 ± 0,05 a	0,06 ± 0,00 a	0,13 ± 0,04 a	0,14 ± 0,03 a
Alkoholi									
1-penten-3-ol	-0,89 ± 0,02	-0,62 ± 0,13	-0,67 ± 0,02	-0,70 ± 0,01	-0,87 ± 0,16	-0,7 ± 0,00	-0,70 ± 0,03	-0,64 ± 0,01	-0,93 ± 0,01
(E)-2-penten-1-ol	0,05 ± 0,23	-0,12 ± 0,00	0,00 ± 0,17	0,04 ± 0,01	-0,07 ± 0,12	-0,12 ± 0,00	-0,12 ± 0,00	-0,12 ± 0,00	-0,07 ± 0,06
(Z)-2-penten-1-ol	0,02 ± 0,04	-0,09 ± 0,09	-0,08 ± 0,08	-0,10 ± 0,06	-0,06 ± 0,19	-0,04 ± 0,10	0,06 ± 0,10	0,08 ± 0,06	0,00 ± 0,00
(Z)-3-heksen-1-ol* ab	6,55 ± 0,52 ab	14,01 ± 2,43 a	6,69 ± 0,21 ab	10,31 ± 0,91 a	5,55 ± 4,58 ab	7,05 ± 2,2 ab	11,30 ± 0,05 a	7,46 ± 0,24 ab	-1,87 ± 0,74 b
2-heksen-1-ol* abc	2,92 ± 0,13 abc	-0,59 ± 0,26 bc	7,19 ± 0,20 a	5,80 ± 0,14 ab	0,16 ± 3,24 abc	6,71 ± 1,12 a	0,50 ± 0,02 abc	-1,20 ± 1,24 bc	-2,08 ± 0,00 c
1-heksanol	4,00 ± 0,35	9,37 ± 1,45	2,24 ± 4,17	2,73 ± 4,86	4,48 ± 4,11	6,57 ± 0,31	7,63 ± 0,04	10,19 ± 1,17	0,36 ± 0,02
Ketoni									
1-penten-3-on* ab	-0,86 ± 0,00 ab	-2,21 ± 0,00 b	-1,28 ± 0,04 ab	-1,07 ± 0,00 ab	-0,60 ± 1,81 ab	-1,41 ± 0,01 ab	-2,03 ± 0,25 b	-1,74 ± 0,08 ab	2,06 ± 0,01 a

*primijenjeni parametri ultrazvuka imali su značajan utjecaj na udjel spoja ($p \leq 0,05$); vrijednosti označene različitim slovima unutar pojedinog retka su statistički različite ($p \leq 0,005$) prema Tukey-evom testu višestruke usporedbe

Tablica 7. Maseni udjeli hlapljivih komponenti iskazani u mg/kg u uzorcima DMU sorte levantinka (L)

Spoj	Oznaka uzorka (sorta - vrijeme (min) / snaga UZV kupelji (W))								
	L - 10/256	L - 5/320	L - 15/320	L - 3/448	L - 10/448	L - 17/448	L - 5/576	L - 15/576	L - 10/640
Aldehidi									
2-metilbutanal	-0,14 ± 0,26	-0,06 ± 0,32	-0,22 ± 0,02	-0,29 ± 0,00	-0,28 ± 0,01	-0,18 ± 0,01	-0,26 ± 0,04	-0,21 ± 0,06	-0,21 ± 0,01
pentanal	0,16 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,54	0,46 ± 0,80	0,00 ± 0,00	1,66 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0,51 ± 0,00
2-pentenal*	0,12 ± 0,06 a	0,03 ± 0,05 a	-0,14 ± 0,00 b	-0,02 ± 0,04 a	-0,04 ± 0,10 a	0,03 ± 0,03 a	-0,06 ± 0,00 a	-0,02 ± 0,03 a	0,02 ± 0,02 a
2-heksenal*	-1,54 ± 0,25 abc	0,24 ± 0,09 ab	-6,96 ± 0,59 c	-4,45 ± 1,10 bc	-2,26 ± 2,84 abc	-1,59 ± 0,06 abc	-4,11 ± 0,04 abc	-3,74 ± 0,27 abc	1,76 ± 0,03 a
3-heksenal + 2-metil-4-pentenal	0,16 ± 0,29	0,61 ± 1,25	-0,88 ± 0,13	0,09 ± 0,78	0,02 ± 0,99	-0,39 ± 0,01	0,03 ± 0,84	-0,49 ± 0,10	0,43 ± 0,09
2,4-heksadienal*	-0,84 ± 0,17 ab	-1,02 ± 0,13 ab	-1,30 ± 0,04 b	-1,15 ± 0,02 ab	-1,11 ± 0,12 ab	-1,10 ± 0,04 ab	-0,79 ± 0,32 a	-1,20 ± 0,1 ab	-0,91 ± 0,30 ab
4-oksoheks-2-enal	-0,04 ± 0,16	-0,09 ± 0,04	-0,39 ± 0,03	-0,13 ± 0,09	-0,20 ± 0,17	-0,15 ± 0,03	-0,16 ± 0,06	-0,32 ± 0,03	-0,12 ± 0,01
nonanal*	0,19 ± 0,04 a	-0,03 ± 0,02 b	-0,03 ± 0,05 b	-0,02 ± 0,04 b	0,01 ± 0,08 b	0,02 ± 0,01 b	0,02 ± 0,02 b	0,03 ± 0,03 b	-0,01 ± 0,01 b
Alkoholi									
1-penten-3-ol	-1,98 ± 2,49	-4,46 ± 0,00	-3,01 ± 0,35	-4,11 ± 0,49	-3,12 ± 0,30	-1,54 ± 2,86	-3,11 ± 0,00	-3,59 ± 0,11	-3,95 ± 0,72
(E)-2-penten-1-ol	-0,30 ± 0,13	-0,37 ± 0,00	-0,25 ± 0,18	-0,37 ± 0,00	-0,25 ± 0,12	-0,27 ± 0,01	-0,23 ± 0,20	-0,32 ± 0,09	-0,31 ± 0,09
(Z)-2-penten-1-ol	0,05 ± 0,10	0,02 ± 0,01	0,22 ± 0,36	-0,29 ± 0,12	0,02 ± 0,26	-0,09 ± 0,05	0,13 ± 0,03	-0,12 ± 0,12	0,05 ± 0,02
(Z)-3-heksen-1-ol*	-1,72 ± 0,43 ab	-1,80 ± 1,00 ab	0,71 ± 0,63 a	-1,76 ± 0,49 ab	-0,17 ± 1,17 ab	-1,31 ± 0,05 ab	0,64 ± 0,01 a	-1,36 ± 0,44 ab	-2,65 ± 0,00 b
2-heksen-1-ol*	-1,36 ± 0,00 a	-1,36 ± 0,00 b	2,04 ± 0,89 a	-1,36 ± 0,00 b	0,61 ± 1,54 a	-1,36 ± 0,00 b	2,40 ± 0,00 a	-0,63 ± 0,03 a	-1,36 ± 0,00 b
1-heksanol	-1,43 ± 0,06	-1,46 ± 0,01	-1,17 ± 0,65	-1,48 ± 0,03	-0,86 ± 1,02	-1,48 ± 0,02	-0,66 ± 0,10	-1,63 ± 0,00	-1,43 ± 0,02
Ketoni									
1-penten-3-on	1,49 ± 2,59	5,73 ± 0,13	1,14 ± 0,25	4,36 ± 1,15	2,36 ± 1,47	1,88 ± 2,65	2,16 ± 0,04	2,83 ± 0,54	5,27 ± 0,78
Esteri									
3-heksenil acetat	-0,79 ± 0,04	-0,98 ± 0,05	-0,87 ± 0,49	-0,95 ± 0,30	-0,83 ± 0,50	-0,88 ± 0,03	-0,53 ± 0,08	-0,51 ± 0,20	-0,81 ± 0,06
heksil acetat	-0,59 ± 0,01	-0,67 ± 0,02	-0,56 ± 0,28	-0,57 ± 0,19	-0,58 ± 0,26	-0,65 ± 0,00	-0,39 ± 0,04	-0,20 ± 0,12	-0,60 ± 0,04

*primijenjeni parametri ultrazvuka imali su značajan utjecaj na udjel spoja ($p \leq 0,05$); vrijednosti označene različitim slovima unutar pojedinog retka su statistički različite ($p \leq 0,005$)

prema Tukey-evom testu višestruke usporedbe

U ulju oblice došlo je do najvećeg smanjenja udjela aldehida, ali suprotno tome i najveći porast udjela alkohola. Tretman 5/320 doveo je ujedno do najvećeg pada ukupnog udjela aldehida i porasta ukupnog udjela alkohola. Udjeli spojeva (Z)-3-heksen-1-ol, 2-heksen-1-ol i 1-heksanol u ulju oblice znatno su se povećali nakon tretmana UZV, osim pri najvećoj snazi kupelji (tablica 6). S druge strane, u ulju levantinke svi predtretmani UZV-om doveli su do smanjenja ukupnog udjela alkohola, dok su u istarskim sortama na udio alkohola negativno utjecali tretmani najduljeg trajanja (17 min). U ulju istarske bjelice zabilježen je trend pada udjela svih alkohola pri tretmanima 10/448 i 17/448, osim 1-penten-3-ola čiji udio raste jačinom snage UZV kupelji. U ulju rosulje došlo je do blagog porasta udjela svih alkohola izuzev 1-penten-3-ola dok su na porast udjela (Z)-3-heksen-1-ola povoljno djelovali tretmani 10/256 i 10/448.

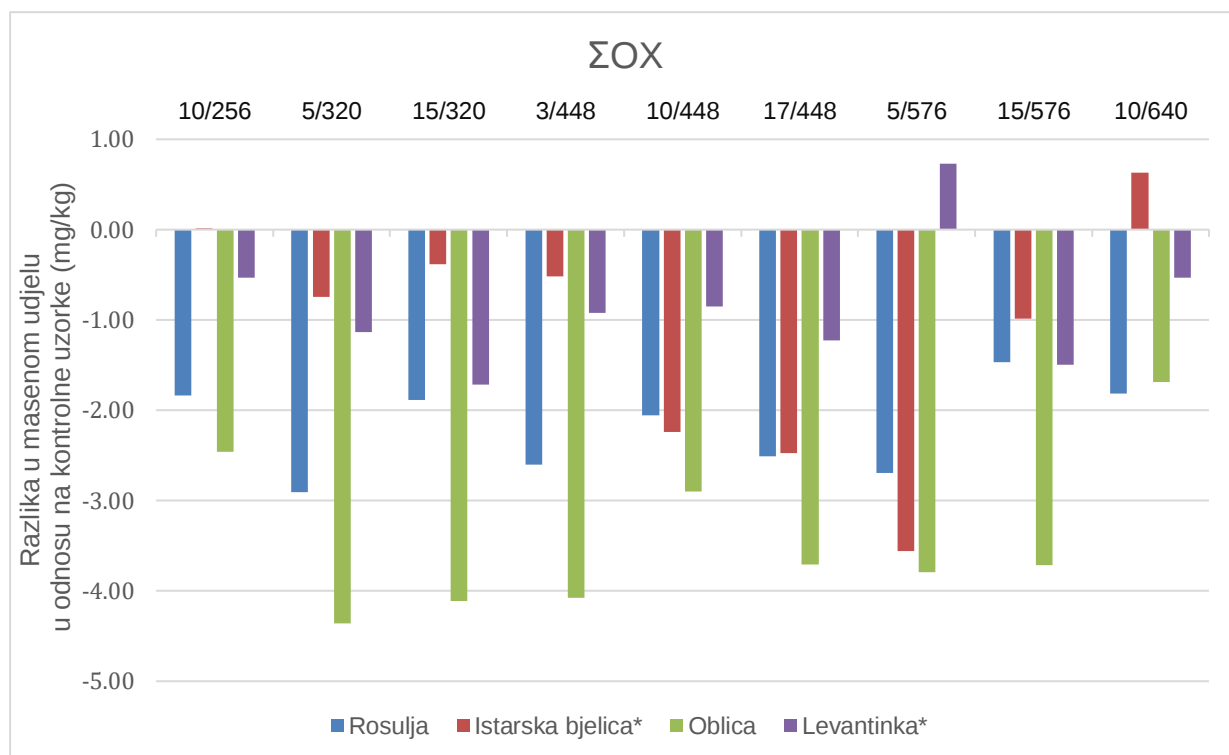
Udio ketona se nakon svih tretmana povećao u uljima rosulje i levantinke te smanjio u uljima istarske bjelice i oblice. Esteri su jedino detektirani u uljima rosulje i levantinke te je u oba ulja došlo do smanjenja njihovog udjela djelovanjem UZV-a.

Statistička analiza dobivenih rezultata pokazala je kako predtretman UZV-om u pravilu nije značajno utjecao na udjele pojedinačnih spojeva sintetiziranih u LOX putu u svim istraživanim sortama. Statistički značajan utjecaj UZV-a zabilježen je na udjel alkohola 2-heksen-1-ol kod rosulje, oblice i levantinke te na udjel (Z)-3-heksen-1-ola i 2-pentenala kod obje dalmatinske sorte. Osim toga, UZV je značajno utjecao na ukupni udjel 3-heksenala i 2-metil-4-pentenala te na udjel 1-penten-3-ona kod oblice i rosulje. Istarska bjelica pokazala se najotpornija na utjecaj UZV-a te nije zabilježen statistički značajan utjecaj na udjel nijednog produkta LOX puta.

Manganiello i sur. (2021) istražili su utjecaj UZV-a na kvalitetu DMU tri talijanske sorte (Peranzana, Canino i Coratina). Rezultati su pokazali da je nakon tretmana UZV-om došlo do povećanja udjela aldehida i estera, dok se udio alkohola nije značajno promijenio. Almeida i sur. (2017) tretirali su talijanske sorte Carolea i Ottobratica UZV-om što je dovelo do povećanja udjela C6 i C5 aldehida, alkohola i ketona u uzorcima. Navedeni rezultati se djelomično slažu s rezultatima ovog rada, ovisno o sorti. U svim sortama izuzev rosulje generalno je došlo do smanjenja udjela aldehida, dok je u svim sortama osim levantinke došlo do porasta ukupnog udjela alkohola nakon tretmana UZV-om. Također, rezultati udjela ketona u uljima rosulje i levantinke u skladu su s istraživanjem Almeida i sur. (2017), dok se u istim uljima smanjio ukupni udio estera što nije u skladu s istraživanjem Manganiello i sur. (2021).

Iz slike 8 vidljivo je da tretiranje UZV-om smanjuje udio produkata oksidacije u gotovo svim uzorcima DMU. Jedini porast zabilježen je u ulju istarske bjelice nakon tretmana 10/640 i u ulju levantinke nakon tretmana 5/576, ali u vrlo niskim količinama. Ulja oblice i rosulje doživjela su najveći pad udjela produkata oksidacije, a uzevši u obzir rezultate, može se zaključiti da su za smanjenje produkata oksidacije najpovoljniji tretmani srednje jačine UZV kupelji (od 320

do 448 W). No, rezultati nisu pokazali statističku značajnost utjecaja UZV na udio produkata oksidacije u uljima rosulje i oblice što govori da razlika od udjela produkata oksidacije u kontrolnim uzorcima nije značajna za navedene dvije sorte, dok na ulje istarske bjelice i levantinke primjena UZV-a statistički značajno utječe formiranje produkta oksidacije.



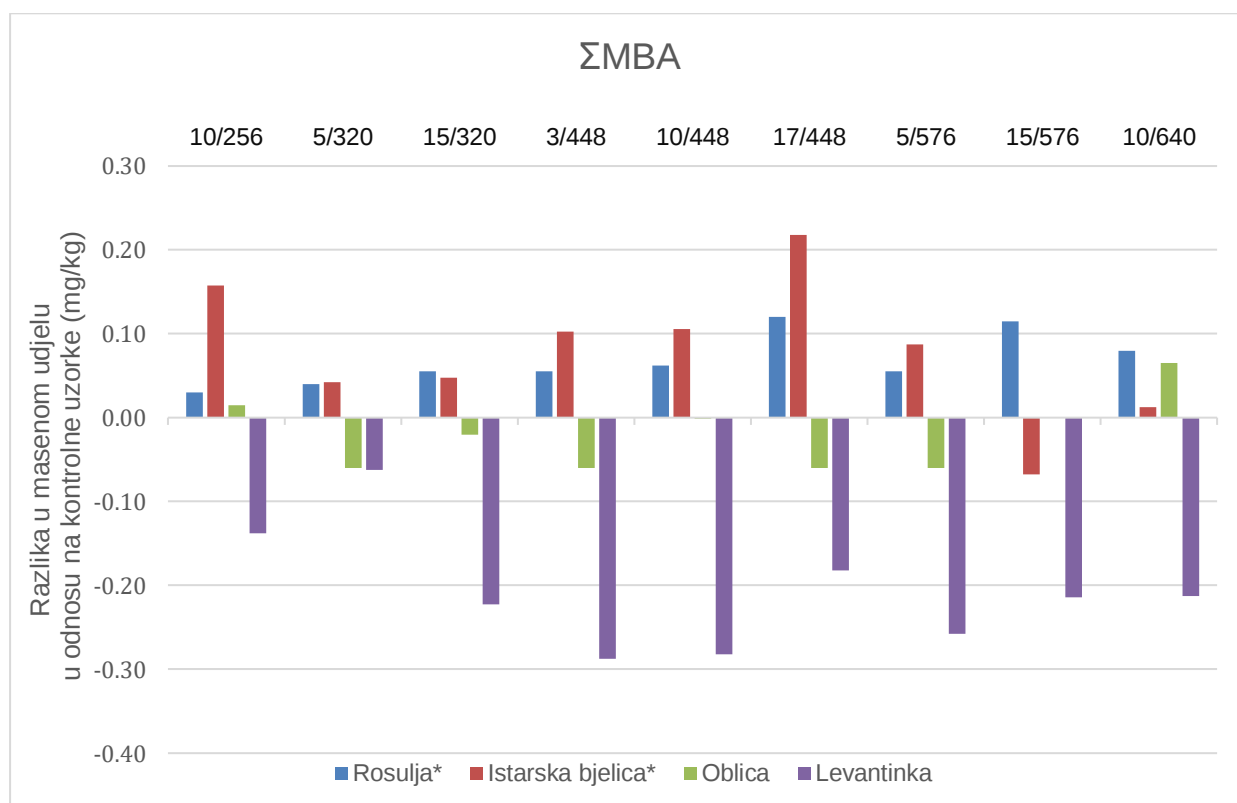
Slika 8. Utjecaj tretmana ultrazvukom (UZV) na maseni udjel produkata oksidacije (ΣOX). Rezultati su prikazani kao apsolutna razlika između UZV-tretiranih uzoraka i kontrole; *UZV tretman imao je značajan utjecaj na udio hlapljivih spojeva ($p \leq 0,05$)

Promjena udjela nonanala varira ovisno o sorti i tretmanu, no općenito je u blagom porastu. U svim uljima došlo je do smanjenja udjela 4-oksoheks-2-enala osim u ulju istarske bjelice u kojem su tretmani 3/448 i 10/640 doveli do povećanja. Isti trend zapažen je kod udjela 2,4-heksadienala u kojem je jedino do porasta došlo u sorti istarske bjelice nakon tretmana 10/256 i 10/640. Također je u uljima istarskih sorti došlo do smanjenja udjela pentanala, no u ulju levantinke je došlo do porasta, dok u ulju oblice nije detektiran (tablice 4-7).

Pentanal i 2,4-heksadienal formiraju se iz linolne masne kiseline (Guillen i Uriarte, 2012), a nonanal iz oleinske masne kiseline (Cao i sur., 2019). Smanjenje udjela navedenih spojeva može se djelomično objasniti utjecajem UZV-a na oksidacijsku stabilnost DMU. U radu Karamarko (2023) određen je utjecaj UZV-a na oksidacijsku stabilnost hrvatskih DMU. Rezultati su pokazali da je u ulju istarske bjelice došlo do povećanja oksidacijske stabilnosti primjenom većine tretmana (osim 17/448, 15/576 i 10/640 nakon kojih je došlo do smanjenja),

a u ulju levantinke tretmani 3/448, 10/448 i 10/640 povećali su oksidacijsku stabilnost. U uljima rosulje i oblice došlo je do smanjenja oksidacijske stabilnosti što se ne slaže s rezultatima ovog rada budući da je u navedene dvije sorte zabilježen najveći pad udjela produkata oksidacije. Sorta ima najveći utjecaj na oksidacijsku stabilnost ulja, dok su vrijeme tretiranja i snaga ultrazvučne kupelji također od statistički značajnog utjecaja.

Smanjeni udio produkata oksidacije može se objasniti i udjelom fenola u DMU. Brezjan (2024) zaključuje da tretmani UZV-om dovode do povećanja koncentracije fenola u ulju istarske bjelice nakon tretmana 10/256, 15/320 i 5/576, dok u ulju rosulje UZV nije utjecao na koncentraciju fenolnih spojeva. U uljima dalmatinskih sorti također nije došlo do povećanja udjela fenola osim u ulju levantinke nakon tretmana 3/448. No, sastav i koncentracija fenolnih spojeva ovise o samoj sorti te klimatskim uvjetima tijekom uzgoja i uvjetima proizvodnje. U radu Grujin (2024) određen je udio tokoferola u DMU tretiranih UZV-om. Iz rezultata rada zaključeno je da veća snaga ultrazvučne kupelji povećava udio α -tokoferola u uljima rosulje i levantinke, dok u uljima istarske bjelice i oblice dovodi do smanjenja.



Slika 9. Utjecaj tretmana ultrazvukom (UZV) na maseni udjel produkata mikrobiološke aktivnosti (Σ MBA). Rezultati su prikazani kao apsolutna razlika između UZV-tretiranih uzoraka i kontrole; *UZV tretman imao je značajan utjecaj na udio hlapljivih spojeva ($p \leq 0,05$)

Kao indikator mikrobiološke aktivnosti u ovom istraživanju detektiran je jedino 2-metilbutanal. Brkić Bubola i sur. (2023) navode da se pojava 2-metilbutanala u DMU povezuje s fermentativnim procesima ploda masline napadnutim maslinovom muhom, no porast tj. pad udjela navedenog spoja nakon tretmana UZV-om vjerojatnije se može pripisati aktivnosti kvasaca poput *Saccharomyces cerevisiae* budući da je 2-metilbutanal njihov metabolit. Ovaj spoj karakterizira slatka aroma te može biti povezan s okusima badema, sira i čokolade, no često se i opisuje kao pljesniva i ustajala aroma.

Udio produkata mikrobiološke aktivnosti tj. udio 2-metilbutanala u uljima istarskih sorti doživio je porast, a u uljima dalmatinskih sorti pad i to ponajviše u ulju levantinke, dok je u ulju oblice jedino zabilježen blagi porast nakon tretmana 10/256 i 10/640 (slika 9). Rezultati statističke analize pokazali su kako UZV tretman značajno utječe na udjele MBA produkata kod istarskih sorti. Najmanje povoljan utjecaj na udio produkata MBA imao je tretman 17/448 nakon kojeg su oba istarska ulja doživjela najveći porast. Wu i sur. (2015) navode da primjenom UZV-a dolazi do oštećenja stanične stijenke kvasca koje dovodi do ispuštanja intracelularnih proteina u okolni medij što može obrazložiti veći udio 2-metilbutanala u uljima istarskih sorti. Naime, Huang i sur. (2016) proveli su istraživanje kinetičkog modela formiranja 2-metilbutanala i ustanovili da se kao Streckerov aldehid formira iz aminokiseline izoleucin. Razlika u odgovorima istarskih i dalmatinskih ulja može se pripisati različitom mikrobiotom ulja te njihovom količinom od kojih ona u istarskim sortama pokazuje veću otpornost na tretmane UZV-om.

5. ZAKLJUČCI

1. Sastav i udjeli hlapljivih spojeva ovise o sorti maslina. U istarskim sortama najzastupljenija skupina spojeva su aldehidi, među kojima prevladava 2-heksenal. Sorta s najvećim udjelom produkata LOX puta i oksidacije je rosulja, dok levantinka ima najmanji udio. Suprotno tome, levantinka pokazuje najveći udio produkata mikrobiološke aktivnosti, a rosulja najmanji.
2. Primjena UZV tretmana dovela je do promjena u udjelu produkata LOX puta, no nije utvrđen statistički značajan utjecaj. Zabilježene su razlike u odgovoru pojedinih sorti na primijenjene uvjete. Kod rosulje je nakon tretmana, osobito pri nižim snagama UZV kupelji i srednjim snagama uz kraće trajanje, zabilježeno povećanje udjela produkata LOX puta. U uljima istarske bjelice, a posebno levantinke, primjena UZV-a dovela je do smanjenja udjela tih produkata, dok je kod oblice povećanje zabilježeno samo pri niskim i visokim snagama.
3. Udio produkata oksidacije smanjio se nakon UZV tretmana u svim sortama, osim u ulju istarske bjelice i levantinke pri visokim snagama.
4. UZV utječe na promjenu udjela produkata mikrobiološke aktivnosti. U istarskim sortama dolazi do njihova povećanja, dok se u dalmatinskim sortama bilježi smanjenje.
5. Iako istraživane sorte različito reagiraju na UZV tretman, može se preporučiti primjena tretmana niskih do srednjih snaga radi povećanja udjela poželjnih aroma i smanjenja nepoželjnih mirisnih svojstava. Međutim, potrebno je dodatno odrediti optimalne uvjete tretmana za svaku sortu pojedinačno.

6. LITERATURA

Almeida B, Valli E, Bendini A, Gallina Toschi T (2017) Semi-industrial ultrasound-assisted virgin olive oil extraction: Impact on quality. *Eur J Lipid Sci Technol* **119**(1), 1600230. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600230>

Angerosa F, Lanza B, Marsilio V (1996) Biogenesis of «fusty» defect in virgin olive oils. *Grasas y Aceites* **47**(3), 142–150. <https://doi.org/10.3989/gya.1996.v47.i3.854>

Angerosa F, Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Esposto S, Montedoro, G (2004) Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J Chromatogr A* **1054**(1-2), 17-31. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.093>

Aparicio R, Morales MT (1998) Characterization of olive ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil. *J Agric Food Chem* **46**(3), 1116–1122. <https://doi.org/10.1021/jf970540o>

Belavić M (2025) Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na formiranje hlapljivih spojeva hrvatskih djevičanskih maslinovih ulja (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Benincasa C, De Nino A, Lombardo N, Perri E, Sindona G, Tagarelli A (2003) Assay of aroma active components of virgin olive oils from southern Italian regions by SPME-GC/ion trap mass spectrometry. *J Agric Food Chem* **51**(3), 733-741. <https://doi.org/10.1021/jf0258095>

Brezjan, P (2023) Utjecaj ultrazvuka i pulsirajućeg električnog polja na sastav polifenola hrvatskih djevičanskih maslinovih ulja (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Brkić Bubola K, Lukić I, Krapac M, Koprivnjak O (2023) Exploring the Connection between the Occurrence and Intensity of “Grubby” Defect and Volatile Composition of Olive Oil. *Foods* **12**(24), 4473. <https://doi.org/10.3390/foods12244473>

Brkić Bubola K, Koprivnjak O, Sladonja B, Lukić I (2012) Volatile compounds and sensory profiles of monovarietal virgin olive oil from Buža, Črna and Rosinjola cultivars in Istria (Croatia). *Food Technol Biotechnol* **50**(2), 192-198.

Cao J, Jiang X, Chen Q, Zhang H, Sun H, Zhang WM, Li C (2020) Oxidative stabilities of olive and camellia oils: Possible mechanism of aldehydes formation in oleic acid triglyceride at high temperature. *LWT – Food Sci Technol* **118**, 108858. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108858>

Cecchi L, Migliorini M, Mulinacci N (2021) Virgin olive oil volatile compounds: Composition, sensory characteristics, analytical approaches, quality control, and authentication. *J Agric Food Chem* **69**(7), 2013-2040. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07744>

Clodoveo ML (2013) An overview of emerging techniques in virgin olive oil extraction process: Strategies in the development of innovative plants. *J Agric Eng* **44** (s2). <https://doi.org/10.4081/jae.2013.302>

Clodoveo ML, Durante V, La Notte D, Punzi R, Gambacorta G (2013) Ultrasound-assisted extraction of virgin olive oil to improve the process efficiency. *Eur J Lipid Sci Technol* **115**(9), 1062-1069. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200426>

Clodoveo ML (2019) Industrial ultrasound applications in the extra-virgin olive oil extraction process: History, approaches, and key questions. *Foods* **8**(4), 121. <https://doi.org/10.3390/foods8040121>

Di Giovacchino L, Costantini N, Serraiocco A, Surricchio G, Basti C (2001) Natural antioxidants and volatile compounds of virgin olive oils obtained by two or three-phases centrifugal decanters. *Eur J Lipid Sci Technol* **103**(5), 279-285. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200105\)103:5<279::AID-EJLT279>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200105)103:5<279::AID-EJLT279>3.0.CO;2-I)

Gomes Da Silva MDR, Costa Freitas AM, Cabrita MJB, Garcia R (2012) Olive oil composition: Volatile compounds. U: Boskou D (ured.) Olive oil-constituents, quality, health properties and bioconversions, InTech, London/Rijeka, str. 17-46. <http://dx.doi.org/10.5772/1378>.

Grujin A (2024) Utjecaj inovativnih tehnologija na sastav i udio tokoferola djevičanskih maslinovih ulja (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Guillén MD, Uriarte PS (2012) Aldehydes contained in edible oils of a very different nature after prolonged heating at frying temperature: Presence of toxic oxygenated α , β unsaturated aldehydes. *Food Chem* **131**(3), 915-926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.079>

Hojka I (2024) Utjecaj ultrazvuka i pulsirajućeg električnog polja na aktivnost lipoksigenaze u plodu masline (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Huang Y, Tippmann J, Becker T (2017) A Kinetic Study on the Formation of 2- and 3-Methylbutanal. *J Food Process Eng* **40**(2), 12375. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12375>

Inarejos-García AM, Santacatterina M, Salvador MD, Fregapane G, Gómez-Alonso S (2010) PDO virgin olive oil quality - Minor components and organoleptic evaluation. *Food Res Int* **43**(8), 2138-2146. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.027>

IOC (2011) Guide for the determination of the characteristics of oil-olives. IOC – International Olive Council, <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-OH-Doc.-1-2011-Eng.pdf>. Pristupljeno 13. kolovoza 2025.

IOC (2024) Sensory analysis of olive oil – Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOC – International Olive Council, https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2024/07/III-2.2.COI-T20-Doc.-15-REV-11-2024_EN-1.pdf. Pristupljeno 13. kolovoza 2025.

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**(6), 725-731. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.12.006>

Juliano P, Bainczyk F, Swiergon P, Supriyatna MIM, Guillaume C, Ravetti L, Canamasas P, Cravotto G, Xu XQ (2017) Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves. *Ultrason sonochem* **38**, 104-114. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.02.038>

Kalogeropoulos N, Kaliora AC, Artemiou A, Giogios I (2014) Composition, volatile profiles and functional properties of virgin olive oils produced by two-phase vs three-phase centrifugal decanters. *LWT - Food Sci Technol* **58**(1), 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.052>

Kalua CM, Bedgood DR, Bishop AG, Prenzler PD (2006) Changes in volatile and phenolic compounds with malaxation time and temperature during virgin olive oil production. *J Agric Food Chem* **54**(20), 7641-7651. <https://doi.org/10.1021/jf061122z>

Kalua CM, Allen MS, Bedgood Jr DR, Bishop AG, Prenzler PD, Robards K (2007) Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chem* **100**(1), 273-286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.059>

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

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

Kiritsakis AK (1998) Flavor components of olive oil—A review. *J Am Oil Chem Soc* **75**, 673-681. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0205-6>

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, MIH, Poreč, str. 34-38.

Koprivnjak O, Majetić V, Brkić Bubola K, Kosić U (2012) Variability of phenolic and volatile compounds in virgin olive oil from Leccino and Istarska Bjelica cultivars in relation to their fruit mixtures. *Food Technol Biotechnol* **50**(2), 216-221.

Lukić I, Lukić M, Žanetić M, Krapac M, Godena S, Brkić Bubola K (2019) Inter-varietal diversity of typical volatile and phenolic profiles of Croatian extra virgin olive oils as revealed by GC-IT-MS and UPLC-DAD analysis. *Foods* **8**(11), 565. <https://doi.org/10.3390/foods8110565>

Manganiello R, Pagano M, Nucciarelli D, Ciccoritti R, Tomasone R, Di Serio MG, Giansante L, Del Re P, Servili M, Veneziani G (2021) Effects of ultrasound technology on the qualitative properties of Italian extra virgin olive oil. *Foods* **10**(11), 2884. <https://doi.org/10.3390/foods10112884>

Morales MT, Alonso MV, Rios JJ, Aparicio R (1995) Virgin olive oil aroma: relationship between volatile compounds and sensory attributes by chemometrics. *J Agric Food Chem*, **43**(11), 2925-2931. <https://doi.org/10.1021/jf00059a029>

Morales MT, Angerosa F, Aparicio R (1999) Effect of the extraction conditions of virgin olive oil on the lipoxygenase cascade: chemical and sensory implications. *Grasas y Aceites* **50**, 114-121. <https://doi.org/10.3989/gya.1999.v50.i2.645>

Morales MT, Przybylski R (2013) Olive oil oxidation. U: Aparicio R, Harwood J (ured.) *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*, 2. izd., Springer, New York/Heidelberg/Dordrecht/London, str. 479–522.

Olias JM, Perez AG, Rios JJ, Sanz LC (1993) Aroma of virgin olive oil: Biogenesis of the “green” odor notes. *J Agric Food Chem* **41**, 2368–2373. <https://doi.org/10.1021/jf00036a029>

Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Würtele G, Spiegelhalter B, Bartsch H (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* **1**(2), 107-112. DOI: [10.1016/S1470-2045\(00\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(00)00015-2)

Palumbo M, Harris LJ (2011) Microbiological food safety of olive oil: A review of the literature. *UC Davis Olive Center Report*. 3-8.

Pitarević A (2023) Utjecaj vremena skladištenja na kvalitetu i aromatični profil djevičanskih maslinovih ulja (diplomski rad), Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split.

Piscopo A, Poiana M (2012) Packaging and storage of olive oil. U: Muzzalupo I (ured.) Olive germplasm—the olive cultivation, table olive and olive oil industry in Italy, InTech, Rijeka, str. 201-222.

Reboredo-Rodríguez P, González-Barreiro C, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J (2013) Concentrations of aroma compounds and odor activity values of odorant series in different olive cultivars and their oils. *J Agric Food Chem* **61**(22) 5252-5259. <https://doi.org/10.1021/jf400804m>

Salivaras E (2017) Sensory Properties and Evaluation of Virgin Olive Oils. U: Shahidi F, Kiritsakis A (ured.) Olives and Olive Oil as Functional Foods: Bioactivity, Chemistry and Processing, 1. izd., John Wiley & Sons Ltd, Hoboken/West Sussex, str. 603-627.

Sarkar P, Ghigliotti G, Fivel MC, Franc JP (2018) Numerical investigation of the dynamics of pressure loading on a solid boundary from a collapsing cavitation bubble. U: 10th International Symposium on Cavitation-CAV2018, Baltimore, str. 2.

Soldo B, Jukić Špika M, Pasković I, Vuko E, Polić Pasković M, Ljubenkov I (2024) The Composition of Volatiles and the Role of Non-Traditional LOX on Target Metabolites in Virgin Olive Oil from Autochthonous Dalmatian Cultivars. *Molecules* **29**(8), 1696. <https://doi.org/10.3390/molecules29081696>

Soldo B (2016) Utjecaj lipoksigenaze na sastav hlapljivih tvari u maslinovom ulju autohtonih dalmatinskih sorti (doktorski rad), Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Škevin D, Rade D, Štrucelj D, Mokrovšak Ž, Neđeral S, Benčić Đ (2003) The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil. *Eur J Lipid Sci Technol* **105**(9), 536-541. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200300782>

Vichi S, Romero A, Tous J, Caixach J (2011) The activity of healthy olive microbiota during virgin olive oil extraction influences oil chemical composition. *J Agri Food Chem* **59**(9), 4705-4714. <https://doi.org/10.1021/jf200642s>

Vossen P (2007) Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *Hort Sci* **42**(5), 1093-1100. [10.21273/HORTSCI.42.5.1093](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1093)

Wu T, Yu X, Hu A, Zhang L, Jin Y, Abid M (2015) Ultrasonic disruption of yeast cells: Underlying mechanism and effects of processing parameters. *Innov Food Sci Emerg Technol* **28**, 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.01.005>

Žanetić M, Jukić Špika M, Ožić M.M, Brkić Bubola K (2021) Comparative study of volatile compounds and sensory characteristics of dalmatian monovarietal virgin olive oils. *Plants* **10**(10), 1995. <https://doi.org/10.3390/plants10101995>

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Barbara Brunović izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni. Diplomski rad je napisan prema važećim Uputama za izradu i obranu diplomskog rada.

Vlastoručni potpis