

Utjecaj vremena skladištenja na kvalitetu i aromatični profil djevičanskih maslinovih ulja

Pitarević, Anita

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:616756>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**UTJECAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA KVALITETU I AROMATIČNI
PROFIL DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA**

DIPLOMSKI RAD

ANITA PITAREVIĆ

Matični broj: 40

Split, lipanj 2023.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ
PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**UTJECAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA KVALITETU I
AROMATIČNI PROFIL DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA**

DIPLOMSKI RAD

ANITA PITAREVIĆ

Matični broj: 40

Split, lipanj 2023.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

INFLUENCE OF STORAGE TIME ON THE QUALITY AND AROMA
PROFILE OF VIRGIN OLIVE OILS

DIPLOMA THESIS

ANITA PITAREVIĆ

Parent number: 40

Split, June 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet
Diplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: -Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: -Prehrambena tehnologija

Mentor: doc. dr. sc. Mladenka Šarolić
Komentor:

UTJECAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA KVALITETU I AROMATIČNI PROFIL DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA

Anita Pitarević, 40

Sažetak: Maslina (*Olea europaea* L.) je najrasprostranjenija biljka na području jadranskog dijela Hrvatske još od antičkog doba. Kao izuzetno rasprostranjena voćna vrsta, s dugom poviješću uzgoja odlikuje se velikim brojem sorti. Najvrjedniji i glavni proizvod ploda masline je maslinovo ulje, koje je iznimno cijenjeno zbog svojih zdravstvenih svojstava i jedinstvenog okusa. Za razliku od ostalih masti i ulja, koji se koriste u ljudskoj prehrani, maslinovo ulje postiže najveću cijenu na tržištu. Zato se maslinova ulja podvrgavaju ispitivanju kvalitete i autentičnosti u cilju sprječavanja bilo kojih oblika patvorenja. Osim berbe i prerade plodova na kvalitetu maslinovog ulja utječu adekvatna dorada i skladištenje. Stoga je od velikog značaja skladištiti ulje u odgovarajućoj ambalaži i zaštititi ga od negativnog utjecaja vanjskih čimbenika.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi kako vrijeme čuvanja utječe na kvalitetu i aromatični profil djevičanskog maslinovog ulja. U ovom istraživanju analize su provedene na tri uzorka djevičanskih maslinovih ulja, nakon prerade te svako tri mjeseca u periodu od godine dana čuvanja u zatvorenoj tamnoj staklenoj boci na suhom i tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Prema rezultatima pokazatelja kvalitete utvrđeno je kako su se vremenom skladištenja blago povećale vrijednosti pojedinih parametara kvalitete, te ulja i nakon godine dana pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Nadalje, vrijednosti ukupnih fenola u uljima su se tijekom skladištenja smanjile, a najveći sadržaj je utvrđen u ulju sorte *Oblica*. Aromatični profil ulja tijekom skladištenja također je doživio promjene. Uglavnom su se odnosile na smanjenje udjela C-6 aldehida (*E*)-heks-2-enala te rast udjela C-6 alkohola (heksanola) odgovornih za „zelene“ i svježe note. Rezultati senzorske analize ukazuju na blagi pad intenziteta pozitivnih senzorskih obilježja te odsustvo senzorskih mana te se sva ulja i prema ovom pokazatelju kvalitete mogu kategorizirati kao ekstra djevičanska maslinova ulja.

Ključne riječi: djevičanska maslinova ulja, kvaliteta, skladištenje, aromatični profil

Rad sadrži: 66 stranica, 26 slika, 11 tablica, 60 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Ani Radonić	predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Zvonimir Marijanović	član
3. doc. dr. sc. Mladenka Šarolić	mentor

Datum obrane: 10. srpnja 2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Tehnology
Graduate study of Food Tehnology

Scientific area:-Biotechnical Sciences
Scientific field:-Food Tehnology

Supervisor: Mladenka Šarolić, PhD, assistant prof.
Co-supervisor:

INFLUENCE OF STORAGE TIME ON THE QUALITY AND AROMA PROFILE OF VIRGIN OLIVE OILS

Anita Pitarević,40

Abstract: Olive (*Olea europaea* L.) is the most widespread plant in the area of the Adriatic part of Croatia since ancient times. As an extremely widespread fruit species, with a long history of cultivation, it is characterized by a large number of varieties. The most valuable and main product of the olive fruit is olive oil, which is highly valued for its health properties and unique taste. Unlike other fats and oils, which are used in human nutrition, olive oil reaches the highest price on the market. That is why olive oils undergo quality and authenticity testing in order to prevent any form of adulteration. Except harvesting and fruit processing, the quality of olive oil is affected by adequate processing and storage. Therefore, it is of great importance to store the oil in appropriate packaging and protect it from the negative influence of external factors.

The aim of this thesis was to determine how storage time affects the quality and aromatic profile of virgin olive oil. In this research, analyses were performed on three virgin olive oil samples after processing and every three months for a period of one year, stored in a closed dark glass bottle in a dry and dark place at room temperature. According to the results of the quality indicators, it was determined that the values of certain quality parameters slightly increased during storage, and that the oils still belong to the category of extra virgin olive oils even after a year. Furthermore, the values of total phenols in the oils decreased during storage, and the highest content was determined in the oil of the *Oblica* variety. The aromatic profile of the oils also underwent changes during storage. They were mainly related to the reduction of the content of C-6 aldehyde (*E*)-2-hexenal and the increase of the content of C-6 alcohol (hexanol) which are responsible for "green" and fresh notes. The results of sensory analysis indicate a slight decrease in the intensity of positive sensory attributes and no sensory defects perceived which means that all oils can be categorized as extra virgin olive oils according to this quality indicator.

Keywords: virgin olive oils, quality, storage, aroma profile

Thesis contains: 66 pages, 26 figures, 11 tables, 60 references

Original in: Croatian

Defence committee for evaluation and defense of diploma thesis:

- | | |
|--|--------------|
| 1. Ani Radonić, PhD, Full Prof. | chair person |
| 2. Zvonimir Marijanović, PhD, Assoc. Prof. | member |
| 3. Mladenka Šarolić, PhD, Asst Prof. | supervisor |

Defense date: 10. July 2023.

Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu te na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko dalmatinske županije pod mentorstvom doc. dr. sc. Mladenke Šarolić, u razdoblju od listopada 2021. do svibnja 2023.

ZAHVALA

U prvom redu zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Mladenki Šarolić na iskazanom povjerenju, vodstvu i korisnim savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem također svojim dragim kolegama i prijateljima na razumijevanju i podršci tijekom cijelog studija.

Posebno hvala mojoj obitelji i Valentinu, što su vjerovali u mene i kada ja to nisam, u svim sretnim i malo manje sretnim trenucima.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA

- Zadatak diplomskog rada je utvrditi kako vrijeme skladištenja (čuvanja) utječe na kvalitetu i aromatični profil djevičanskog maslinovog ulja. Ispitivanje provesti na tri uzorka ulja od kojih su dva sortna ulja (sorte *Oblica* i *Leccino*) te jedan uzorak višesortnog ulja. Ulja su čuvana u bocama od tamnog stakla na suhom i tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi.
- Odrediti osnovne pokazatelje kvalitete ulja propisane legislativom.
- Odrediti ukupne fenolne spojeve.
- Odrediti aromatični profil ulja: izolirati hlapljive spojeve metodom mikrostrakcije vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME), a identifikaciju provesti primjenom vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).
- Usporediti dobivene rezultate te utvrditi kako skladištenje utječe na kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja.

SAŽETAK

Maslina (*Olea europea* L.) je najrasprostranjenija biljka na području jadranskog dijela Hrvatske još od antičkog doba. Kao izuzetno rasprostranjena voćna vrsta, s dugom poviješću uzgoja odlikuje se velikim brojem sorti. Najvrjedniji i glavni proizvod ploda masline je maslinovo ulje, koje je iznimno cijenjeno zbog svojih zdravstvenih svojstava i jedinstvenog okusa. Za razliku od ostalih masti i ulja, koji se koriste u ljudskoj prehrani, maslinovo ulje postiže najveću cijenu na tržištu. Zato se maslinova ulja podvrgavaju ispitivanju kvalitete i autentičnosti u cilju sprječavanja bilo kojih oblika patvorenja. Osim berbe i prerade plodova na kvalitetu maslinovog ulja utječu adekvatna dorada i skladištenje. Stoga je od velikog značaja skladištiti ulje u odgovarajućoj ambalaži i zaštititi ga od negativnog utjecaja vanjskih čimbenika.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi kako vrijeme čuvanja utječe na kvalitetu i aromatični profil djevičanskog maslinovog ulja. U ovom istraživanju analize su provedene na tri uzorka djevičanskih maslinovih ulja, nakon prerade te svako tri mjeseca u periodu od godine dana čuvanja u zatvorenoj tamnoj staklenoj boci na suhom i tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Prema rezultatima pokazatelja kvalitete utvrđeno je kako su se vremenom skladištenja blago povećale vrijednosti pojedinih parametara kvalitete, te ulja i nakon godine dana pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Nadalje, vrijednosti ukupnih fenola u uljima su se tijekom skladištenja smanjile, a najveći sadržaj je utvrđen u ulju sorte *Oblica*. Aromatični profil ulja tijekom skladištenja također je doživio promjene. Uglavnom su se odnosile na smanjenje udjela C-6 aldehida (*E*)-heks-2-enala te rast udjela C-6 alkohola (heksanola) odgovornih za „zelene“ i svježije note. Rezultati senzorske analize ukazuju na blagi pad intenziteta pozitivnih senzorskih obilježja te odsustvo senzorskih mana te se sva ulja i prema ovom pokazatelju kvalitete mogu kategorizirati kao ekstra djevičanska maslinova ulja.

Ključne riječi: djevičanska maslinova ulja, kvaliteta, skladištenje, aromatični profil

SUMMARY

Olive (*Olea europea* L.) is the most widespread plant in the area of the Adriatic part of Croatia since ancient times. As an extremely widespread fruit species, with a long history of cultivation, it is characterized by a large number of varieties. The most valuable and main product of the olive fruit is olive oil, which is highly valued for its health properties and unique taste. Unlike other fats and oils, which are used in human nutrition, olive oil reaches the highest price on the market. That is why olive oils undergo quality and authenticity testing in order to prevent any form of adulteration. Except harvesting and fruit processing, the quality of olive oil is affected by adequate processing and storage. Therefore, it is of great importance to store the oil in appropriate packaging and protect it from the negative influence of external factors.

The aim of this thesis was to determine how storage time affects the quality and aromatic profile of virgin olive oil. In this research, analyses were performed on three virgin olive oil samples after processing and every three months for a period of one year, stored in a closed dark glass bottle in a dry and dark place at room temperature. According to the results of the quality indicators, it was determined that the values of certain quality parameters slightly increased during storage, and that the oils still belong to the category of extra virgin olive oils even after a year. Furthermore, the values of total phenols in the oils decreased during storage, and the highest content was determined in the oil of the *Oblica* variety. The aromatic profile of the oils also underwent changes during storage. They were mainly related to the reduction of the content of C-6 aldehyde (*E*)-2-hexenal and the increase of the content of C-6 alcohol (hexanol) which are responsible for "green" and fresh notes. The results of sensory analysis indicate a slight decrease in the intensity of positive sensory attributes and no sensory defects perceived which means that all oils can be categorized as extra virgin olive oils according to this quality indicator.

Keywords: virgin olive oils, quality, storage, aroma profile

Sadržaj

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Maslina.....	2
1.2. Plod masline.....	3
1.2.1. Građa ploda masline	3
1.2.2. Kemijski sastav ploda masline.....	5
1.3. Sorte maslina.....	5
1.3.1. <i>Oblica</i>	7
1.3.2. <i>Leccino</i>	8
1.4. Prerada maslina u ulje	9
1.4.1. Berba.....	9
1.4.2. Transport plodova i skladištenje	9
1.4.3. Čišćenje i pranje plodova.....	10
1.4.4. Mljevenje	11
1.4.5. Mijesenje tijesta (malaksacija).....	11
1.4.6. Odvajanje krute i tekuće faze.....	12
1.4.7. Odvajanje ulja od vegetabilne vode.....	15
1.4.8. Dorada i skladištenje djevičanskog maslinovog ulja	15
1.5. Maslinovo ulje.....	17
1.5.1. Kemijski sastav maslinovog ulja	17
1.6. Kvaliteta maslinovog ulja	24
1.6.1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu maslinovog ulja	24
1.6.2. Parametri kvalitete.....	24
1.6.3. Kvarenje maslinovog ulja	26
2. EKSPERIMENTALNI DIO	28
2.1. Materijali.....	28
2.2. Metode.....	29
2.2.1. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina	30
2.2.2. Određivanje peroksidnog broja.....	30
2.2.3. Određivanje K-brojeva	31
2.2.4. Senzorska analiza maslinovog ulja.....	32
2.2.5. Određivanje ukupnih fenola.....	38
2.2.6. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)	38
2.2.7. Plinska kromatografija-spektrometrija masa	40
3. REZULTATI	43

3.1.	Rezultati fizikalno-kemijske analize ulje	43
3.2.	Analiza hlapljivih spojeva.....	44
3.3.	Senzorska analiza	48
4.	RASPRAVA	50
4.1.	Fizikalno kemijska analiza	50
4.2.	Analiza hlapljivih spojeva.....	52
4.3.	Senzorski profil maslinovog ulja	58
5.	ZAKLJUČCI.....	59
6.	POPIS KRATICA I SIMBOLA	61
7.	LITERATURA	62

UVOD

Maslina (*Olea europea* L.) je najzastupljenija biljka i najstarija uzgajana kultura Mediterana.¹ Kultura uzgoja masline započela je prije 6000 godina pr. Kr. u Aziji, odakle se širila prema Grčkoj, a kasnije kolonijalnim djelovanjem i na ostale dijelove Mediterana.

Osim njene florističke vrijednosti, maslina kroz povijest nosi i razna simbolička značenja. Kršćani su primjerice maslinom izražavali čestitke i mir, a razni pisani zapisi, kipovi, freske i arheološki ostatci upućuju na to da su antički narodi maslinu smatrali svetim drvom te postaje kult i čin za slavlja.² Nakon otkrića Amerike, prva stabla masline dolaze u Meksiko, a početkom 18. st. maslina je donesena i u Australiju.³

Maslinovo ulje je visokovrijedna i funkcionalna namirnica, dobivena mehaničkim postupcima te drugim fizikalnim postupcima iz ploda masline. Od davnina se maslinovo ulje cijeno i upotrebljavalo za ljudsku prehranu, a današnja brojna znanstvena istraživanja s nutricionističkog, ali i medicinskog aspekta, maslinu i maslinovo ulje postavljaju kao temelj zdrave mediteranske prehrane.¹

Najveći dio maslinovog ulja čine acilgliceroli (gliceridi), esteri masnih kiselina i alkohola glicerola, a njegova jedinstvena aroma pripisuje se različitim sastojcima koji su zastupljeni u manjim količinama. Između ostalih, i hlapljivi spojevi su nositelji arome maslinovog ulja. Aroma je važan segment kvalitete djevičanskih maslinovih ulja, a identifikacija spojeva koji pridonose aromi, osobito je važna u kontroli kvalitete i provjeri autentičnosti. Za utvrđivanje kvalitete, odnosno za kategorizaciju maslinovog ulja, osim određivanja fizikalno-kemijskih pokazatelja, vrlo je bitna i senzorska analiza.

Na kvalitetu maslinovog ulja utječe niz prirodnih i ljudskih čimbenika, a posebno važno je skladištenje, odnosno čuvanje maslinovog ulja. Ulje je potrebno čuvati u čistim i prozračnim prostorijama u kojim se temperature kreću od 15-18 °C. Pravilnim skladištenjem usporava se niz promjena koje utječu na senzorska i fizikalno-kemijska svojstva, održava se visokovrijedni nutricionistički profil te se izbjegava pojava senzorskih mana.

1. OPĆI DIO

1.1. Maslina

Maslina, *Olea europea* L., je zimzelena vrsta iz *Oleaceae* (slika 1). Doseže visinu 8 do 10 m, nekada čak i više ako se radi o područjima koja su zaštićena od vjetra.³

Divlja maslina (*Olea sylvestris*) raste grmoliko, plodovi su joj sitni i u prosjeku 25 puta lakši od ploda pitome masline. Gospodarski interesantne sorte su nastale vegetativno, a širio ih je čovjek probirom populata nastalih generativnim razmnožavanjem divlje masline.²

Ovisno o sastavu tla i agrotehničkim mjerama u masliniku, korijen masline se razvija dublje ili pliće. Poželjno je da tlo bude duboko, rahlo i prozračno. Stablo uzgojeno iz sjemena prodire dublje u zemlju, širi se koliko i krošnja te je rezistentnije na vremenske uvjete od stabla uzgojenog od mladice.² Zdravi korijen stoljećima nakon može dati nadzemni dio u vidu mladih izdanaka koji se mogu obnavljati.⁴ Deblo mladih maslina je glatko i zelenkaste boje, dok starenjem ono postaje kvrgavije i tamnije.² Listovi masline su mali, duguljasti i kožasti. Lice je svijetlozelene boje, a naličje bjelkasto. Unutar pazuška lista, smješteni su pupovi. Pupovi mogu biti cvjetni (okrugli) ili drvni (šiljasti). Cvat masline je grozdast, žućkasto bijeli, ugodnog mirisa te se u narodu naziva resa. Nakon cvatnje i oplodnje nastaje plod. Veličina i oblik ploda ovise o sorti masline. Dozrijevanjem plod iz zelene boje prelazi u žućkastu, a zatim u crvenkastu.³

Područje uzgoja masline uvjetovano je mediteranskim tipom klime koju karakteriziraju blage zime te duga i topla ljeta.



Slika 1. Stablo masline (*Olea europaea* L.)⁵

1.2. Plod masline

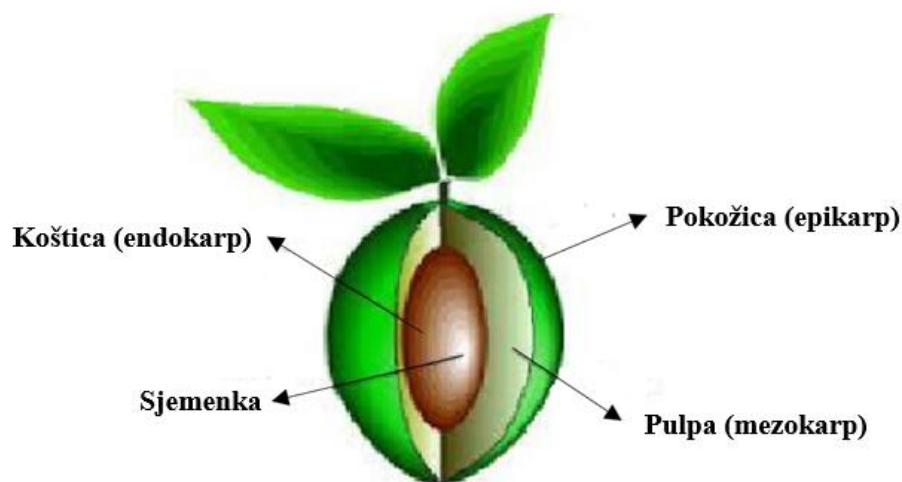
Za vrijeme cvjetanja u svibnju, odnosno lipnju na maslini se nalaze karakteristični žućkasto bijeli cvjetovi koji su skupljeni u rese. Zbog ranog opadanja tek nekolicina cvjetova se pretvori u plod.

Razvoj i zrenje kreće tijekom ljeta, a u rujnu plodovi počinju sazrijevati, nakon čega su spremni za berbu i daljnju preradu. Stvaranje ploda podijeljeno je u 5 faza. Početna faza je oplodnja i zametanje ploda, a karakterizira je dioba stanica koja je preduvjet za napredovanje embrija. Potom slijedi formiranje sjemenke i intenzivniji rast ploda. U trećoj fazi očvršćuje koštica (endokarp). U sljedećoj fazi dolazi do razvoja pulpe te povećanja postojećih stanica, kako bi se stvorili preduvjeti za skupljanje ulja. Stvaranje ulja kreće nakon formiranja koštice te traje do obojenja ploda. Kako plod mijenja boju, smanjuje se gorčina, a povećava sadržaj ulja u plodu.⁶

1.2.1. Građa ploda masline

Plod masline je bobica duguljastog ili okruglastog oblika, koja je sastavljena od pokožice (epikarp), pulpe (mezokarp), koštice (endokarp) i sjemenke (slika 2).

Karakteristike ploda masline uvjetovane su genetskim karakteristikama sorte, primijenjenim agrotehničkim mjerama te okolišnim uvjetima. Prosječna masa ploda je od 0,5 g do 20 g.

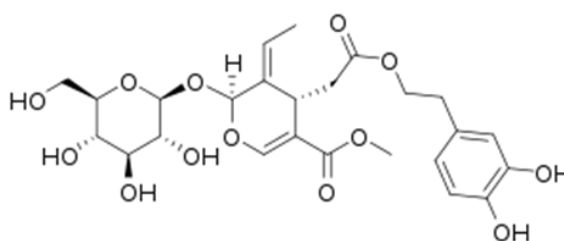


Slika 2. Građa ploda masline⁷

Pulpa čini 70-85 % ukupne težine ploda, koštica 13-23 %, sjemenka je 2-4 %, dok težina pokožice ne prelazi više od 4%.⁸

Što se tiče količine ulja, najviše ga ima u pulpi (96-98 %), a ostatak (2-4 %) se nalazi u sjemenci ploda.⁶

Pokožica (epikarp) je vanjska zaštitna ovojnica i ujedno dio ploda koji sadrži najviše tvari boje.⁹ U nezrelom, zelenom plodu prevladava klorofil, dok se početak sinteze antocijana očituje pojavom crvenkastih ili ljubičastih mrlja. Sintezom antocijana, smanjuje se udio oleuropeina (slika 3), fenolnog spoja odgovornog za gorčinu plodova maslina.



Slika 3. Kemijska struktura oleuropeina¹⁰

U stanicama pulpe ploda smještene su vakuole u kojima se nakupljaju triacilgliceroli i fenolne tvari kako bi se zaštitili od enzima u citoplazmi.

Ukoliko dođe do pucanja membrana vakuola, triacilgliceroli postaju dostupni djelovanju lipaza. Na masne kiseline djeluju lipooksigenaze i peroksidaze, dok na fenole glikozidaze i polifenoloksidaze. Ostali endogeni enzimi kao celulaze, poligalakturonaze i pektin metilesteraze imaju ulogu u omekšavanju pulpe tijekom dozrijevanja, a njihova aktivnost doprinosi izdvajanju ulja tijekom prerađivanja plodova.⁹

Endokarp okružuje i štiti sjemenku. Tkivo endokarpa je svjetlije boje, koja se mijenja do smeđe prilikom oksidacije na zraku. Procesom lignifikacije stanice endokarpa se pretvaraju u drvo. S obzirom na sortu, koštice ploda masline su različitog oblika i veličine.

1.2.2. Kemijski sastav ploda masline

Kemijski sastav ploda masline uvjetovan je genetskim, agrotehničkim, pedološkim te klimatskim čimbenicima uzgojnog područja.¹

Plod masline sadrži vodu, proteine, ugljikohidrate, celulozu i pepeo. Ostali značajni sastojci su pektini, organske kiseline, pigmenti i fenoli (tablica 1).²

Tablica 1. Kemijski sastav ploda masline²

Sastojci (%)	Plod masline	Pulpa	Koštica	Sjemenka
Voda	45-55	50-60	10	30
Ulje	13-28	15-30	0,7	27
Dušikovi spojevi	1,5-2	2-4	3,3	10
Nedušikovi spojevi	18-24	3-7		
Celuloza	5-8	3-6	79	29
Pepeo	1-2	1-2	4	1,5

1.3. Sorte maslina

Sorte su botanički varijeteti iste genetske konstitucije, nastale odabiranjem (selekcijom) od iste vrste, a sa različitim botaničkim karakteristikama.¹¹

Maslina, kao izuzetno rasprostranjena vrsta s dugom poviješću uzgoja, prema nekim autorima broji više od 1200 sorti.¹²

Svako područje ima svoje glavne i popratne sorte, tako da se duž obale Jadrana i u unutrašnjosti uzgaja oko 60-tak autohtonih i unesenih, stranih sorti maslina. U tablici 2 su prikazane domaće i strane sorte zastupljene u Hrvatskoj.

Da bi se opisala sorta masline, potrebno je ispuniti sljedeće elajografske zahtjeve: opće karakteristike (naziv, sinonimi), morfološke karakteristike (stablo, list, cvat, cvijet, plod, koštica), agronomske i biološke karakteristike, senzorsku analizu, biokemijski karakter te molekularni markeri.²

Sorta diktira veličinu ploda, omjer pulpa/koštica i na kraju stvaranje ulja te njegov sastav, odnosno kemijsko-fizikalni profil. Budući da sorta određuje biokemijske puteve kojima nastaju kemijski spojevi, za očekivati je različitost u aromatičnom profilu i senzorskim svojstvima ulja. Zbog toga se sorta može smatrati temeljem za senzorsku analizu, karakterizaciju maslinovog ulja te njegovu autentičnost.¹³

Međutim, razlike se mogu javiti i unutar same sorte, osobito ako se spomene područje uzgoja, koji je jedan od ključnih čimbenika.

Kod izbora sorte bitno je odlučiti koji je cilj proizvodnje, odnosno je li cilj proizvodnja ulja ili konzumna (stolna) maslina. Maslinik se može podignuti s više sorti ili samo jednom, a kod izbora sorti je najbolje obratiti pozornost na dosadašnju praksu i znanost. Ukoliko je riječ o masliniku sa više sorti, bitno je poznavati prilagođenost jedne sorte prema drugoj. Konkretno, to se odnosi na sposobnost međusobne oplodnje i doba cvatnje.¹⁴

Prema optimalnoj mogućnosti upotrebe plodova maslina, sorte maslina su podijeljene na:

- uljne sorte od kojih se dobiva ulje - *Lastovka, Leccino, Drobница* i dr.
- stolne sorte koje se koriste za konzerviranje – *Dužica, Murgulja, Ascolana tenera* i dr.
- sorte za dvojaku upotrebu (koje se koriste za dobivanje ulja i konzerviranje) – *Oblica Buža* i dr.

Tablica 2. Autohtone i strane sorte maslina¹⁵

Autohtone (domaće) sorte		Introducirane (uvezene) sorte
<i>Oblica</i>	<i>Mezanica</i>	<i>Arbequina</i>
<i>Lastovka</i>	<i>Mastrinka</i>	<i>Gordal sevillana</i>
<i>Levantinka</i>	<i>Krvavica</i>	<i>Hojiblanca</i>
<i>Drobnica</i>	<i>Karbunčela</i>	<i>Koroneiki</i>
<i>Istarska bjelica</i>	<i>Buharica</i>	<i>Ladoelia</i>
<i>Buga-Buža</i>	<i>Lumbardeška</i>	<i>Nabali baladi</i>
<i>Bjelica</i>	<i>Sitnica</i>	<i>Picual</i>
<i>Uljarica</i>	<i>Želudarica- Žirnjača</i>	<i>Tanch</i>
<i>Crnica</i>	<i>Grozdača</i>	<i>Verdale</i>
<i>Dužica</i>	<i>Velika lastovka</i>	<i>Barnea</i>
<i>Murgulja</i>	<i>Piculja</i>	<i>Ascolana tenera</i>
<i>Plominka</i>	<i>Kosmača</i>	<i>Coratina</i>
<i>Simjaca</i>	<i>Oštrica</i>	<i>Leccino</i>
<i>Istarska crnica</i>	<i>Puljka</i>	<i>Pendolino</i>
<i>Puntoža</i>	<i>Paštrica</i>	<i>Frantonio</i>

Obzirom da su u ovom radu predmet istraživanja bila ulja sorti *Oblica* i *Leccino* te višesortno ulje u daljnjem tekstu opisane su glavne karakteristike spomenutih sorti.

1.3.1. *Oblica*

Sinonimi: *Balunjača, Naša, Trgulja, Pitoma, Domaća*

Oblica (slika 4) je naša najpoznatija i najzastupljenija sorta. Čini više od 60 % sortimenata, a uzgaja se od Pelješca do Krka. Razvija srednje bujno stablo s krošnjom okruglog oblika. List je širok, dug, eliptičnog oblika, simetričan i sivomaslinaste boje. Tijekom suše, spiralno uvija listove kako bi se smanjio gubitak vode. Plod je krupan, okruglog oblika, prosječne mase 5 g. Kao što je već ranije spomenuto, *Oblica* je sorta za dvojaku uporabu. Njeni plodovi se mogu koristiti za konzerviranje te prerađivati u ulje.¹⁵ Prednosti *Oblice* su dobra prilagođenost području, otpornost na sušu, bolesti i štetnike. Mane ove sorte su neredovita rodnost te veliki postotak sterilnih cvjetova.



Slika 4. *Oblica*¹⁶

1.3.2. *Leccino*

Sinonimi: *Talijanka, Najslada, Krupna, Premice, Silvestrone*

Leccino (slika 5) je introducirana, odnosno strana sorta podrijetlom iz talijanske regije Toscanne. U Hrvatskoj je prisutna u cijelom uzgojnom području s većinskom zastupljenošću u Istri. Stablo je bujnog rasta s gustom i bujnom krošnjom. Listovi su eliptični, srednje dugi i široki. Plod je srednje krupan, mase oko 3 g, eliptičnog oblika. Plodovi su potpuno crni u fazi pune zrelosti. *Leccino* je sorta koja se uglavnom koristi za preradu u ulje.

Prednosti ove sorte su ujednačeno dozrijevanje plodova, redovita i visoka rodnost, otpornost na niske temperature te bolesti kao što su paunovo oko i rak masline. Također daje ulje dobre kvalitete.

Mane sorte su osjetljivost na sušu, nije otporna na čađavicu te štetnike kao što su maslinina muha i maslinin svrdlaš.¹⁷



Slika 5. *Leccino*¹⁸

1.4. Prerada maslina u ulje

Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja visoke kvalitete uključuje niz koraka, poput primjene odgovarajućih agrotehničkih mjera u masliniku, pravilne berbe i postupanja s plodovima do prerade, načina prerade plodova u ulje te na kraju pravilnog skladištenja ulja. U užem smislu, glavne operacije tehnološkog procesa koje se odvijaju u uljari su: vaganje, odstranjivanje lišća, čišćenje i pranje plodova, mljevenje, mijesenje maslinovog tijesta, odvajanje tekuće i krute faze te odvajanje ulja iz uljnog mošta.

1.4.1. Berba

Optimalnu količinu, a tako i kvalitetu djevičanskih maslinovih ulja moguće je dobiti samo od zdravih i optimalno zrelih plodova maslina. Danas je najčešća praksa odabira vremena berbe plodova maslina povezana s pigmentacijom ploda. Smatra se da je optimalno vrijeme berbe kada je 2/3 ploda zelene boje, a 1/3 crveno-crne. Plodovi ne bi trebali biti prezreli jer se zriobom povećava udio antocijana i triterpenskih alkohola, dok se smanjuje udio fenola i ostalih sastojaka koji ulju daju specifičan okus i aromu.⁶

Berba plodova maslina se može provoditi ručno ili strojno. Ručna berba je spora, a u svrhu ubrzanja ručne berbe koriste se razne alatke kao što su češljevi i nazubljene škare. Prednost ručne berbe je što su oštećenja plodova minimalna. Strojna berba vrši se pomoću posebnih strojeva, koji rade na principu vibracije tzv. tresaći. Strojna berba je brža, a nedostatak joj je veći udio oštećenih plodova.¹⁹

1.4.2. Transport plodova i skladištenje

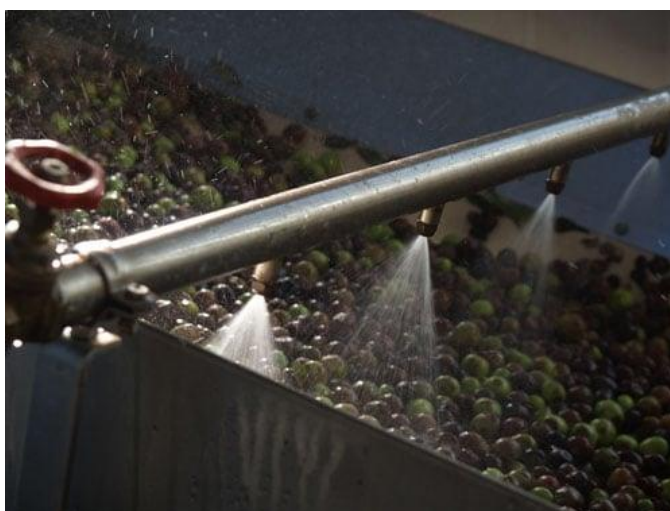
Transport plodova do uljare za preradu je poželjno odraditi što prije, po mogućnosti isti dan, kako ne bi došlo do kvarenja. Za transport plodova do uljare najprikladniji su plastični sanduci s rupičastim stjenkama koji omogućuju cirkulaciju zraka (slika 6). Transport u jutanim i PVC vrećama treba izbjegavati jer uzrokuju oštećenje i zagrijavanje ploda zbog čega dolazi do bioloških procesa razgradnje ulja.¹⁹ Skladištenje plodova je opcija ukoliko plodove nije moguće preraditi isti dan. U tom slučaju potrebno je izbjegavati slaganje u hrpe te ih adekvatno skladištiti u tamne i prozračne prostore, pri temperaturi 5-8 °C.²⁰



Slika 6. Skladištenje plodova u perforirane sanduke²¹

1.4.3. Čišćenje i pranje plodova

Po dolasku u uljaru, plodovi se moraju podvrći čišćenju kako bi se uklonili prašina, grančice, lišće i druge nečistoće. Defolijacija (izlaganje struji zraka) je odstranjivanje lišća, no ipak se tolerira manji broj zdravih listova u preradi koji ne utječu na kakvoću i daju gorčinu, koja je pozitivno organoleptičko obilježje (klorofil iz lišća u tami je dobar antioksidans, a fenolni spoj verbaskozid utječe na miris i gorčinu). Nakon toga se plodovi podvrgavaju pranju i tuširanju pitkom hladnom vodom u cilju uklanjanja ostataka zemlje, pijeska i drugih nečistoća (slika 7). Pranje se vrši kako bi se uklonili ostatci blata, a tuširanje kako bi se sigurno uklonili svi ostatci zemlje s plodova iza pranja.



Slika 7. Pranje i tuširanje plodova masline²²

1.4.4. Mljevenje

Cilj postupka mljevenja je drobljenje i usitnjavanje plodova maslina pri čemu se dobije homogena masa tj. maslinovo tijesto, sastavljeno od komine, vode i ulja.²

Mljevenjem dolazi do razbijanja stanične stjenke pulpe ploda te se kapljice ulja iz vakuola oslobađaju i spajaju u veće kapi. Način izvedbe i duljina trajanja postupka mljevenja direktno utječu na kvalitetu maslinovog ulja.

Za mljevenje se mogu koristiti kameni i metalni mlinovi. Korištenje kamenog (granitnog) mlina je vezano uz tradicionalni postupak prerade i danas je jako malo zastupljeno. Kamenim mlinom se učinkovito razbijaju stanice ploda, oslobađa ulje, ne dolazi do stvaranje emulzije i zagrijavanja te se dobiva tijesto kojem su sačuvana sva prirodna svojstva. Nedostatak kamenog mlina je visoka cijena, zauzima dosta prostora, osigurava spor i diskontinuiran rad te zahtjevno pranje i održavanje.²

Danas su u modernim uljarama kontinuiranog načina rada uglavnom zastupljeni metalni mlinovi raznih izvedbi (mlin čekićar, metalni mlin s diskovima, zupčasti i dr.). Ovakvi mlinovi imaju visoki radni kapacitet, omogućuju neprekidan i automatiziran rad, zauzimaju manje prostora i jeftiniji su. Često se korištenjem ovakvih mlinova, ne osigurava zadovoljavajuće razbijanje stanica što rezultira zagrijavanjem maslinovog tijesta i mogućom pojavom emulzija.²

1.4.5. Mijesenje tijesta (malaksacija)

Tijesto dobiveno mljevenjem ide u proces neprekidnog i sporog mijesenja (slika 8). Cilj je okrupniti kapljice ulja kako bi se u kasnijoj fazi lakše odvojio kruti od tekućeg dijela maslinovog tijesta. Mijesenje tijesta provodi se u horizontalnim miješalicama, pri temperaturi od 28 °C i u vremenu do 60 minuta. Tijekom ove operacije dolazi do kidanja staničnih stjenki, pri čemu se ulje oslobađa iz citoplazme, što je važan učinak za razdvajanje tijesta na kruti i tekući dio. Također, dolazi do okrupnjivanja dispergiranih kapljica ulja, što bitno utječe na razdvajanje tekućeg dijela na vodu i ulje. U cilju dobivanja najveće količine i kvalitete ulja danas se u pojedinim uljarama mijesenje provodi u struji inertnog plina, primjerice dušika.² Ovisno o temperaturi i vremenu mijesenja dolazi do niza enzimatskih reakcija koje uzrokuju promjene u senzorskim svojstvima te prehrambenoj vrijednosti ulja. Kraće mijesenje pri nižim temperaturama (oko 25 °C) u inertnoj atmosferi, pogoduje aktivnosti endogenih enzima iz

lipoksigenaznog biosintetskog puta pri čemu nastaju poželjne mirisne tvari te se usporava njihova degradacija.⁹

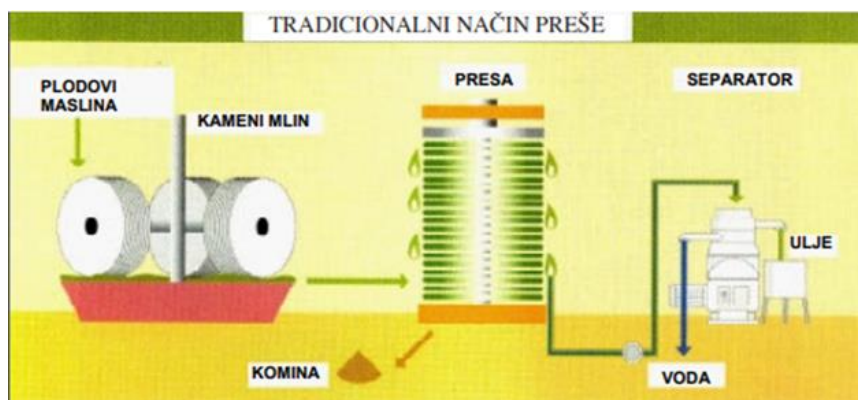


Slika 8. Mijesenje maslinovog tijesta²²

1.4.6. Odvajanje krute i tekuće faze

Odvajanje krute i tekuće faze može se vršiti na tri načina: prešanjem, centrifugiranjem, perkolacijom te kombinacijom perkolacije s ostalim postupcima.

Prešanje (slika 9) je tradicionalna diskontinuirana metoda odvajanja uljnog mošta od komine (pogače), a može biti jednostupno ili dvostupno. Maslinovo tijesto stavlja se na filtrirajuće slojnice, športe (plitke vreće) ili dijafragme (ravne plohe). Na kolica se slažu slojnice tako da se između svake 2-3 slojnice doda metalni disk radi stabilnosti stupa prese. Napunjena kolica se postavljaju na hidrauličku presu, a prešanje se odvija primjenom hidrauličkog pritiska od 400 atmosfera. Postupkom prešanja se dobiva komina i uljni mošt (ulje i voda), koji ide u vertikalni centrifugalni separator kako bi se razdvojile tekuće faze, odnosno odvojilo ulje od vode. Komina nakon prešanja sadrži još ulja pa može ići na ponovno prešanje ili ekstrakciju otapalima. Nedostatak metode je produženo vrijeme prerade (1-1,5 h), diskontinuirani rad, teško održavanje čistoće dijafragmi...²



Slika 9. Prerada maslina u ulje prešanjem²³

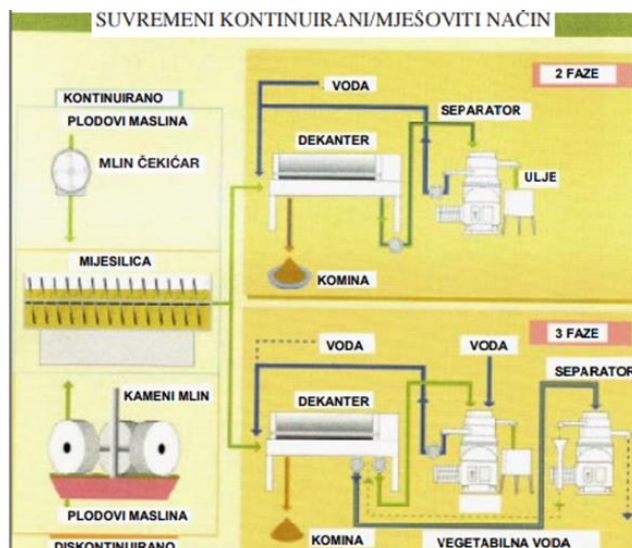
Centrifugiranje (slika 10) je noviji i kontinuirani način razdvajanja tekućeg od čvrstog dijela tijesta, koji se odvija u horizontalnom centrifugalnom separatoru (dekanter) pomoću centrifugalne sile. Princip rada temelji se na razlici specifičnih težina ulja, komine i vode. Najteži sastojak ostaje na vanjskom dijelu, dok se lakši zadržavaju u unutrašnjosti centrifuge.²

Ovisno o broju separativnih faza, centrifugalni način prerade može biti 3-fazni, 2-fazni i 2,5-fazni.²³

Pri trofaznoj centrifugalnoj ekstrakciji, u pripremljeno maslinovo tijesto se dodaje voda te pumpom dovodi u dekanter. Iz tijesta se izdvajaju tri frakcije: ulje s vodom, voda s uljem te komina. Obje tekuće frakcije odlaze na centrifugalni separator kako bi se odvojilo ulje od vegetabilne vode. Dodatkom vode u maslinovo tijesto gube se fenolni spojevi iz ulja, dobiva se ulje manje gorčine, lošije kvalitete i veće su količine otpadne vode koju je potrebno zbrinuti.²

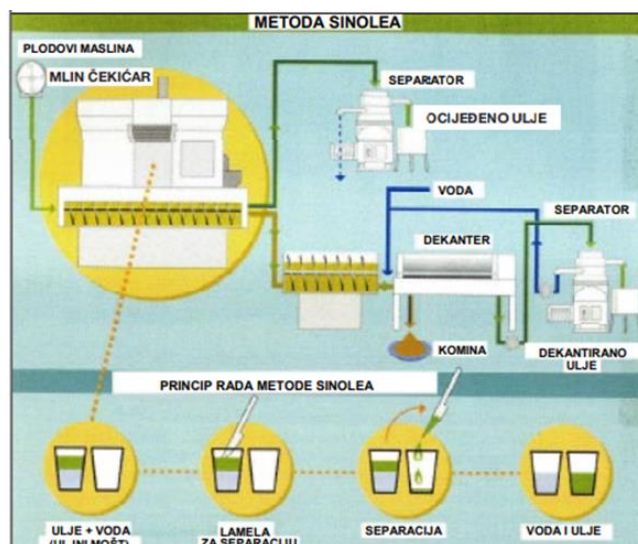
Kod dvofaznog sustava centrifugalne ekstrakcije izdvajaju se dvije frakcije: komina s vodom te ulje s vodom (odlazi dalje na centrifugalni separator). Budući da nema dodavanja vode u maslinovo tijesto, dobivaju se ulja s više fenolnih spojeva, a ujedno nastaje manja količina otpadne vode.

Ukoliko se pri radu u tri faze doda znatno manja količina tople vode, govori se od "dva i pol" faznom postupku.²



Slika 10. Prerada maslina u ulje centrifugalnim načinom (dvofazna i trofazna)²³

Perkolacija (slika 11) je postupak koji se temelji na razlici površinske napetosti vode i ulja. Postupak se još naziva Sinolea postupak jer se ulje iz tijesta izdvaja pomoću metalnih lamela. Perkolacijom se dobije uljni mošt te vlažna i uljasta komina. Ovim postupkom se u pravilu može izdvojiti oko 65 % ulja iz maslinovog tijesta. Zato je potrebno koristiti i druge načine ekstrakcije poput centrifugiranja ili prešanja.⁹



Slika 11. Prerada maslina u ulje perkolacijom (metoda Sinolea)²³

1.4.7. Odvajanje ulja od vegetabilne vode

Uljni mošt je smjesa ulja i vegetabilne vode, predstavlja smjesu dviju tekućina koje se ne miješaju i imaju različite gustoće.²³ Njihovo odvajanje može se obaviti prirodnim taloženjem te dekantiranjem ili pomoću centrifugalnog separatora. Taloženje je sporo i ulje je duže vrijeme u dodiru s vodom te vrlo lako može doći do kvarenja. Odvajanje pomoću centrifugalnog separatora je brz postupak, koji zahtjeva određenu radnu snagu i lako otklanja nečistoće. Vertikalne centrifuge izgrađene su od konusnih diskova postavljenih jedan pored drugoga. Uslijed djelovanja centrifugalne sile ulje, koje ima manju gustoću od vode, ostaje u unutrašnjem dijelu centrifuge, dok voda ide na vanjski dio.¹⁹

1.4.8. Dorada i skladištenje djevičanskog maslinovog ulja

Tijekom čuvanja djevičanska maslinova ulja gube na kvaliteti, što se očituje gubitkom prirodnih antioksidansa, poželjnih mirisnih tvari te pojavom kvarenja. Ovi procesi se ne mogu zaustaviti, već se mogu usporiti pravilnom doradom i skladištenjem.¹⁹

Nakon prerade ulje nije potpuno čisto i sadrži sastojke koji pospješuju hidrolitičke promjene u sastavu ulja, primjerice povećanje udjela slobodnih masnih kiselina. Mutnoću izazivaju čestice biljnih tkiva kao i kapljice vode emulgirane u ulju u kojima su otopljeni šećeri, bjelančevine, fenolne tvari i dr. Uklanjanje nečistoća provodi se postupkom bistrenja, odnosno taloženjem i filtriranjem. Kod taloženja, tvari koje uzrokuju mutnoću imaju veću gustoću od ulja te se one talože na dnu spremnika. Nakon toga slijedi odvajanje taloga postupkom pretakanja, koje ima za cilj izbjeći pojavu neželjenih mirisa i okusa. Pretakanjem, ulje je u kontaktu s kisikom i svjetlom, pa se preporuča pretakanje pomoću pumpi uz uporabu inertnog plina dušika. Budući da proces taloženja dugo traje, za brže uklanjanje nečistoća koristi se postupak filtracije korištenjem filterskih sredstava (dijatomejska zemlja, celulozni filteri). Iako mutnoća i talog nisu presudni za kvalitetu ulja, mišljenja stručnjaka o filtriranju ulja su podijeljena. Dok jedni smatraju da filtracija poboljšava stabilnost ulja, drugi smatraju da je narušava. Kod nefiltriranih ulja se tijekom čuvanja hidroliza triacilglicerola i sekoiridoidnih aglikona odvija brže, a filtriranjem je potaknut proces oksidacije spomenutih tvari.¹⁹

Skladištenje i čuvanje ulja treba provesti na odgovarajući način kako bi se što dulje održala kvaliteta ulja. Skladištenjem maslinovog ulja gube se poželjni produkti

lipokisgenaznog puta (C-6 aldehidi, alkoholi, esteri), a reakcijama kemijske oksidacije nastaju brojni nepoželjni spojevi koji su odgovorni za pojavu mana ili defekata.²

Najveći neprijatelji maslinovog ulja su temperatura, kisik (zrak), svjetlost te strani mirisi. Nakon prerade, maslinovo ulje potrebno je skladištiti u tamnim prostorijama, koje nemaju nagle promjene temperature, već se temperatura kreće od 15 do 18 °C. Karakteristična zelena boja maslinovog ulja potječe od klorofila, koji u tami ima ulogu antioksidansa, dok u prisustvu svjetla pospješuje oksidacijske reakcije. Povećana količina vlage i plijesni u prostoriji dovodi do kvarenja ulja. Prostorija u kojoj se ulje čuva trebala bi biti bez intenzivnih mirisa, budući da ulje dobro upija mirise.²⁴ Povećanjem temperature dolazi do ubrzavanja procesa oksidacije, a posljedica je brže starenje ulja. Pri temperaturama nižim od 4 °C dolazi do smrzavanja i gubitka aromatičnih sastojaka, koji su nositelji "voćne" arome. Pri nižim temperaturama može doći do kristalizacije maslinovog ulja, koja se očituje stvaranjem bijelih grudica. Osim što se skrućivanjem zaustavlja taloženje, ulje u krutom stanju postaje porozno pa je olakšano prodiranje kisika.⁹

Kisik se u nadprostoru ulja može ukloniti na način da se istisne zrak i da se nadomjesti inertnim plinom primjerice dušikom. Kod većih spremnika praksa je korištenje boca s dušikom, dok se kod punjenja u boce koriste automatske punilice, kod kojih se boce prije punjenja ispunje dušikom. Za čuvanje manjih količina ulja prikladne su tamne staklene boce s minimalnim praznim prostorom iznad ulja, kako bi se spriječio utjecaj kisika te usporila oksidacija i degradacija poželjnih mirisnih tvari.⁹

Veće količine ulja čuvaju se u spremnicima koji štite ulje od svjetlosti i pristupa zraka, otporni su na mehanička oštećenja i koroziju, lako perivi, inertni u odnosu na ulje bez da ispuštaju pojedine sastojke u njega te zadržavaju konstantu temperaturu. Najčešće korišteni spremnici su od nehrđajućeg čelika (inox), lima, stakla i plastike. Plastični spremnici ne pružaju dovoljnu zaštitu od kisika jer nisu potpuno hermetični te plastika može apsorbirati tvari iz ulja.⁹

Nekada se ulje čuvalo u kamenicama, no danas to nije praksa, zbog nemogućnosti hermetičkog zatvaranja pri čemu je ulje u konstantnom kontaktu s kisikom te njihovo teško pranje i održavanje. Za razliku od vina, maslinovo ulje starenjem ne dobiva na kvaliteti i preporuča ga se potrošiti u roku od dvije godine.

Nakon bistrenja i ispravnog skladištenja, slijedi kemijska i senzorska analiza. Na temelju rezultata analiza, ulje se kategorizira u odgovarajuću kategoriju kvalitete.

1.5. Maslinovo ulje

Prirodno maslinovo ulje izlučuje se iz ploda masline, a osnovni preduvjet za dobivanje ulja visoke kvalitete jest kvalitetna sirovina. Ulje se u plodu masline stvara procesom lipogeneze, koji traje od formiranja ploda pa do najvećeg sadržaja ulja u plodu.²⁵

Razne studije potvrdile su njegove visoke biološke vrijednosti te pozitivan utjecaj na zdravlje. Maslinovo ulje je lako probavljivo, a najveća značajka je blagotvoran utjecaj na krvožilni sustav. Koristi se u prevenciji tumorskih i drugih oboljenja. Osim što se maslinovo ulje smatra lijekom i "funkcionalnom hranom", njegova primjena pomiče granice te se zbog ljekovitih svojstava koristi i u kozmetičke svrhe.

1.5.1. Kemijski sastav maslinovog ulja

Brojni su čimbenici koji utječu na kemijski sastav maslinovog ulja. Među najznačajnijima ističu se: područje uzgoja, sorta, agrotehničke mjere, vrijeme i način berbe, način prerade plodova te uvjeti skladištenja.²⁶

Maslinovo ulje pripada skupini spojeva koji se nazivaju lipidi. Spada u jednostavne lipide jer je najvećim dijelom sastavljeno od estera masnih kiselina i alkohola glicerola.

Maslinovo ulje sadrži dvije frakcije: osapunjivi ili uljni dio (99 %) i neosapunjivi ili neuljni dio (1 %). Iako su prateći spojevi prisutni u prilično malom udjelu, oni imaju veliku ulogu u definiranju senzorskog profila ulja te imaju osobitu biološko-prehrambenu vrijednosti.²⁷

1.5.1.1. Osapunjivi dio maslinovog ulja

Masne kiseline su zastupljene sa 95 % u trigliceridima maslinovog ulja. U tablici 3 su prikazane zasićene i nezasićene masne kiseline prisutne u maslinovom ulje te njihov udio. Najzastupljenija zasićena masna kiselina je palmitinska, a najzastupljenija jednostruko nezasićena masna kiselina je oleinska. Linolna i linolenska su višestruko nezasićene esencijalne masne kiseline.

S obzirom na sastav masnih kiselina, maslinova ulja se mogu klasificirati u dvije kategorije:

- ulja s malim udjelom linolne i palmitinske, a velikim udjelom oleinske masne kiseline (grčka, talijanska, španjolska, hrvatska ulja)

- ulja s velikim udjelom linolne i palmitinske, a malim udjelom oleinske masne kiseline (tuniska ulja).²

Maslinovo ulje ima umjerenu količinu zasićenih masnih kiselina, visok udio oleinske kiseline te optimalan udio višestruko nezasićenih masnih kiselina.²

Tablica 3. Udio zasićenih i nezasićenih masnih kiselina u maslinovom ulju²

Zasićene masne kiseline	Udio (%)	Nezasićene masne kiselina	Udio (%)
laurinska (C12:0)	nije definirano	oleinska (C8:1)	55,0–83,0
miristinska (C14:0)	< 0,05	palmitoleinska (C16:1)	0,3–3,5
palmitinska (C16:0)	7,5-20,0	heptadecenska (C17:1)	≤ 0,3
heptadekanska (C17:0)	≤ 0,3	gadoleinska (C20:1)	≤ 0,4
stearinska (C18:0)	0,5 – 5,0	linolna (C18:2)	3,5–21,0
arahinska (C20:0)	≤ 0,6	linolenska (C18:3)	≤ 0,9
behenska (C22:0)	≤ 0,2		
lignocerinska (C24:0)	≤ 0,2		

Triacilgliceroli ili trigliceridi su esteri masnih kiselina i trovalentnog alkohola glicerola. Triacilgliceroli mogu biti jednostavni (sve tri masne kiseline u molekuli triglicerola su jednake) ili mješoviti (masne kiseline u molekuli triglicerola su različite).¹⁹

Naziv triacilglicerola ovisi o vrsti i rasporedu masnih kiselina na glicerolu. Prvo se navodi masna kiselina koja se nalazi na položaju 2 molekule glicerola, druga na položaju 1 te treća na položaju 3. Položaj masnih kiselina u molekuli triacilglicerola je prirodno uvjetovan, a na atom ugljika na poziciji 2 glicerola uglavnom se vežu nezasićene masne kiseline.² Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u sastavu triacilglicerola najviše je uvjetovana sortom. Ukoliko dođe do nepotpune biosinteze ili hidrolize ulja nastaju monoacilgliceroli i diacilgliceroli, čija prisutnost upućuje na ulje slabije kakvoće.¹

1.5.1.2. Neosapunjivi dio maslinovog ulja

Ugljikovodici čine 50-60 % u ukupnom sadržaju neosapunjivog dijela maslinovog ulja. Udio ugljikovodika je veći u nezrelim plodovima. Najzastupljeniji ugljikovodik je skvalen, čiji udio u ulju ovisi o sorti, načinu prerade i skladištenju, a prethodnik je u biosintezi raznih sterola i steroidnih hormona.²

Steroli ili steroidni alkoholi nastaju u procesu biosinteze od skvalena. Udio i sastav sterola ovisi o nizu čimbenika i specifičan je za svaku vrstu ulja. Najvažniji sterol je β -sitosterol, koji je prirodni antioksidans te inhibitor kvarenja ulja. Istraživanjima je dokazano da je udio sterola manji u rafiniranim uljima za razliku od djevičanskih maslinovih ulja. Kao indikator čistoće ulja uzima se udio ukupnih sterola kao i sastav sterola.

Tokoferoli su visokomolekularni ciklički alkoholi. Četiri su tipa tokoferola (α , β , γ i δ), od kojih je u biološkom i antioksidacijom pogledu najvažniji α -tokoferol. Dozrijevanjem ploda udio tokoferola se smanjuje. Ulja dobivena tradicionalnim postupkom prešanja bogatija su tokoferolima.²

Fosfolipidi mogu biti slobodni ili vezani s drugim spojevima, prvenstveno proteinima. U maslinovom ulju nalaze se u malim količinama, zastupljeni su u mladim uljima te im se pripisuje antioksidativno djelovanje.²

U maslinovim uljima prisutni su klorofilni i karotenoidni pigmenti koji su važni za boju ulja. Klorofil prevladava u nezrelim plodovima te se zrenjem njegova količina smanjuje. Klorofilni pigmenti u maslinovom ulju su klorofil a i b te feofitin a i b. Od karotenoidnih pigmenata najvažniji su β -karoten, likopen i lutein.¹⁹

Voskovi su esteri viših masnih kiselina i viših alifatskih alkohola, na temelju čijeg se udjela mogu razlikovati ulja dobivena mehaničkim postupcima od ulja dobivenih postupcima ekstrakcije organskim otapalima.²

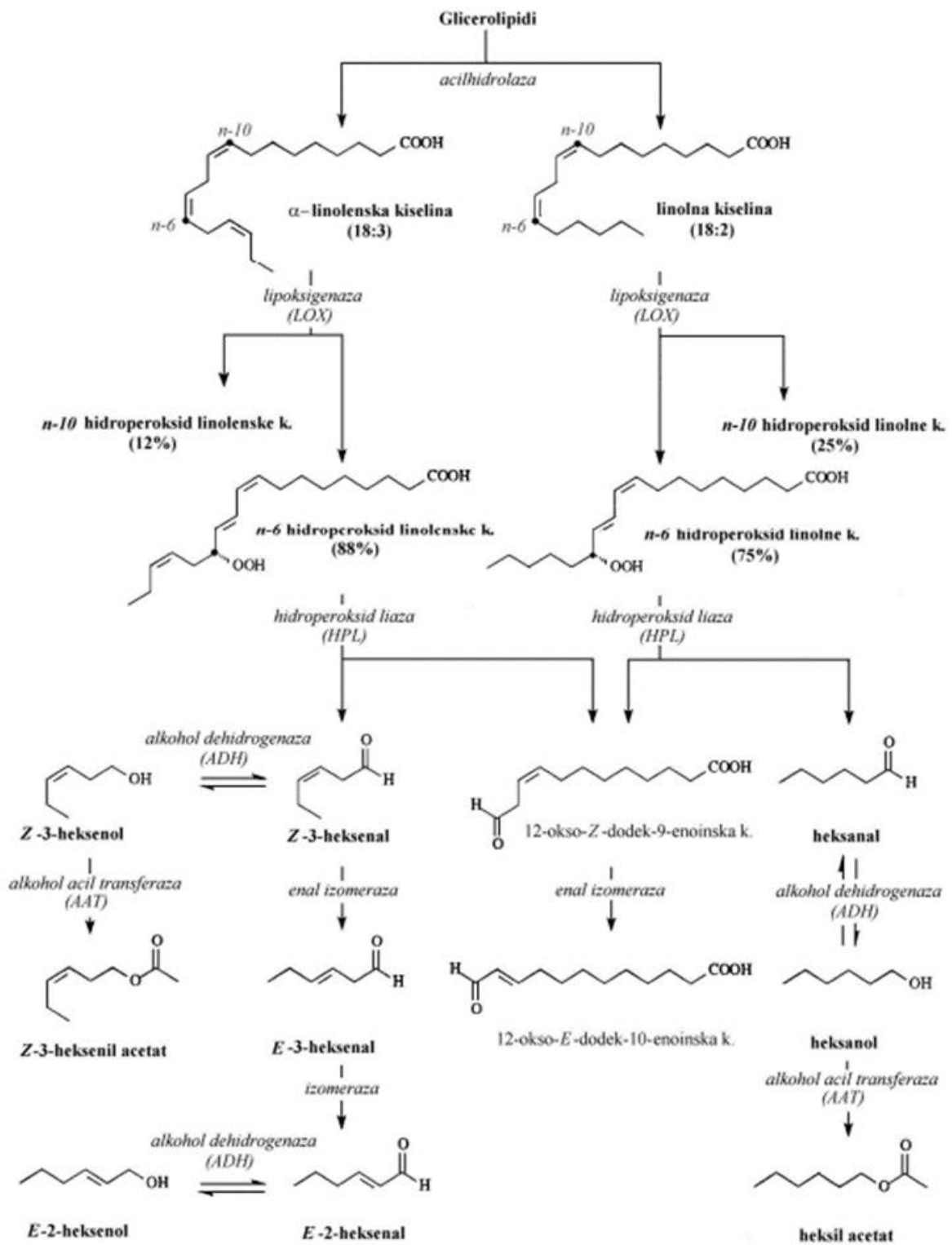
Fenoli su fitokemikalije, odnosno produkti sekundarnog metabolizma biljaka. Imaju antioksidacijsko djelovanje te utječu na senzorska svojstva ulja, dajući im gorčinu i pikantnost. Maslinovo ulje sadrži promjenjive količine fenolnih spojeva. U ekstra djevičanskim maslinovim uljima fenolni spojevi su prisutni u relativno visokim udjelima dok se pri proizvodnji rafiniranih ulja njihov udio znatno smanjuje. Najznačajniji fenolni spoj u plodu masline, koji doprinosi izrazito gorkom okusu, je oleuropein čiji se udio smanjuje zrenjem ploda. Među fenolnim spojevima važno je spomenuti oleokantal, odgovoran za karakterističnu pikantnost i gorčinu ulja kojemu se pripisuje izraženo protuupalno djelovanje. Ostali fenolni sastojci u djevičanskim maslinovim uljima su fenolne kiseline (kavena, vanilinska), fenolni alkoholi, flavonoidi, sekoiridoidi i lignani.² Triterpenski alkoholi prisutni u prirodnom maslinovom uju mogu biti slobodni ili u obliku estera. Neosapunjiva frakcija djevičanskog maslinovog ulja sadrži dva triterpenska diola: eritrodiol i uvaol, čiji je udio u ulju sortno obilježje.²

Alifatski alkoholi mogu biti slobodni ili esterificirani. Tijekom dozrijevanja ploda udio alifatskih alkohola se smanjuje, a povećava se kada je sadržaj ulja u plodu najveći. Ulja

ekstrahirana mehaničkim (fizičkim) putem sadrže manje količine alifatskih alkohola u odnosu na ulja dobivena ekstrakcijom organskim otapalima tako da se na temelju njihovog sadržaja može pratiti čistoća ulja.

Hlapljivi spojevi su odgovorni za posebnu i karakterističnu aromu maslinovog ulja. Iako je poznat i istražen veliki broj aromatičnih spojeva, nisu svi jednako važni za doprinos ukupnom doživljaju i senzorskim karakteristikama maslinovog ulja. Hlapljivi spojevi svrstani su u sljedeće kemijske skupine: alifatski i aromatski ugljikovodici, alifatski i triterpenski alkoholi, zasićeni aldehidi s brojem C atoma od 6 do 12, ketoni, esteri, furani, derivati tiofena.² Na sastav hlapljivih spojeva ulja utječe niz čimbenika, a najvažniji je sorta, koja uvjetuje aktivnost enzima. Opće je prihvaćeno da hlapljive tvari s poželjnim mirisnim svojstvima ovise o aktivnosti endogenih enzima uključenih u put lipoksigenaze (slika 12).²⁸

Neposredno nakon mljevenja ploda masline, enzim acilhidrolaza iz glicerofosfolipida u staničnim membranama oslobađa nezasićene masne kiseline (linolnu i linolensku). Enzim lipoksigenaza oksidira masne kiseline, a enzim hidroperoksid liaza cijepa lanac oksidirane masne kiseline do C6 aldehida (heksanal, (*Z*)-heks-3-enal i (*E*)-heks-2-enal). Aldehidi se alkohol dehidrogenazom reduciraju do C6 alkohola (heksan, (*Z*)-heks-3-enol i (*E*)-heks-2-enol), koji se uz pomoć enzima aciltransferaze esterificiraju do C6 estera (heksil-acetat i (*Z*)-heks-3-enil-acetat).²



Slika 12. Lipoksigenazni put nastanka hlapljivih tvari s poželjnim mirisnim svojstvima²

Razumijevanje reakcija u kojima mirisne tvari nastaju ili se razgrađuju, uvelike doprinosi razvoju metode senzorske analize, koja je ključna za tržišnu kvalifikaciju djevičanskih maslinovih ulja. Alkoholi se povezuju s obilježjima voćno, zeleno i aromatično, ketoni s voćno, pikantno i eterično, dok se esteri povezuju s voćnim obilježjem.²

Pozitivna osjetilna svojstva djevičanskih maslinovih ulja su voćno, gorko i pikantno. U tablici 4 su istaknuti hlapljivi sastojci te njihova mirisna svojstva.

Tablica 4. Pozitivna osjetilna svojstva maslinovog ulja⁹

VOĆNO		GORKO		PIKANTNO	
Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo	Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo	Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo
(<i>E</i>)-heks-2-eanal	gorki badem, zelenilo	3-metilbutil acetat	zelenilo	pent-1-en-3-on	gorušica, prodoran
(<i>Z</i>)-heks-3-enal	zelenilo, slatkast	2-metilpent-4-enal	zelenilo, voćno	6-metilhept-5-en-2-on	po ulju, prodoran
(<i>Z</i>)-heks-3-en-1-ol	zelenilo	(<i>E</i>)-heks-2-enal	gorki badem, zelenilo		
(<i>Z</i>)-heks-3-enil-acetat	zelenilo, zelena banana	pent-1-en-3-on	gorušica, prodoran		
(<i>Z</i>)-pent-2-en-1-ol	zelenilo, višnja				

Metabolizmom masnih kiselina također nastaju kiseline, alkoholi, esteri i ketoni, dok metabolizam aminokiselina ima manji značaj.

Kemijskom oksidacijom i djelovanjem egzogenih enzima mikroorganizama nastaju hlapljivi spojevi koji uzrokuju mane ili defekte ulja. Defekti kao što su octikavo, pljesnivo/vlažno, upaljeno najčešće nastaju uslijed neadekvatnog čuvanja ploda prije te tokom prerade. Neprikladnim skladištenjem djevičanskih maslinovih ulja dolazi do defekta užeglo. U tablici 5 su prikazani najznačajniji hlapljivi spojevi koji su nosioci pojedinog negativnog svojstva maslinovog ulja te njihova mirisna svojstva.²

Tablica 5. Negativna osjetilna svojstva maslinovog ulja⁹

PLJESNIVO/VLAŽNO		OCTIKAVO		UPALJENO		UŽEGLO	
Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo	Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo	Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo	Hlapljiva tvar	Mirisno svojstvo
(E)-hept-2-enal	opor, sapunast	octena kiselina	kiseo, miris po octu	etil-butanoat	sladak, voćan	heksanal	zelen, snažan
okt-1-en-3-on	pljesniv, opor	3-metilbutanol	po vinu	butil-acetat	zelen, voćan, opor	nonanal	mastan, voskast, opor
okt-1-en-3-ol	pljesniv, zemljan	etil-acetat	po ljepilu, sladak	etil-propanoat	voćan, snažan	oktanal	mastan, snažan
heksanal	zelena jabuka, trava	propionska kiselina	opor, kiseo	propil-butanoat	na ananas	pentanal	na drvo, gorak, uljast
		butanska kiselina	upaljen, sirast	2-metilpropil-butanoat	na vino, upaljeno	heptanal	uljast, mastan, na drvo
		pentanska kiselina	neugodan, opor	propanska kiselina	opor, kiseo	butanska kiselina	užegnut
		heksanska kiselina	opor, užegnut	butanska kiselina	upaljen, sirast	heksanska kiselina	užegnut, opor
		heptanska kiselina	upaljen, mastan	octena kiselina	kiseo, octen	octena kiselina	opor, kiseo
				pentanska kiselina	gnjio, opor		
				heptanska kiselina	upaljen, mastan		

1.6. Kvaliteta maslinovog ulja

Za razliku od ostalih masti i ulja, koji se koriste u ljudskoj prehrani, maslinovo ulje postiže znatno veće cijene na tržištu zbog čega je često predmet patvorenja. Radi toga se danas koriste brojne analitičke metode za kontrolu kvalitete i autentičnosti ulja. U većini slučajeva, propisi na svjetskoj razini i granične vrijednosti su usklađeni. Najznačajniji propisi su Codex Alimentarius, direktive i norme Europske Unije te propisi Međunarodnog vijeća za maslinovo ulje (IOOC).

1.6.1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu maslinovog ulja

Na kvalitetu maslinovog ulja utječu prirodni i ljudski čimbenici. Prirodni čimbenici su klima, tlo i sorta. Sorta ima značajan utjecaj na kvalitetu maslinovog ulja te genetski uvjetuju količinu fenolnih spojeva. Klima i toplija područja utječu na dinamiku dozrijevanja plodova, dok hladnija područja na višim nadmorskim visinama daju ulja s većim udjelom nezasićenih masnih kiselina. Maslina preferira pjeskovita i ilovasta tla. Ljudski čimbenici su agrotehnički zahvati (gnojenje, rezidba, navodnjavanje, zaštita, berba, čuvanje ploda), prerada te čuvanje ulja. Pravilna agrotehnika, optimalno vrijeme berbe, prerada plodova te pravilno čuvanje ulja, su preduvjeti dobivanja visokokvalitetnih djevičanskih maslinovih ulja s izraženim pozitivnim senzorskim obilježjima. Na ovaj način izbjegava se pojava senzorskih mana, usporava proces kvarenja te održava nutricionistički profil maslinovih ulja.

1.6.2. Parametri kvalitete

Prema Uredbi komisije (EEZ) br. 2568/91 o karakteristikama maslinovog ulja i ulja komine maslina te o odgovarajućim metodama analize, osnovni pokazatelji kvalitete maslinovog ulja su udio slobodnih masnih kiselina (SMK), peroksidni broj (PB), K-vrijednost, sadržaj etil-estera te senzorska analiza.²⁹ Ovi pokazatelji predstavljaju hidrolitičke i oksidativne procese koji se zbivaju u maslinovom ulju od prerade te tijekom čuvanja. U ostale manje zastupljene metode analize kvalitete maslinovog ulja ubraja se određivanje udjela hlapljivih spojeva, udjela nečistoća netopivih u heksanu, udjela metala i sl.

Sukladno općim zahtjevima Uredbe, ulja se razvrstavaju u kategorije pod sljedećim nazivima: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje, maslinovo ulje lampante, rafinirano maslinovo ulje, maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja, sirovo ulje komine masline, rafinirano ulje komine maslina te ulje komine maslina. Na tržište se radi prodaje krajnjem potrošaču mogu stavljati samo ekstra djevičanska maslinova ulja, djevičanska maslinova ulja, maslinova ulja sastavljena od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja te ulja komine maslina. U tablici 6 su prikazane granične vrijednosti za svaku kategoriju ulja.²⁹

Tablica 6. Granične vrijednosti parametara kvalitete za svaku kategoriju maslinovog ulja²⁹

Kategorija	Kiselost (%)	Peroksidni broj (mEq O ₂ /kg)	K ₂₃₂ *	K ₂₆₈ ili K ₂₇₀ **	ΔK	Organoleptička svojstva		Etilni esteri masnih kiselina (mg/kg)
						Medijan mane (Mm)	Medijan voćnosti (Mv)	
1. Ekstra djevičansko maslinovo ulje	≤ 0,80	≤ 20,0	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Mm = 0,0	Mv > 0,0	≤ 35
2. Djevičansko maslinovo ulje	≤ 2,0	≤ 20,0	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Mm ≤ 3,5	Mv > 0,0	—
3. Maslinovo ulje lampante	> 2,0	—	—	—	—	Mm > 3,5 (1)	—	—
4. Rafinirano maslinovo ulje	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 1,25	≤ 0,16	—	—	—
5. Maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranog maslinova ulja i djevičanskih maslinovih ulja	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,15	≤ 0,15	—	—	—
6. Sirovo ulje komine maslina	—	—	—	—	—	—	—	—
7. Rafinirano ulje komine maslina	≤ 0,30	≤ 5,0	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—	—
8. Ulje komine maslina	≤ 1,00	≤ 15,0	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—	—

(1) Medijan mane može biti 3,5 ili manji ako je medijan voćnosti jednak 0,0.

* Apsorbancija prvog stupnja

**Apsorbancija drugog stupnja

1.6.3. Kvarenje maslinovog ulja

Tijekom skladištenja u maslinovom ulju događaju se razne nepovratne promjene koje utječu na njegovu kvalitetu, a njihova vrsta i stupanj znatno ovise o uvjetima čuvanja. Hidrolitičke promjene (lipoliza) događaju se već u samom plodu masline. Uz prisustvo vode i enzima lipaza dolazi do hidrolize gliceridnog dijela pri čemu se oslobađaju masne kiseline. Čimbenici koji pospješuju hidrolitičke promjene su vlaga, temperatura, enzimi te mikroorganizmi. Ukoliko je hidroliza uzrokovana enzimima koji potječu od mikroorganizama riječ je o mikrobiološkoj hidrolizi. Ako je hidroliza uzrokovana prirodnim enzimima, odnosno enzimima koji se nalaze u plodu masline, govori se o

enzimskoj hidrolizi. Enzimaska hidroliza izraženija je kod tamnijih, nagnječenih te oštećenih plodova.³⁰

Oksidacijske promjene (oksidacija) odvijaju se nakon prerade i tijekom skladištenja, kada je maslinovo ulje u kontaktu s kisikom. Oksidacija se odvija na nezasićenim masnim kiselinama, a karakterizira je neugodan miris i promjena prehrambene vrijednosti ulja. Na ubrzanje oksidacijskih promjena utječu više temperature, svjetlost, ionizirajuće zračenje te metali (bakar, željezo). Antioksidansi poput raznih fenolnih spojeva (npr. oleuropein), tokoferola (vitamin E) te sterola, usporavaju oksidaciju.

Zbog niskog sadržaja višestruko nezasićenih masnih kiselina te bogatstva antioksidativnih tvari, maslinovo ulje nije podložno autooksidaciji. S druge strane vrlo je osjetljivo na fotooksidaciju, koja se odvija pod utjecajem svjetla pri čemu dolazi do raspada klorofila. Dokazano je da maslinovo ulje u mraku sporije oksidira od onoga izloženog dnevnom svjetlu, a još sporije od onoga izloženog izravnoj sunčevoj svjetlosti.²⁷

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Materijali

Ispitivanja u ovom radu provedena su na ekstra djevičanskim maslinovim uljima dobivenim iz plodova maslina u ekološkom sustavu uzgoja u mjestu Šestanovac proizvođača „Jurin dvor“ (slika 13). U masliniku se pored *Oblice*, koja je najzastupljenija, nalaze još i sljedeće sorte: *Leccino*, *Pendolino*, *Drobnica* i *Ascolana tenera*.



Slika 13. Ekološki maslinik "Jurin dvor"³¹

Plodovi maslina su brani ručno te prerađeni neposredno nakon branja – postupkom dvofazne centrifugalne ekstrakcije. Uzorci ulja (slika 14) koji su korišteni za eksperimentalni dio ovog rada su nakon prerade čuvani u bocama od tamnog stakla na suhom, tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Sva ispitivanja (fizikalno-kemijska i senzorska analiza te analiza sastava hlapljivih spojeva) su provedena u uljima nakon prerade te svako tri mjeseca u periodu od godine dana.



Slika 14. Uzorci maslinovog ulja (Izvor: autor)

2.2. Metode

U okviru ispitivanja temeljnih pokazatelja kvalitete maslinovih ulja provedena su sljedeća ispitivanja:

- Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina
- Određivanje peroksidnog broja
- Određivanje K-brojeva
- Senzorska analiza

Pored navedenih osnovnih pokazatelja kvalitete ulja u cilju detaljnijeg utvrđivanja utjecaja vremena skladištenja na kvalitetu i aromatični profil ulja provedena su i sljedeća ispitivanja:

- Određivanje ukupnih fenolnih spojeva
- Izolacija hlapljivih spojeva mikroekstrakcijom vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)
- Analiza hlapljivih spojeva spregnutom tehnikom plinska kromatografija – spektrometrija masa

2.2.1. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina

Slobodne masne kiseline (SMK) nastaju djelovanjem endogenog enzima lipaze, koji cijepa esterske veze između glicerola i masnih kiselina. Udio SMK izražava se kao % oleinske kiseline u maslinovom ulju te je tržišni pokazatelj hidrolitičkog kvarenja ulja.³² Ulja dobivena iz zdravih plodova maslina, prerađenih neposredno nakon berbe u pravilu imaju niske vrijednosti SMK. Veće vrijednosti ovog pokazatelja mogu se očekivati kod ulja dobivenih iz oštećenih plodova, koji su čuvani duže vrijeme prije prerade.⁹ Veće vrijednosti udjela SMK često se povezuju sa senzorskom manom upaljeno.³³ Za provedbu određivanja udjela SMK upotrebljava se 50 do 150 ml prethodno neutralizirane smjese, u omjeru 1:1 dietil-etera i etanola, u kojoj se otopi 20 g uzorka. Zatim slijedi titracija otopinom kalijevog hidroksida koncentracije 0,1 mol/L uz indikator fenoftalein sve do promjene u ružičastu boju (treba biti postojana najmanje 10 sekundi). Udio slobodnih masnih kiselina (kiselost), izražava se kao postotak oleinske kiseline prema sljedećem izrazu [1]:

$$SMK(\% \text{ oleinske kiseline}) = \frac{V * c * M}{10 * m} \quad [1]$$

gdje je :

V = volumen standardizirane otopine kalijevog hidroksida upotrijebljen pri titraciji (mL)

c = točna koncentracija standardizirane otopine kalijevog hidroksida (mol/L)

M = molarna masa kiselina kojom su izraženi rezultati (g/mol; oleinska = 282)

m = masa uzorka (g).

Rezultat je aritmetička sredina dva određivanja.²⁹

2.2.2. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidni broj je količina tvari u danom uzorku koje oksidiraju kalijev jodid, izražena u milimolima aktivnog kisika po kilogramu ulja (mmol O₂/kg) ili miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu ulja (mEq O₂/kg).³² Njime se iskazuje koncentracija hidroperoksida, koji nastaju vezivanjem kisika na dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina. Hidroperoksidi su nestabilne molekule koje se vrlo brzo razgrade u tvari manje molekulske mase (alkoholi, aldehidi, kiseline) pa dolazi do niza kemijskih i senzorskih

promjena.⁹ Preradom plodova pri višim temperaturama te uslijed nepravilnog skladištenja ulja u pravilu peroksidni broj raste. Defekt užeglo najčešće je povezan s porastom peroksidnog broja.³³

Za određivanje peroksidnog broja u Erlenmayerovu tikvicu od 250 mL odvaže se masa uzorka (2-5 g) maslinovog ulja s točnošću od 0,001 g. Odvagani uzorak maslinovog ulja otopi se u 10 mL kloroforma analitičke čistoće te se doda 15 mL ledene octene kiseline analitičke čistoće i 1 mL zasićene vodene otopine kalijevog jodida. Tikvica se začepi, miješa 1 minutu, a zatim ostavi točno 5 minuta u tami ($t = 15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$). Potom se doda 75 ml destilirane vode. Oslobođeni jod titrira se vodenom otopinom natrijevog tiosulfata koncentracije 0,01 mol/L, uz škrob kao indikator, sve do nestanka plave boje. Za svaki uzorak izvrše se najmanje dva određivanja, a paralelno se napravi i slijepa proba.²⁹ Peroksidni broj se može iskazati u milimolima aktivnog kisika po kilogramu [2] ili u miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu [3], a računa prema izrazima:

$$\text{Peroksidni broj (P) (mmol O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / 2m \quad [2]$$

$$\text{Peroksidni broj (P) (mekv O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / m \quad [3]$$

gdje je:

V = utrošak standardizirane otopine natrijevog tiosulfata korigiran rezultatom za slijepu probu (mL)

T = točna molarnost korištene otopine natrijevog tiosulfata (0,01);

m = masa analiziranog ulja (g).

2.2.3. Određivanje K-brojeva

Spektrometrijskim ispitivanjem u UV području, utvrđuju se vrijednosti K-brojeva, koji daju informacije o kvaliteti ulja, stanju očuvanosti, autentičnosti te eventualnom patvorenju.

Apsorbancija prvog stupnja oksidacije (K_{232}) mjeri se pri 232 nm, a uzrok je vezivanje kisika na dvostruku vezu pri čemu nastaju hidroperoksidi. Razgradnjom hidroperoksida nastaju konjugirani dieni. Apsorbancija drugog stupnja oksidacije (K_{270}) mjeri se pri valnoj duljini od 270 nm, a uzrok je prisustvo karbonilnih spojeva, koji nastaju pucanjem lanca karboksilne kiseline na mjestu vezivanja kisika. Pri toj valnoj duljini apsorbiraju se i konjugirani trieni, koji upućuju na miješanje maslinovog ulja s rafiniranim uljem.

ΔK je kriterij čiji porast identificira oksidaciju te patvorenje ulja s dodatkom rafiniranog ulja.²⁹ Uzorci ekstra djevičanskih maslinovih ulja trebaju biti homogeni i bez nečistoća. Uzorci su tekući te ih je potrebno filtrirati preko filter papira pri sobnoj temperaturi. Od tako filtriranog i pripremljenog uzorka, odvaži se 0,25 g u odmjerenu tikvicu od 25 mL i nadopuni do oznake otapalom (izooktan ili cikloheksan). Tako pripremljena otopina se dobro izmućka. Na poslijetku otopina treba biti iznimno čista i bez mutnoća (u suprotnom je treba filtrirati). Kvarcne kivete s duljinom prolazne zrake 1 cm se napune priređenom otopinom te se mjere ekstinkcije pri valnim duljinama od 232 nm do 270 nm u UV/VIS spektrofotometru. Očitane vrijednosti se trebaju nalaziti unutar intervala od 0,1 do 0,8. Koeficijent ekstinkcije pri različitim valnim duljinama računa se prema formuli [4] :

$$K\lambda = E\lambda / c \cdot s \quad [4]$$

gdje je:

$K\lambda$ = specifična ekstinkcija pri valnoj duljini λ ;

$E\lambda$ = izmjerena ekstinkcija pri valnoj duljini λ ;

c = koncentracija otopine u g/100 mL;

s = debljina kivete u cm.

Izračunavanje vrijednosti ΔK provodi se prema sljedećem izrazu [5]:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \quad [5]$$

K_m predstavlja specifičnu ekstinkciju pri valnoj duljini 270 nm na kojoj je zabilježena maksimalna apsorbancija.²⁹

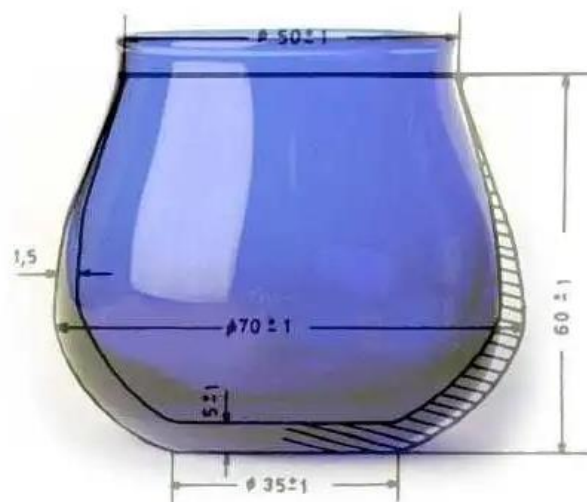
2.2.4. Senzorska analiza maslinovog ulja

Senzorska analiza djevičanskih maslinovih ulja u ovom radu provedena je od strane panela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije. Senzorska ili osjetilna analiza djevičanskog maslinovog ulja podrazumijeva analitičke postupke u kojima se za detekciju koriste ljudska osjetila, a analitički instrument predstavlja odabrana grupa obučanih ljudi (8-12), tj. panel. Senzorska analiza mora biti objektivna, točna i ponovljiva.

Laboratorijski prostori u kojima se provodi senzorska analiza moraju biti uređeni po međunarodnim normama, kako bi se vanjski utjecaji sveli na minimum. Za svakog ocjenjivača mora biti osigurana kabina ili ograđena površina da bi im bio omogućen mir i samostalan rad. Ulja su zagrijana na 28 °C (slika 15), a poslužuju se u čaši čije su dimenzije i oblik propisane normama (slika 16). Čaša je sužena u gornjem dijelu, radi koncentriranja mirisa i lakše detekcije. Izrađena je od tamnog stakla kako boja, koja nije tržišni pokazatelj kvalitete ulja, ne bi utjecala na odluku ocjenjivača.



Slika 15. Priprema uzorka za senzorsku analizu (Izvor: autor)



Slika 16. Čaša za senzorsku analizu djevičanskog maslinovog ulja³⁴

Tijekom senzorske analize djevičanskih maslinovih ulja koristi se specifičan standardizirani rječnik Međunarodnog vijeća za masline u kojem su opisani pojmovi

pozitivnih i negativnih osjetilnih svojstava (tablica 7).² Ocjenjivač miriše te potom kuša uzorak, a rezultate ocjenjivanja unosi u ocjenjivački listić (slika 17). Intenzitet pojedinog svojstva u ocjenjivačkom listu se rangira na nepodijeljenoj skali od 10 cm. Dobiveni podatci se statistički obrađuju računanjem medijana svakog pozitivnog i negativnog svojstva. Na temelju obrađenih podataka, odnosno medijana negativnih svojstava i medijana voćnog mirisa, ulje se kategorizira u kategorije: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje ili maslinovo ulje lampante.²

Tablica 7. Specifični standardizirani rječnik za senzorsko ocjenjivanje djevičanskih maslinovih ulja²⁹

Pozitivna osjetilna svojstva djevičanskih maslinovih ulja	VOĆNO	Ukupnost mirisnih svojstava (ovisno o sorti) karakterističnih za ulje od zdravih i svježih plodova, zelenih ili zrelih, zapaženih izravno ili neizravno (retronazalno).
	GORKO	Karakterističan okus ulja dobivenog od zelenih ili djelomično obojenih maslina, koji se percipira putem kružnih papila, poredanih na jeziku u obliku slova V.
	PIKANTNO	Taktilni osjet peckanja svojstven uljima proizvedenim na početku sezone, uglavnom od još nezrelih maslina, koji se može raspoznati po cijeloj usnoj šupljini, a osobito u grlu.
Negativna osjetilna svojstva djevičanskih maslinovih ulja	UPALJENI PLOD/ ULJNI TALOG	Prepoznatljiv okus i miris ulja dobiven od sabijenih maslina kod kojih je došlo do visokog stupnja anaerobne fermentacije ili ulja koje je ostalo u dodiru s uljnim talogom koji je fermentirao u anaerobnim uvjetima.
	PLJESNIVO/ VLAŽNO	Prepoznatljiv okus i miris ulja od maslina na kojima je došlo do razvoja plijesni i kvasaca kao posljedica čuvanja u vlažnim uvjetima više dana.
	VINSKI- OCTIKAVO/KISELO	Prepoznatljiv okus i miris nekih ulja koji podsjeća na vino ili ocat; uzrokovan je prvenstveno aerobnom fermentacijom maslina ili ostataka maslinovog tijesta na neodgovarajuće očišćenim slojnicama, što dovodi do stvaranja octene kiseline, etil-acetata i etanola.
	METALNO	Okus i miris koji podsjeća na metal; svojstven je uljima koja su duže vrijeme bila u dodiru sa metalnim površinama tijekom mljevenja, miješanja, prešanja ili skladištenja.
	UŽEGLO	Prepoznatljiv okus i miris ulja koja su bila izložena intenzivnim oksidacijskim procesima.
	KUHANO ILI PREKUHANO	Prepoznatljiv okus i miris uzrokovan pretjeranim i/ili predugim zagrijavanjem tijekom prerade, a osobito miješanjem maslinovog tijesta u termičkim nepovoljnim uvjetima.
	SIJENO/ DRVO	Prepoznatljiv okus i miris nekih ulja koja potječu od sasušeni plodova maslina.

TEŠKO (GRUBO)	Osjećaj gustoće i pastoznosti u ustima; karakteristika starih ulja.
SREDSTVO ZA PODMAZIVANJE	Okus i miris ulja podsjeća na naftu, mineralno ulje ili mast za podmazivanje.
BILJNA VODA	Okus i miris koji poprimaju ulja koja su bila u dužem dodiru s fermentiranom biljnom vodom.
SALAMURA	Okus i miris ulja dobivenog od maslina koje su prije prerade čuvane u otopini soli.
SLOJNICE	Okus i miris karakterističan za ulja dobivena od maslina prešanih na novim slojnicama od biljnih vlakana, uglavnom od kokosovih, a različit je ovisno o tome jesu li slojnice sačinjene od zelenih ili suhih vlakana.
ZEMLJA	Okus i miris ulja dobivenog od maslina sakupljenih sa zemljom ili blatnjavih i neopranih maslina.
CRVLJIVO	Okus i miris ulja dobivenog od maslina napadnutih ličinkama maslinove mušice.
KRASTAVAC	Okus i miris karakterističan za ulje predugo čuvano u hermetički zatvorenim posudama, a osobito limenim (stvaranje nona-2,6-dienala).
VLAŽNO	Okus i miris karakterističan za ulja dobivena od maslina koje su bile smrznute na stablu.

OCJENJIVAČKI LISTIĆ ZA DJEVIČANSKO MASLINOVO ULJE
INTENZITET ZAMIJEĆENIH MANA

Upaljen plod/uljni talog _____

Plijesnivo/vlažno/zemljano _____

Vinski-octikavo/kiselo
Promrznute masline
(mokro drvo) _____

Užeglo _____

Ostala negativna obilježja: _____

Svojstva: Metalno Suho sijeno Crvljivo Teško (grubo)
Salamura Kuhano ili prekuhanu Biljna voda
Slojnice Krastavci Masno

INTENZITET POZITIVNIH SVOJSTAVA

Voćno _____
Zeleno Zrelo

Gorko _____

Pikantno _____

Ime ocjenjivača:

Šifra ocjenjivača:

Šifra uzorka:

Potpis:

Datum:

Komentar:

Slika 17. Ocjenjivački listić²

2.2.5. Određivanje ukupnih fenola

Fenolni spojevi imaju antioksidacijsku ulogu i doprinose stabilnosti maslinovog ulja. Utječu i na senzorska svojstva gorčine, pikantnosti i oporosti.³⁵ Maseni udio ukupnih fenolnih spojeva hidrofilnog dijela ulja određen je spektrofotometrijski modificiranom Folin-Ciocalteu metodom.

Nakon što se pripremi standardna otopina kafeinske kiseline (ili galne kiseline) te serija radnih otopina u koje treba dodati reagens, potrebno je izraditi kalibracijski pravac, prema čijoj će se jednadžbi izračunavati udio ukupnih fenolnih spojeva.

Nakon toga slijedi priprema uzorka na način da se izvaže 10 g ulja u čaši i otopi u 50 mL n-heksana. Otopinu je potrebno ekstrahirati s 20 mL 60 %-tnog metanola 3 puta. Ekstrakti, odnosno donji slojevi se spoje i otpare u rotavaporu, pri niskoj temperaturi (maksimalna 40 °C). Nakon toga se doda 2 mL 100 %-tnog metanola. Alikvot od 100 µL se stavi u odmjernu tikvicu od 20 mL, doda se 4 mL destilirane vode, 0,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa te protrese.

Nakon 3-5 minuta u smjesu se doda 1 mL zasićene otopine natrijevog karbonata i tikvica se nadopuni do oznake destiliranom vodom. Tako pripremljena otopina se ostavit stajati 1 sat u mraku pri sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorpcija pri 725 nm na spektrofotometru uz slijepu probu.

Ovisno na kojem se pravcu čitaju polifenoli, kao ekvivalenti kafeinske ili galne kiseline, izračun slijedi prema izrazu [6]:

$$Polifenoli_{(KK \text{ ili } GK)} = \frac{C \times R}{m} \quad [6]$$

gdje je:

c= očitana vrijednost polifenola s kalibracijskog pravca (µg/mL)

m= masa uzorka (g)

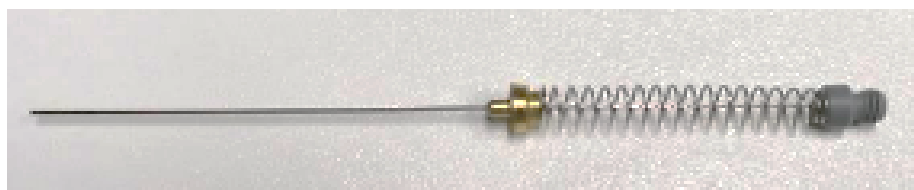
R = razrjeđenje.

2.2.6. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)

Mikroekstrakcija vršnih para na čvrstoj fazi (HS-SPME) omogućava brzo i lako uzorkovanje, ekstrakciju i koncentriranje bez uporabe otapala. Može se smatrati jednostavnom i učinkovitom tehnikom za brzu usporedbu uzoraka ili identifikaciju mirisa. Za skupljanje hlapljivih spojeva iz uzorka koristi se silikonsko vlakno prekriveno

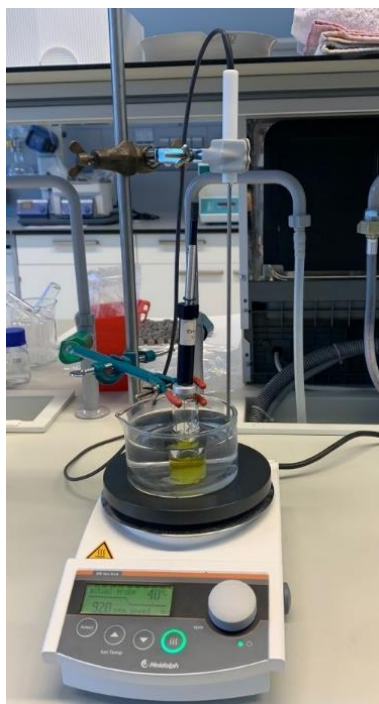
polimernim filmom.³⁶ Na tržištu postoje nepolarna, miješana i polarna vlakna, a tip vlakna koji se koristi utječe na selektivnost ekstrakcije.³⁷

Za potrebe ovog rada korišteno je sivo vlakno s ovojnicom divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan (DVB/CAR/PDMS) dužine 5 cm, koje se pokazalo najboljim u analizi hlapljivih spojeva maslinovih ulja (slika 18). Prije upotrebe, u skladu s uputama proizvođača (Supelco Co., SAD), vlakno je aktivirano kondicioniranjem 60 min na 270 °C postavljanjem SPME igle u injektor plinskog kromatografa. Nakon kondicioniranja vlakno je korišteno za ekstrakciju vršnih para uzoraka maslinovih ulja.



Slika 18. Sivo vlakno (vlakno s ovojnicom DVB/CAR/PDMS) za HS-SPME (Izvor: autor)

U staklenu vialicu od 15 mL stavljeno je 5 mL uzorka djevičanskog maslinovog ulja i 1g NaCl, kako bi pokupio eventualne zaostatke vode u uzorku, te magnet za potrebe miješanja sadržaja. Potom je vialica hermetički zatvorena PTFE/silikon septom te postavljena na kondicioniranje u vremenu od 15 minuta u vodenu kupelj (40 °C), a sadržaj u njoj je miješan pomoću magnetske miješalice (1000 okretaja/min). Nakon kondicioniranja uzorka, SPME igla je postavljena u posudu, a vlakno je izvučeno te je provedena ekstrakcija vršnih para u vremenu od 45 min pri 40 °C, uz konstantnu brzinu miješanja uzorka (slika 19). U prostoru iznad uzorka ulja odvijala se adsorpcija hlapljivih spojeva iz uzorka na vlakno (slika 20). Nakon toga vlakno je uvučeno u iglu i direktno premješteno u injektor plinskog kromatografa, gdje je provedena desorpcija analita sa vlakna na analitički instrument u vremenu od 7 minuta.



Slika 19. Aparatura za HS-SPME (Izvor: autor)



Slika 20. Apsorpcija hlapljivih spojeva iz uzorka na vlakno (Izvor: autor)

2.2.7. Plinska kromatografija-spektrometrija masa

Plinska kromatografija-spektrometrija masa je najčešće korištena metoda za odjeljivanje i analizu smjesa hlapljivih spojeva.

GC-MS uređaj radi na sljedećem principu: uzorak s hlapljivim sastojcima se injektira u injektor kromatografa gdje se provodi u plinovito stanje. Inertni plin nositelj (pokretna faza), nosi uzorak kroz kromatografsku kolonu koja je ispunjena nepokretnom fazom.

Tijekom analize hlapljivi spojevi se raspoređuju između pokretne i nepokretne faze temeljem različite topljivosti u nepokretnoj fazi, a komponenta s najmanjom topljivosti prva napušta kolonu. Tako razdvojene komponente, odlaze u detektor-spektrometar masa, koji detektira spojeve. Računalo uspoređuje dobiveni spektar masa s bazom podataka, određuje se postotak slaganja na osnovu čega se identificira spoj. Na x-osi kromatograma nalazi se retencijsko vrijeme (RT) ili vrijeme zadržavanja spoja u koloni, dok y-os prikazuje visinu pika hlapljivog spoja.³⁶



Slika 21. Vezani sustav plinska kromatografija- spektrometrija masa (GC-MS) (izvor: autor)

Analiza izoliranih hlapljivih spojeva maslinovih ulja provedena je vezanim sustavom plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS), pri čemu je korišten plinski kromatograf (Agilent Technologies, SAD), model 8890, u kombinaciji s Agilent Technologies (SAD) masenim detektorom, model 5977E, spojenim na računalo (slika 21). Analize hlapljivih spojeva provedene su korištenjem kolone s nepolarnom stacionarnom fazom (HP-5MS) sastava 5 % difenil-95 % dimetilpolisilksan, dimenzija 30 m x 0,25 mm, debljine sloja stacionarne faze 0,25 μm . Plin nositelj je bio helij, protoka 1 mL/min, omjer cijepanja 50:1, temperatura injektora iznosila je 250 °C, temperatura detektora 280 °C, energija ionizacije 70 eV. Temperatura peći je programirana kako slijedi: 3 min izotermno pri 70 °C, zatim zagrijavanje od 70 °C do 200 °C brzinom od 3 °C/min i zadržavanje od 2 min pri 200 °C.³⁸

Podaci dobiveni GC-MS analizom sa svaki uzorak daju: kromatogram ukupne ionske struje, vrijeme zadržavanja pojedine komponente i njezin relativni udio te naziv spoja čiji je spektar najbliži spektru nepoznate komponente (sličnosti uspoređenih spektara izraženi su u postotcima).³⁶ Pojedinačni spojevi identificirani su usporedbom masenih

spektara tih spojeva s masenih spektrima iz komercijalnih biblioteka masenih spektara *Wiley9* (Wiley MS libraries) i *NIST17* (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, SAD) i/ili iz literature.

3. REZULTATI

3.1. Rezultati fizikalno-kemijske analize ulje

Tablica 8 prikazuje rezultate analiza osnovnih pokazatelja kvalitete djevičanskih maslinovih ulja (slobodne masne kiseline, peroksidni broj, vrijednost specifičnih ekstinkcija pri valnim duljinama 232 nm (K_{232}) i 270 nm (K_{270}), ΔK vrijednost) te sadržaj ukupnih fenola (izraženi preko kavene i galne kiseline) analizirani svako 3 mjeseca tijekom skladištenja od 12 mjeseci.

Tablica 8. Rezultati fizikalno-kemijske analize ulja

UZORAK ULJA	SMK (% oleinske kiseline)	Peroksidni broj (mEq O ₂ /kg)	K_{232}	K_{270}	ΔK	ukupni fenoli (mg/kg kavene kis.)	ukupni fenoli (mg/kg galne kis.)
ULJE OBLICA							
nakon prerade	0,15	6,12	2,25	0,17	0	452,25	482,84
nakon 3 mjeseca	0,15	6,22	2,29	0,19	0	448,98	463,18
nakon 6 mjeseci	0,18	7,06	2,32	0,21	0	389,66	419,24
nakon 9 mjeseci	0,24	7,12	2,42	0,21	0	342,01	374,33
nakon 12 mjeseci	0,28	8,03	2,47	0,21	0	301,81	350,16
ULJE LECCINO							
nakon prerade	0,09	5,65	2,1	0,15	0	310,12	325,23
nakon 3 mjeseca	0,12	6,06	2,1	0,16	0	293,97	317,29
nakon 6 mjeseci	0,12	6,57	2,12	0,17	0	284,78	312,41
nakon 9 mjeseci	0,14	6,68	2,27	0,18	0	232,77	260,05
nakon 12 mjeseci	0,17	8,26	2,46	0,21	0	205,80	249,69
VIŠESORTNO ULJE							
nakon prerade	0,08	5,12	2,1	0,15	0	373,73	435,18
nakon 3 mjeseca	0,11	5,22	2,11	0,16	0	321,23	414,20
nakon 6 mjeseci	0,13	5,38	2,16	0,16	0	309,44	340,74
nakon 9 mjeseci	0,13	6,66	2,32	0,19	0	253,14	280,53
nakon 12 mjeseci	0,16	7,14	2,36	0,19	0	248,06	278,56

3.2. Analiza hlapljivih spojeva

U tablicama 9, 10, i 11 prikazani su rezultati analiza hlapljivih spojeva djevičanskih maslinovih ulja analizirani svako 3 mjeseca tijekom skladištenja od 12 mjeseci. U svakoj tablici hlapljivi spojevi su poredani po grupama (aldehidi, alkoholi, esteri, kiseline, ketoni, alifatski ugljikovodici i terpeni). Za svaki spoj navedeno je retencijsko vrijeme i retencijski indeks, relativni udio (%) te je za većinu spojeva dan senzorski opis.

Tablica 9. Hlapljivi spojevi ulja sorte *Oblica*^{39,40,41,42}

Naziv spoja	RT	RI	nakon prerade (%)	3 mjeseca (%)	6 mjeseci (%)	9 mjeseci (%)	12 mjeseci (%)	Senzorski opis arome
<i>Aldehidi</i>								
3-metilbutanal	1,473	649	2,21	3,86	3,52	3,86	3,89	slatko, voćno, sladno
(E)-pent-2-enal	1,957	754	1,12	1,03	0,96	0,39	0,22	zeleno, jabuka, cvjetno
(Z)-heks-3-enal	2,669	791	25,54	24,62	23,82	18,97	14,25	zeleno lišće, zelena jabuka, svježe pokošena trava
heksanal	2,843	800	4,51	5,02	6,25	7,18	8,01	zeleno, jabuka, svježe pokošena trava
(E)-heks-2-enal	3,331	849	42,25	38,37	32,12	31,02	28,25	gorko, zeleni badem, zelena jabuka, svježe pokošena trava
(E)-heksa-2,4-dienal	5,632	910	0,62	0,48	1,03	0,65	0,21	pokošena trava
4-oksoheks-2-enal	5,996	958	2,01	2,00	2,21	2,18	1,85	
nonanal	9,899	1102	0,08	0,23	0,75	1,53	1,71	citrusno, sapunasto, vosak, boja
<i>Alkoholi</i>								
etanol	1,428	448	1,12	2,29	2,65	3,24	4,02	alkoholno, zrela jabuka, cvjetno
pent-1-en-3-ol	1,508	673	0,36	1,72	2,96	3,72	3,85	voćno, orašasto, blago zeleno, maslačno
(Z)-pent-2-en-1-ol	2,392	769	0,40	0,69	1,12	1,49	2,53	banana
(Z)-heks-3-en-1-ol	3,515	858	3,24	5,20	5,32	9,52	10,03	banana, list, zeleno voće
heksan-1-ol	3,516	864	0,31	1,38	2,21	3,01	3,56	cvjetno, aromatično, pokošena trava
<i>Esteri</i>								
metil-acetat	1,463	528	0,65	1,32	1,45	2,03	2,56	zeleno, esterski
<i>Kiseline</i>								
octena kiselina	1,548	660	0,23	1,69	2,03	2,15	2,56	kiselo, ocat
<i>Ketoni</i>								
pent-1-en-3-on	1,903	678	3,18	2,46	2,02	1,73	0,86	slatko, jagoda, zeleno, oporo, metalno, riblji
pentan-3-on	1,959	700	0,23	1,12	1,24	2,02	2,65	slatko, eterski
<i>Alifatski ugljikovodici</i>								
3-etilokta-1,5-dien isomer I	5,049	867	3,23	2,89	3,24	3,12	2,86	plijesniv
3-etilokta-1,5-dien isomer II	6,371	867	5,18	4,68	4,15	3,42	1,92	plijesniv
(E)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trien	10,851	1116,9	0,12	0,29	0,32	0,18	0,09	
<i>Terpeni</i>								
trans- β -ocimen	7,945	1050	0,14	0,12	0,15	0,09	0,11	slatko, biljno
α -kopaen	20,913	1376	2,64	1,45	1,02	0,89	0,62	drvo, začín
α -muurolen	25,947	1497	0,27	0,28	0,31	0,34	0,34	

Tablica 10. Hlapljivi spojevi ulje sorte *Leccino*^{39,40,41,42}

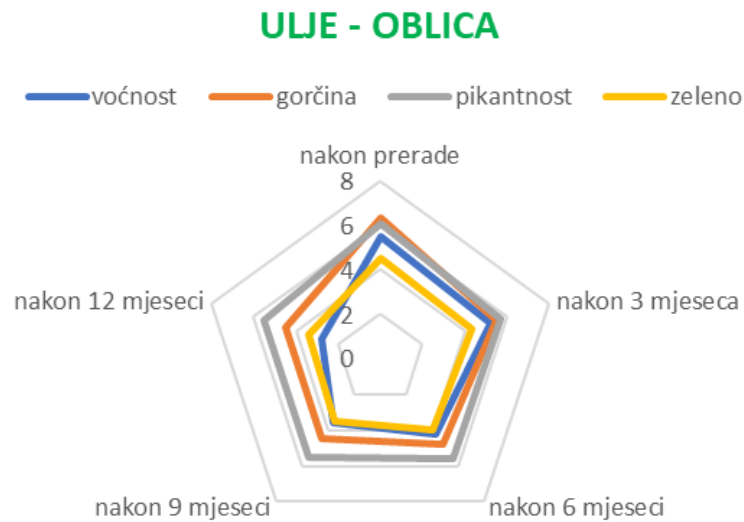
Naziv spoja	RT	RI	nakon prerade (%)	3 mjeseca (%)	6 mjeseci (%)	9 mjeseci (%)	12 mjeseci (%)	Senzorski opis arome
<i>Aldehidi</i>								
(<i>E</i>)-pent-2-enal	1,957	754	1,15	0,23	0,16	0,35	1,06	zeleno, jabuka, cvjetno
(<i>Z</i>)-heks-3-enal	2,669	791	3,02	2,65	1,32	1,12	0,62	zeleno lišće, zelena jabuka, svježe pokošena trava
heksanal	2,843	800	5,01	5,52	6,03	6,55	7,82	zeleno, jabuka, svježe pokošena trava
(<i>E</i>)-heks-2-enal	3,331	849	56,31	52,89	48,18	45,03	36,51	gorko, zeleni badem, zelena jabuka, svježe pokošena trava
nonanal	9,899	1102	0,14	0,20	0,36	0,54	1,68	citrusno, sapunast, vosak, boja
<i>Alkoholi</i>								
etanol	1,428	448	1,23	1,56	2,83	2,92	3,16	alkoholno, zrela jabuka, cvjetno
pent-1-en-3-ol	1,508	673	3,26	2,84	1,62	1,48	1,01	voćno, orašasto, blago zeleno, maslačno
(<i>Z</i>)-pent-2-en-1-ol	2,392	769	0,25	0,45	0,62	0,24	1,08	banana
(<i>E</i>)-heks-2-en-1-ol	3,490	850	4,65	5,38	7,09	7,65	8,91	zeleno, voćno
(<i>Z</i>)-heks-3-en-1-ol	3,515	858	0,18	1,65	2,86	5,01	6,25	babana, list, zeleno voće
heksan-1-ol	3,516	864	2,22	2,97	4,24	5,52	6,84	cvjetno, aromatično, pokošena trava
<i>Esteri</i>								
metil-acetat	1,463	528	2,65	2,10	2,81	3,01	4,60	zeleno, esterski
<i>Kiseline</i>								
octena kiselina	1,548	660	1,24	2,15	2,42	3,02	3,74	kiselo, ocat
<i>Ketoni</i>								
pent-1-en-3-on	1,903	678	4,24	3,95	3,26	3,03	1,61	slatko, jagoda, zeleno, oporo, metalno, riblji
pentan-3-on	1,959	700	0,23	0,54	2,12	1,92	2,36	slatko, esterski
<i>Alifatski ugljikovodici</i>								
3-etilokta-1,5-dien isomer I	5,049	867	0,18	0,20	0,98	0,75	1,29	plijesniv
3-etilokta-1,5-dien isomer II	6,371	867	1,25	2,16	2,77	3,26	3,83	plijesniv
(<i>E</i>)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trien	10,851	1116,9	0,68	1,25	2,09	2,56	2,70	
<i>Terpeni</i>								
<i>trans</i> - β -ocimen	7,945	1050	3,27	2,95	1,12	0,65	0,25	slatko, biljno
α -kopaen	20,913	1376	0,41	0,17	0,08	0,18	0,25	drvo, začín
α -muurolen	25,947		0,07	0,07	0,08	0,09	0,09	

Tablica 11. Hlapljivi spojevi višesortnog ulja^{39,40,41,42}

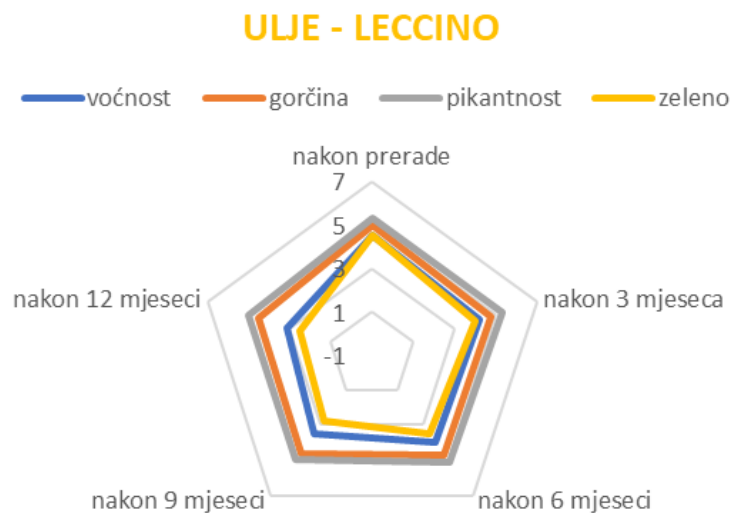
Naziv spoja	RT	RI	nakon prerade (%)	3 mjeseca (%)	6 mjeseci (%)	9 mjeseci (%)	12 mjeseci (%)	Senzorski opis arome
<i>Aldehidi</i>								
3-metilbutanal	1,473	649	0,12	0,54	0,84	1,02	3,52	slatko, voćno, slavno
(E)-pent-2-enal	1,957	754	2,01	1,65	1,33	0,02	0,09	zeleno, jabuka, cvjetno
(Z)-heks-3-enal	2,669	791	12,80	11,03	10,12	9,56	5,22	zeleno lišće, zelena jabuka, svježe pokošena trava
heksanal	2,843	800	8,65	9,12	10,92	11,02	12,14	zeleno, jabuka, svježe pokošena trava
(E)-heks-2-enal	3,331	849	52,47	49,01	43,32	39,03	34,02	gorko, zeleni badem, zelena jabuka, svježe pokošena trava
(E)-heksa-2,4-dienal	5,632	910	0,08	0,03	0,01			pokošena trava
nonanal	9,899	1102	0,22	0,35	0,45	1,02	1,12	citrusno, sapunasto, vosak, boja
<i>Alkoholi</i>								
etanol	1,428	448	0,65	0,80	0,91	1,12	2,12	alkoholno, zrela jabuka, cvjetno
pent-1-en-3-ol	1,508	673	0,22	1,34	1,22	1,34	2,51	voćno, orašasto, blago zeleno, maslačno
(Z)-pent-2-en-1-ol	2,392	769	0,57	0,84	1,25	1,63	2,15	banana
(Z)-heks-3-en-1-ol	3,515	858	0,65	2,02	3,85	5,12	6,32	banana, list, zeleno voće
heksan-1-ol	3,516	864	1,12	2,25	5,18	8,56	9,84	cvjetno, aromatično, pokošena trava
<i>Esteri</i>								
metil-acetat	1,463	528	0,96	1,02	1,09	1,89	2,56	zeleno, esterski
<i>Kiseline</i>								
octena kiselina	1,548	660	0,84	1,23	1,65	2,03	2,56	kiselo, ocat
<i>Ketoni</i>								
pent-1-en-3-on	1,903	678	0,03	1,56	2,96	4,63	6,02	slatko, jagoda, zeleno, oporo, metalno, riblji
pentan-3-on	1,959	700	4,32	4,12	3,05	1,52	1,15	slatko, eterski
<i>Alifatski ugljikovodici</i>								
3-etilokta-1,5-dien isomer I	5,049	867	1,87	1,52	1,65	1,03	1,18	plijesniv
3-etilokta-1,5-dien isomer II	6,371	867	3,59	3,01	2,23	2,12	2,32	plijesniv
(E)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trien	10,851	1116,9	1,72	2,03	2,54	2,15	1,09	
<i>Terpeni</i>								
trans-β-ocimen	7,945	1050	0,71	0,84	0,65	0,92	0,57	slatko, biljno
α-kopaen	20,913	1376	0,35	0,22	0,18	0,18	0,12	drvo, začín

3.3. Senzorska analiza

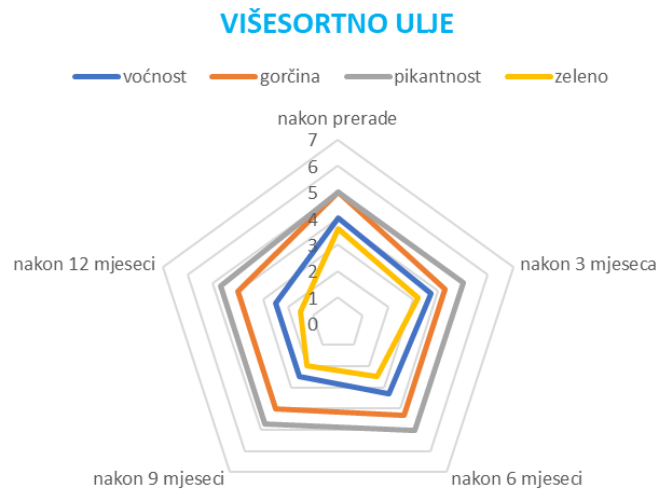
Na slikama 22-24, prikazani su rezultati senzorske analize djevičanskih maslinovih ulja. Obzirom da u ispitanim uljima nije bilo utvrđeno prisustvo senzorskih mana, paukova mreža (engl. *spider web*) prikazuje samo pozitivna senzorska obilježja.



Slika 22. Senzorski profil djevičanskog maslinovog ulja sorte *Oblica*



Slika 23. Senzorski profil djevičanskog maslinovog ulja sorte *Leccino*



Slika 24. Senzorski profil višesortnog djevičanskog maslinovog ulja

4. RASPRAVA

4.1. Fizikalno kemijska analiza

U tablici 8 prikazani su rezultati fizikalno-kemijske analize ulja ispitani neposredno nakon prerade te svako 3 mjeseca skladištenja u periodu od 12 mjeseci.

Uz osnovne parametre kvalitete u uljima je određen i sadržaj ukupnih fenolnih spojeva. Sadržaj slobodnih masnih kiselina (SMK) u svim uzorcima ulja ima trend povećanja tijekom godine dana skladištenja, a vrijednosti su izražene kao % oleinske kiseline.

Udio SMK za ulje sorte *Oblica* kretao se 0,15 % 0,28 %, za ulje sorte *Leccino* 0,09 %-0,17 %, a za višesortno ulje 0,08 %-0,16 %. Ulje sorte *Oblica* imalo je najvišu vrijednost SMK dok je u višesortnom ulju ta vrijednost bila najniža.

Uzimajući u obzir da je najviša dozvoljena vrijednost SMK za kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja < 0,8 % dobiveni rezultati ukazuju kako sva ispitana ulja pripadaju toj kategoriji.

Da udio SMK u uljima raste tijekom skladištenja potvrđuju i rezultati istraživanja Shendi i sur. (2018.) u ulju sorte *Saurani*.⁴³

Nadalje, rezultati istraživanja nekolicine autora potvrđuju kako povećanje udjela SMK u uljima ovisi i o materijalu spremnika te uvjetima i vremenu skladištenja.^{44,45,46,47}

Peroksidni broj je pokazatelj početne oksidacije ulja i smatra se relativnim indeksom kvalitete jer detektira oksidaciju prije uočavanja senzorskih promjena. Rezultati ovog istraživanja ukazuju kako vrijednost peroksidnog broja u uljima raste kako vrijeme skladištenja odmiče. Ulja kod kojih se vrijednost peroksidnog broja kreće od 1 do 3 mmol O₂/kg, smatraju se svježim i kvalitetnim, dok su prikladna za konzumaciju ulja kod kojih je vrijednost manja ili jednaka 10 mmol O₂/kg. Prema legislativi (Uredba 2568/91) maksimalna dozvoljena vrijednost peroksidnog broja za kategoriju ekstra djevičansko maslinovo ulje je 20 mEq O₂/kg).

Obzirom na dobivene vrijednosti peroksidnog broja ispitanih ulja (tablica 8), može se utvrditi kako su sva ulja u kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja i po ovom pokazatelju kvalitete.

U ulju sorte *Oblica* vrijednosti peroksidnog broja su bile 6,12- 8,03 mEq O₂/kg, kod ulja sorte *Leccino* 5,65-8,26 mEq O₂/kg, dok je u višesortnom ulju ta vrijednost bila najniža 5,12-7,14 mEq O₂/kg.

Rezultati ispitivanja peroksidnog broja u uljima neposredno nakon prerade pokazuju najvišu vrijednost peroksidnog broja u ulju sorte *Oblica*, dok je u višesortnom ulju ta vrijednost bila najniža

Trend povećanja vrijednosti peroksidnog broja tijekom skladištenja ulja potvrdili su Shendi i sur.(2018.) u ulju sorte *Saurani*.⁴³

Nadalje, rezultati istraživanja nekolicine autora potvrdili su kako povećanje peroksidnog broja ovisi o uvjetima skladištenja te ambalažnom materijalu tijekom kratkoročnog i dugoročnog skladištenja. Tijekom kratkoročnog i dugoročnog skladištenja maslinovog ulja dolazi do povećanja vrijednosti peroksidnog broja^{44,45,46} Spektrofotometrijskom analizom K-brojeva u uljima dobiveni su rezultati koji pokazuju moguće oksidacijske promjene. Kao što je bilo i očekivano, vrijednosti K-brojeva izmjerene u uljima neposredno nakon prerade su bile najniže, dok su vremenom čuvanja sve vrijednosti blago porasle. Ipak, vrijednosti nakon perioda čuvanja od 12 mjeseci pokazuju da u uljima nije bilo uznapredovale oksidacije što upućuje na to da su skladištena na prikladan način. Okolišni stres potiče stvaranje sekundarnog metabolizma u maslini, a posljedica je nastanak fenolnih spojeva s izraženim antioksidativnim djelovanjem.³⁵ Prema pojedinim autorima udio ukupnih fenola u maslinovom ulju kreće se 40-1000 mg/kg. Udio fenola u ulju ovisi o raznim čimbenicima kao što su sorta, područje uzgoja, prerada plodova te čuvanje ulja.⁴⁸ Osim što su izuzetni antioksidansi te pridonose oksidativnoj stabilnosti ulja, fenolni spojevi imaju značajan utjecaj i na senzorska svojstva djevičanskih maslinovih ulja posebice na osjet gorčine i pikantnosti. Prema rezultatima određivanja sadržaja fenolnih spojeva u ovom radu vidljivo je kako se njihov sadržaj u uljima smanjuje tijekom skladištenja. Naime, najveće vrijednosti sadržaja fenola utvrđene su u uljima neposredno nakon prerade (325,23-482,84 mg/kg galne kis.), dok se kako vrijeme skladištenja odmiče te vrijednosti smanjuju (249,69-350,16 mg/kg galne kis.) (tablica 8). Da se skladištenjem smanjuje sadržaj ukupnih fenola u ulju potvrđuju i rezultati Shendi i sur. (2018.) te Soldo (2016.).^{43,6}

4.2. Analiza hlapljivih spojeva

U ispitanim uzorcima maslinovih ulja ukupno su identificirana 24 hlapljiva spoja. Identificirani spojevi svrstani su u sljedeće kemijske skupine: aldehidi (8), alkoholi (6), esteri (1), kiseline (1), ketoni (2), alifatski ugljikovodici (3) i terpeni (3) (tablice 9- 11). Većina identificiranih spojeva prisutna je u svim uzorcima ulja. Najznačajniji hlapljivi spojevi karakteristični za djevičanska maslinova ulja su aldehidi, alkoholi te njihovi esteri, koji su odgovorni za pozitivne senzorske note, a nastaju lipoksigenaznim putem. Osim što su najzastupljeniji hlapljivi spojevi, aldehidi uvelike doprinose mirisu djevičanskog maslinovog ulja budući da imaju vrlo niske pragove detekcije. Obično se povezuju s pozitivnim osjetilnim karakteristikama kao što je zeleno, voćno i gorko.⁴²

Ulje sorte *Oblica* bilo je najbogatije, u pogledu zastupljenosti ukupnog udjela aldehida, a ulje sorte *Leccino* najsiromašnije. Vremenom skladištenja ukupni udio aldehida u svim uzorcima ulja bilježi trend pada. Među aldehydima, posebno se izdvaja (*E*)-heks-2-enal (slika 25), koji potječe od enzimatske transformacije masnih kiselina te doprinosi notama travnjaka, banane, zelenog.³⁹ Ovi rezultati su u skladu sa zastupljenošću (*E*)-heks-2-enala u istraživanju istarskih sortnih ulja, koje je provela Brkić-Bubola (2011.).⁴⁹ Slično ispitivanje provela je i Soldo (2016.) na monosortnim uljima *Oblice*, *Lastovke* i *Levantinke* te potvrdila visoki udio C6 aldehida, posebno (*E*)-heks-2-enala.⁶ Angerosa i sur. (1999.) su istraživali talijanska sortna ulja te utvrdili da je razina (*E*)-heks-2-enala različita za pojedinu sortu što upućuje na utjecaj genetskih čimbenika pri sintezi ovoga spoja.⁵⁰ (*E*)-heks-2-enal se koristiti se kao marker svježine, koji je obrnuto povezan sa stupnjem oksidacije.⁴¹

Skladištenjem u uljima se smanjuje udio (*E*)-heks-2-enala: *Oblica* (42,25-28,25 %), *Leccino* (56,31-36,51 %) te višesortno ulje (52,47-34,02 %).

Uz (*E*)-heks-2-enal sljedeći spoj zastupljen u relativno visokom udjelu je (*Z*)-heks-3-enal, odgovoran za zelene note. Angerosa i sur. (2004.) ovaj spoj opisuju kao "zeleno", odnosno zelena jabuka te svježije pokošena trava.⁴⁰ U ispitanim uzorcima ulja tijekom skladištenja također dolazi do smanjenja udjela (*Z*)-heks-3-enala: *Oblica* (25,54-14,25 %), *Leccino* (3,02-0,62 %), višesortno ulje (12,80-5,22 %).

Nadalje, među aldehydima vrijedi istaknuti i heksanal, identificiran u svim uzorcima ulja. Ovaj spoj se povezuje sa zelenim, jabukom te svježije pokošenom travom.⁴⁰ Heksanal je nositelj pozitivnih senzorskih obilježja pri niskim koncentracijama, dok je pri većim koncentracijama povezan s defektom užglosti.⁴⁰ Coutelieris i Knavouras (2006.) su

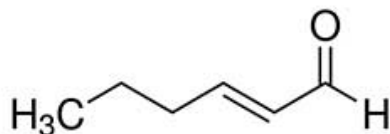
koristili koncentraciju heksanala kao osnovni pokazatelj kvalitete djevičanskog maslinovog ulja čuvanog u različitoj ambalaži i uvjetima skladištenja.⁵² Tijekom skladištenja zamijećen je rast udjela heksanala u uzorcima ulja: *Oblica* (4,51-8,01 %), *Leccino* (5,01-7,82 %), višesortno ulje (8,65-12,14 %). Caipo i sur. (2021.) navode kako heksanal u svježim uljima nastaje tijekom mljevenja i mijesenja maslinovog tijesta, dok je povećanje njegovog udjela tijekom skladištenja posljedica autooksidacije.⁵¹

Prema da Costa i sur. (2020.), (*E*)-pent-2-enal se povezuje sa zelenim, jabučnim te cvjetnim notama.³⁹ Što se tiče zastupljenosti ovog aldehida najveći udio je utvrđen u uljima ispitanim neposredno nakon prerade, dok se skladištenjem njegov udio u uljima smanjuje.

U vrlo skromnim udjelima prisutan je nonanal, čiji se senzorski opis (Angerosa i sur. 2004.) povezuje s citrusnim i sapunastim notama, dok ga Tanoutti i sur.(2012.) vežu za vosak i boju.^{40,41} Neki autori navode njegovu povezanost s aromom užeglog, međutim mana užeglosti u senzorskoj analizi ovih ulja nije identificirana.⁵⁴ Što se tiče udjela, u svim uljima tijekom skladištenja primijećen je rasta nonanala: *Oblica* (0,08-1,71 %), *Leccino* (0,14-1,68 %) te višesortno ulje (0,22-1,12 %).

U ulju sorte *Oblica* i višesortnom ulju identificiran je 3-metilbutanal, dok u ulju *Leccino* ovaj aldehyd nije identificiran. Da Costa i sur. (2020.) mu pridodaju senzorski opis koji se veže za slatko, voćno te sladno.³⁹ Skladištenjem u uljima je zabilježen trend rasta ovog aldehida: *Oblica* (2,21-3,89 %) te višesortno ulje (0,12-3,52 %). Također, u ulju *Oblice* i višesortnom ulju identificiran je (*E*)-heksa-2,4-dienal, povezan s notama pokošene trave. U ulju *Oblice* skladištenjem se smanjuje udio ovog aldehida (0,62-0,21 %). Kod višesortnog ulja se također kroz ispitane periode bilježi pad udjela ovog aldehida te nakon 6 mjeseci skladištenja nije identificirano njegovo prisustvo u ulju.

Zanimljivo je da je samo u ulju *Oblice* identificiran aldehyd 4-oksoheks-2-enal, čiji se udio tijekom skladištenja smanjuje (2,01-1,85 %).



Slika 25. Strukturna formula (*E*)-heks-2-enala⁵⁴

Nakon aldehida, značajna skupina hlapljivih spojeva u djevičanskim maslinovim uljima su alkoholi. Povezani su s pozitivnim senzorskim obilježjima, kao što su maslina, voće, zeleno i aromatično, ali budući da imaju visoki prag osjetljivosti imaju manji senzorski značaj od aldehida.⁵⁵

Kod svih ulja je utvrđen rast udjela ukupnih alkohola vremenom skladištenja.

(*Z*)-heks-3-en-1-ol je identificiran u svim uzorcima ulja, a Angerosa i sur. (2004.) mu pridodaju senzorski opis banane, lista te zelenog voća.⁴⁰ Prema Tanoutiju i sur. (2012.) ovaj alkohol je u korelaciji sa "zelenim" senzorskim obilježjima, odgovoran za miris svježe pokošene trave te doprinosi svježini ulja.⁴¹ Tijekom skladištenja utvrđeno je povećanja udjela ovog alkohola u svim uljima: *Oblica* (3,24-10,03 %), *Leccino* (0,18-6,25 %), višesortno ulje (0,65-6,32 %).

Najveći udio heksan-1-ola, u uljima ispitanim neposredno nakon prerade, bio je u ulju sorte *Leccino* (2,22 %), zatim u višesortnom ulju (1,12 %) te naposljetku u ulju sorte *Oblica* (0,31 %). Skladištenjem udio heksan-1-ola u svim uljima raste, pa je tako nakon 12 mjeseci u višesortnom ulju 9,84 %, u ulju *Leccino* 6,84% te u ulju *Oblice* 3,56%. Prisutnost heksan-1-ola pridonosi cvjetnim, aromatičnim i notama svježe pokošene trave.³⁹ Dobivene vrijednosti udjela heksan-1-ola u skladu su s rezultatima istraživanja Sanchez-Ortiz i sur. (2007.) u španjolskim uljima.⁵⁶ Prema pojedinim istraživanjima cis oblici heksan-1-ola karakterizirani su ugodnijom osjetilnom percepcijom za razliku od njegovih ostalih transformacija.⁴¹

Među alkoholima u svim uljima je identificiran (*Z*)-pent-2-en-1-ol, koji pridonosi notama banane, a udio u uljima mu skladištenjem raste.⁴⁰

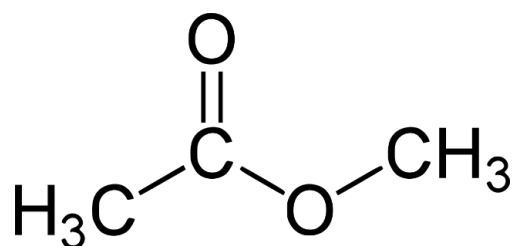
Angerosa i sur. (2004.) etanol povezuju s notama zrele jabuke, alkoholnim te cvjetnim notama.⁴⁰ Nakon prerade, etanol je bio najviše prisutan u ulju *Leccino* (1,23 %), a

najmanje u višesortnom ulju (0,65 %). Tijekom skladištenja udio etanola raste u svim uljima pa je tako nakon 12 mjeseci najveći udio etanola utvrđen u ulju *Oblice* (4,02 %), a najniži u višesortnom ulju (2,12 %).

Alkohol pent-1-en-3-ol povezuje se s blago zelenom i voćnom osjetilnom percepcijom te je odgovoran je za orašaste i maslačne note.^{40,42} Kod višesortnog ulja i kod ulja sorte *Oblica* skladištenjem udio ovog alkohola raste, dok je u ulju sorte *Leccino* utvrđeno smanjenje udjela pent-1-en-3-ola (3,26 %-1,01%). Kalua i sur. (2005.) bilježe smanjenje udjela ovog alkohola povezanog s maslačnim i blago zelenim mirisima kod ulja sorti *Mission* i *Pargoh* te ističu ovaj alkohol kao indikator zrelosti i sortnih razlika.⁵⁷

(*E*)-heks-2-en-1-ol, nositelj voćnih i zelenih nota, identificiran je samo u ulju sorte *Leccino* te njegov udio skladištenjem raste (4,65 % do 8,91 %). Soldo (2016.) u svome istraživanju uz (*Z*)-heks-3-en-1-ol, ističe (*E*)-heks-2-en-1-ol kao najzastupljenije hlapljive alkohole u sortnim uljima Dalmacije te navodi kako su najveći udjeli ovih alkohola utvrđeni u uljima dobivenim preradom zrelih plodova maslina.⁶

Esteri koji nastaju lipoksigenaznim putem pridonose voćnim notama, a pri nižim koncentracijama su odgovorni za pozitivan i ugodan okus. U svim uzorcima ulja identificiran je metil-acetat čiji udio u uljima skladištenjem raste (slika 26). Najmanji udio je u ulju *Oblice* (0,65-2,56 %), zatim višesortnom ulju (0,96-2,56 %), dok su najveće vrijednosti utvrđene u ulju sorte *Leccino* (2,65-4,60 %). Metil-acetat doprinosi "zelenim" osjetilnim notama te mirisu banane. Angerosa i sur. (2004.) navode kako su mali udjeli estera vjerojatno posljedica niskog sadržaja enzima alkohol aciltransferaze koji katalizira njegov nastanak.⁴⁰



Slika 26. Strukturna formula metil-acetata⁵⁸

Prisustvo karboksilne kiseline, točnije octene kiseline, nije poželjno u aromi djevičanskih maslinovih ulja jer se povezuje s kiselim i oporim osjetom te ukazuje na senzorske mane ulja.⁴¹ Octena kiselina nastaje mikrobnom fermentacijom, a nositelj je mirisnih svojstava kao što su kiselo i octikavo. Kod svih ulja udio octene kiseline vremenom skladištenja

raste: ulje *Oblice* (0,23-2,56 %), ulje *Leccino* (1,24-3,74 %), višesortno ulje (0,84-2,56 %). Do sličnih rezultata došli su Baccouri i sur. (2008.) utvrdivši povećavanje udjela octene kiseline u uljima tijekom skladištenja.⁵⁹ Viši sadržaj octene kiseline obično se veže uz senzorsku manu „octikavo“. Obzirom da je u svim uljima utvrđen relativno mali udio octene kiseline rezultati senzorske analize nisu ukazali na prisustvo ove mane.

U skupini ketona identificirani su pent-1-en-3-on i pentan-3-on, koji imaju utjecaj na aromatski profil ulja. Ketoni su najčešće povezani s voćnim, oporim i eteričnim senzorskim obilježjima.⁵⁵

Angerosa i sur. (2004.) pent-1-en-3-on povezuju sa slatkim, zelenim i notama jagode, ali i sa opornim i metalnim, dok ga Zhou i sur. (2019.) opisuju ribljim.^{40,42} Ovaj spoj pridonosi aromi maslinovog ulja, zbog njegovog niskog praga detekcije.⁵⁵

Udio pent-1-en-3-on skladištenjem se smanjuje kod ulja *Oblice* (3,18-0,86 %) i ulja *Leccino* (4,24-1,61 %), dok je kod višesortnog ulja zabilježen trend rasta ovoga ketona (0,03-6,02 %).

Luna i sur. (2006.) pent-1-en-3-on povezuju s senzorskim obilježjima kao što su gorko i gorušica te tvrde da pridonosi pikantnosti ulja.⁶⁰ Nadalje, Angerosa i sur. (1999.) navode kako su gorčina i pikantnost u pozitivnoj korelaciji s udjelom pent-1-en-3-ona i sekoiridoidnih spojeva.⁵⁰

Skladištenjem udio pentan-3-ona se smanjuje kod višesortnog ulja (4,32-1,15 %), dok raste kod ulja *Oblice* (0,23-2,65 %) i *Leccino* (0,23-2,36 %). Ovaj spoj povezan je sa senzorskim obilježjima kao što su slatko i esterski.^{40,42}

U uljima su identificirani sljedeći alifatski ugljikovodici: 3-etilokta-1,5-dien isomer I, 3-etilokta-1,5-dien isomer II te (*E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trien. Senzorski opis arome navedenih spojeva najčešće se veže za pljesnivo. Kod ulja *Oblice* te višesortnog ulja dolazi do smanjenja udjela alifatskih ugljikovodika tijekom skladištenja, dok kod ulja *Leccino* njihov udio raste.

Na udio i sastav terpena u uljima najviše utječu sorta i okolišni uvjeti. U ispitanim uljima identificirana su tri terpena: trans- β -ocimen, α -kopaen te α -muurolen. Trans- β -ocimen identificiran je u svim uljima, a opisuje se slatkim i biljnim notama. Kod ulja *Oblice* i višesortnog ulja udjeli variraju, dok je u ulju sorte *Leccino* zabilježen trend pada (3,27 % do 0,25 %). Terpeni α -kopaen i α -muurolen koriste se kao markeri za razlikovanje djevičanskog maslinovog ulja iz različitog zemljopisnog područja uzgoja maslina. U svim uljima identificiran je α -kopaen, čiji je senzorski opis vezan za note drva i začina, te se

kod svih ulja skladištenjem njegov udio smanjuje. Terpen α -muurolen identificiran je u uljima *Oblice* i *Leccino* dok kod višesortnog ulja nije utvrđeno njegovo prisustvo.

4.3. Senzorski profil maslinovog ulja

Rezultati senzorske analize djevičanskih maslinovih ulja u ovom radu prikazani su dijagramom „paukove mreže“ (slike 23-25).

Obzirom na prikazane intenzitete pozitivnih osjetilnih svojstava razvidno je kako je intenzitet voćnosti bio najviši u svježim uljima (4-5,5), dok je isti skladištenjem opadao te je nakon 12 mjeseci bio u rasponu 2,5-3,1. Obzirom na provedenu senzorsku analizu može se utvrditi kako je ulje sorte *Oblica* neposredno nakon prerade bilo okarakterizirano najvišim intenzitetom voćnosti, dok je nakon 12 mjeseci skladištenja voćnost bila najviše sačuvana u ulju sorte *Leccino*. Najniže intenzitete voćnosti za sva promatrana razdoblja imalo je višesortno djevičansko maslinovo ulje. Najviši intenzitet gorčine utvrđen je u ulju sorte *Oblica* (6,3) dok su druga dva ulja imala nešto niže intenzitete (5). Skladištenjem, intenziteti gorčine su se smanjili u svim uljima.

Silva i sur. (2022.) navode kako su gorčina i pikantnost povezani sa sadržajem fenolnih spojeva u ulju jer oni aktiviraju živčana vlakna povezana s receptorima okusa u okusnim pupoljcima.⁵³ Obzirom da je u ulju sorte *Oblica* utvrđen najviši sadržaj ukupnih fenolnih spojeva bilo je za očekivati kako će i intenzitet gorčine biti najveći u ovom ulju. Intenziteti pikantnosti u uljima su se kretali u rasponu 4,7-6,1. Među ispitanim uljima nakon prerade najvišu pikantnost imalo je ulje sorte *Oblica* (6,1), zatim *Leccino* (5,3) te naposljetku višesortno ulje (5). Ovakav trend pikantnosti bio je i nakon skladištenja ulja od 12 mjeseci, doduše u manjim intenzitetima.

Intenziteti zeleno u uljima nakon prerade su se kretali u rasponu 3,6-4,5. Među ispitanim uljima nakon prerade jednake intenzitete zelenog imala su ulja sorte *Oblica* i sorte *Leccino* (4,5) te naposljetku višesortno ulje (3,6). Nakon 12 mjeseci skladištenja intenziteti zelenog su se smanjili kod svih ispitanih ulja. Tako je u ulju *Oblice* iznosilo 3,4, u ulju *Leccino* je 2,5, dok je za višesortno ulje ta vrijednost bila 1,5.

Obzirom na rezultate provedene senzorske analize može se zaključiti kako je ulje sorte *Oblica* imalo najviše intenzitete pozitivnih senzorskih obilježja nakon prerade i nakon skladištenja od 12 mjeseci. Nadalje, važno je naglasiti kako kod nijednog uzorka tijekom provedbe senzorske analize nije utvrđeno prisustvo senzorskih mana. Obzirom na navedeno sva ulja na temelju ove analize pripadaju kategoriji ekstra djevičanskog maslinovog ulja.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem u ovom rada mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- Postavljeni zadatak ovog istraživanja je ostvaren.
- Provedene analize omogućile su bolje razumijevanje odnosa između kemijskog sastava maslinovog ulja i uvjeta skladištenja.
- Tijekom 12 mjeseci skladištenja vrijednosti parametara kvalitete djevičanskih maslinovih ulja (SMK, peroksidni broj, K-brojevi) blago su porasle. Na temelju dobivenih vrijednosti može se zaključiti da sva ulja pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja.
- Zatvorena boca od tamnoga stakla, čuvana na tamnom i suhom mjestu pri sobnoj temperaturi pokazala se kao dobar način čuvanja djevičanskog maslinovog ulja.
- Skladištenjem, sadržaj ukupnih fenola u uljima očekivano opada, a najveći sadržaj je utvrđen u ulju sorte *Oblica* što je u pozitivnoj korelaciji s intenzitetom gorčine.
- Profil hlapljivih spojeva ispitanih uzoraka djevičanskih maslinovih ulja je vrlo sličan. Identificirana su ukupno 24 hlapljiva spoja, od kojih je 8 aldehida, 6 alkohola, 1 ester, 1 kiselina, 2 ketona, 3 alifatska ugljikovodika te 3 terpena.
- Aldehidi su najzastupljeniji spojevi, od kojih se posebno ističe (*E*)-heks-2-enal te (*Z*)-heks-3-enal kao nositelji svježih i zelenih nota. Njihov se udio vremenom skladištenja smanjuje što je povezano sa smanjenjem intenziteta voćnosti i zelenog.
- Skladištenjem raste udio ukupnih alkohola u uljima, a najviše se ističu heksan-1-ol, (*E*)-heks-2-en-1-ol i (*Z*)-heks-3-en-1-ol, koji se dovode u vezu sa voćnim i zelenim obilježjima.
- Ketoni imaju značajan utjecaj na aromatični profil, a poseban značaj pridaje se pent-1-en-3-onu koji je u pozitivnoj korelaciji s osjećajem gorčine i pikantnosti.
- Senzorskom analizom praćeni su intenziteti voćnosti, gorčine, pikantnosti i zelenog koji se skladištenjem smanjuju, a prisustvo senzorskih mana u uljima nije utvrđeno.
- Ulje sorte *Oblica* imalo je najviše intenzitete pozitivnih senzorskih obilježja nakon prerade i nakon 12 mjeseci skladištenja.

- Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti kako je vrijeme skladištenja ulja od 12 mjeseci neznatno utjecalo na promjene kvalitete ulja u smislu fizikalno-kemijskih i senzorskih pokazatelja jer su sva ulja ostala u kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja.
- Intenziteti pozitivnih senzorskih obilježja kao i sadržaj ukupnih fenolnih spojeva u uljima su vremenom opadale.
- Aromatični profil ulja skladištenjem se mijenjao na način da su se smanjili udjeli C-6 aldehida koji su karakteristični za zelene i svježije note, a rasle su vrijednosti C-6 alkohola.

6. POPIS KRATICA I SIMBOLA

IOOC - Međunarodno vijeće za masline

EEZ - Europska ekonomska zajednica

SMK - Slobodne masne kiseline

PB - Peroksidni broj

HS-SPME - Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi

UV - Ultraljubičasto

KK - Kavena kiselina

GK - Galna kiselina

DVB/CAR/PDMS - Sivo vlakno s divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan ovojnicom

SAD - Sjedinjene Američke Države

HP-5MS - Kapilarna kolona (5 % fenil)-metilpolisiloksan

PTFE - Politetrafluoroetilen

GC-MS - Plinska kromatografija-masena spektrometrija

RT - Retencijsko vrijeme

RI - Retencijski indeks

7. LITERATURA

1. *T. Klepo, Đ. Benčić*, Utjecaj genotipa na kemijski sastav maslinovog ulja, *Glasnik Zaštite Bilja*, **37** (5) (2014) 44-53.
2. *M. Gugić, M. Šarolić*, Maslina i proizvodi, Ogranak Matice hrvatske u Sinju, Sinj, 2017, str. 15-25, 109-132, 137-170.
3. *D. Kantoci*, Maslina, *Glasnik Zaštite Bilja*, **29** (6) (2006) 4-14.
4. *D. Elezović*, Maslina, Mediteranska poljoprivredna biblioteka, Split, 1997, str. 9-12.
5. URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:610675-1/images> (14. 4. 2023.)
6. *B. Soldo*, Utjecaj lipoksigenaze na sastav hlapljivih tvari u maslinovom ulju autohtonih dalmatinskih sorti, Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet Zagreb, (2016).
7. URL: <https://www.slideshare.net/lambertobaccioni/marketing-as-evoo-production-driver2009> (14. 4. 2023.)
8. *I. Žužić*, Maslina i maslinovo ulje sa posebnim osvrtom na Istru, "Olea"- udruga maslinara Istarske županije, Velika Gorica, 2008, str. 241-250, 267.
9. *O. Koprivnjak*, Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, MIH, Poreč, 2006, str. 15-17,20-21, 47-53, 89-103,106,110-119.
10. URL:https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a8/Oleuropein_structure.svg/1024px-Oleuropein_structure.svg.png (14.04. 2023.)
11. URL: <https://www.agroportal.hr/maslinarstvo/1924> (24.03.2023.)
12. *R. Angelini*, "L ulivo e l olio", *Coltur& Cultura*, Bayer CropScience, Milano, 2009, str.588.
13. *R. Aparicio, M.T. Morales, V. Alonso*, Autehtication of European virgin oil by their chemical compounds, sensory attributes, and consumers attitudes, *J. Agric. Food Chem* , **45**(4) (1997), 1076-1083 DOI: <https://doi.org/10.1021/jf960659h> .
14. *M. Barbarić, A. Raič, A. Karačić*, Priručnik iz maslinarstva, Federalni agromediterranski zavod Mostar, Mostar, 2014, str.17-26.
15. *I. Miljković, Lj. Gašparec- Skočić, V. Milat, F. Strikić, M. Oplanić, M. Bjeliš, I. Čelar, S. Petričević, Z. Jurišić, D. Vrbanac, M. Tratnik, I. Katalinić, M. Ševar, L. Bičak, V. Šimunović, J. Niskota, J. Orenda, S. Skakelja, M. Deur, J. Bolić, S.*

- Bulumbašić, I. Milat, B. Brkan*, Maslina i maslinovo ulje Božji dar u Hrvata, Mavi d.o.o., Zagreb, 2011, str.121.
16. URL:<https://www.istra.hr/hr/gourmet/evoo/sorte-maslina/3629?chapter=9>
(14.04.2023.)
17. *D. Modrušan*, Fenologija cvatnje introduciranih sorata maslina na lokacijama Vodnjan, Kaštel Stari i Split u 2021. godini, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, (2022).
18. URL:<https://www.istra.hr/hr/gourmet/evoo/sorte-maslina/introductory-sortes?chapter=7> (14.04.2023.)
19. *B. Škarica, I. Žužič, M. Bonifačić*, Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, Punat, Rijeka, 1996, str. 130-132,134-137,152.
20. *S. Barbarić*, Utjecaj proizvodnih uvjeta i vremena skladištenja na kvalitetu ulja dobivenog iz plodova masline sorte *Levantinka*, Završni rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, (2017).
21. URL:<https://www.savjetodavna.hr/2013/11/11/prijevoz-i-cuvanje-ploda-maslina/> (14.04.2023.)
22. URL:<https://blog.dnevnik.hr/geomir/2010/11/1628386236/maslina-je-obrana.html> (14.04.2023.)
23. *A. Gugić, I. Ordulj*, Prerada plodova maslina i kvaliteta djevičanskog maslinovog ulja, Glasnik Zaštite Bilja **29** (6) (2006) 15-25.
24. URL: Savjetodavna.hr/2014/10/30/njega-i-cuvanje-maslinovog-ulja/(5.5.2023.)
25. *M. Zenčić*, Profil hlapljivih spojeva aromatiziranih maslinovih ulja, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet , (2019).
26. URL: <http://www.balija.eu/hr/ulje-balija/kusanje/kemijski-sastav/> (11.04.2023.)
27. *M. Žanetić, M. Gugić*, Zdravstvena vrijednost maslinovog ulja, Pomologia Croatica **12** (2) (2006) 159-173.
28. *M. D. R. G. da Silva, A. M. Costa Freitas, M. J. B. Cabrita, R. Garci*, Olive oil, IntechOpen, Rijeka, 2012, str.19-20, DOI: 10.5772/28512.
29. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32022R2104> (11.04.2023.)
30. *M. Žanetić, M. Gugić*, Čuvanje djevičanskog maslinovog ulja, Pomologia Croatica (**11**) (1-2) (2005) 31-41.

31. URL:<https://www.agroklub.com/agrogalerija/jurin-dvor-doo-8611/>
(17.04.2023.)
32. *M. Mandić, P. Silva, J. Krković, J. Raljević, A. Pierobon, S. Serdar, J. Bošnir*, Research on the impact of temperature on change in olive oil quality. *Journal of applied health sciences* (6) (2) (2020) 249 – 259, DOI: <https://doi.org/10.24141/1/6/2/7>.
33. *M. Dobra*, Laboratorijska analiza maslinovog ulja, Završni rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko- tehnološki fakultet, (2017).
34. URL: <https://hr.oliveoiltimes.com/world/the-right-glass/32988> (16.04.2023.)
35. *M. Žanetić, D. Škevin, E. Vitanović, M. Jukić Špika, S. Perica*, Ispitivanje fenolnih spojeva i senzorski profil dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja, *Pomologia Croatica*, (17) (1-2) (2011) 19-30.
36. *S. Bralić*, Senzorska svojstva i aromatični profil dimljenih pršuta, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, (2022).
37. *I. Jerković*, Kemija aroma, Recenzirana skripta za internu uporabu, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, (2011).
38. *K. Magdalenić*, Analiza hlapljivih spojeva iz uzoraka nearomatiziranih i aromatiziranih maslinovih ulja, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, (2020).
39. *J.R.O. da Costa, S.M. Dal Bosco, R.C.S. Ramos, I.C.K. Machado, J. Garavaglia, S.S. Villasclaras*, Determination of volatile compounds responsible for sensory characteristics from Brazilian extra virgin olive oil using HS-SPME/GC-MS direct method, *J Food Sci*, (85) (11) (2020) 3764-3775, DOI: 10.1111/1750-3841.15467
40. *F. Angerosa, M. Servili, R. Selvaggini, A. Taticchi, S. Esposto, G. Montedoro*, Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality, *J. Chromatogr. A*, (1054) (1) (2004) 17-31, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.093>.
41. *K. Tanouti, H.S. Caid, M. Sindic, J.P. Wathelet, A. Ahmed*, Volatile compounds, profiles of virgin olive oils produced in the eastern Morocco: Oxidative stability and sensory defects, *J.Food Res.*, (1) (4) (2012) 194-206, DOI: 10.5539/jfr.v1n4p194.

42. Q. Zhou, S. Liu, Y. Liu, H. Song, Comparative analysis of volatiles of 15 brands of extra-virgin olive oils using solid-phase micro-extraction and solvent-assisted flavor evaporation, *Molecules* **(24)** (8) (2019) 1512, DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24081512>.
43. E.G. Shendi, D.S. Ozay, M.T. Ozay, N.F. Ustunel, Changes occurring in chemical composition and oxidative stability of virgin olive oil during storage, *OCL*, **(25)** (6) (2018) 1-8, DOI: <https://doi.org/10.1051/ocl/2018052>.
44. V. Lavelli, G. Fregapane, M.D. Salvador, Effect of storage on secoiridoid and tocopherol contents and antioxidant activity of monovarietal extra virgin olive oils, *J. Agric. Food Chem.*, **(54)** (8) (2006) 3002-3007, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf052918l>.
45. F. Clodveo, D. Delcuratolo, T. Gomes, G. Colelli, Effect of different temperatures and storage atmospheres on *Coratina* olive oil quality, *Food Chem.*, **(102)** (3) (2007) 571-576, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.035>.
46. A.I. Mendez, E. Falque, Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil, *Food Control*, **(18)** (5) (2007) 521-529, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.12.012>.
47. A. Baiano, C. Terracone, I. Viggiani, M.A. Del Nobile, Changes produced in extra-virgin olive oils from cv. *Coratina* during a prolonged storage treatment, *Czech J.Food Sci.*, **(32)** (1) (2014) 1-9, DOI: 10.17221/79/2013-CJFS.
48. M. Servilli, G. Montedoro, Contribution of phenolic compounds of virgin olive quality, *Eur.J.Lipid Sci. Technol.*, **(104)** (9-10) (2002) 602-613, DOI: [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200210\)104:9/10%3C602::AID-EJLT602%3E3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200210)104:9/10%3C602::AID-EJLT602%3E3.0.CO;2-X).
49. K. Brkić Bubola, Karakterizacija djevičanskih maslinovih ulja istarskih autohtonih sorti na temelju hlapljivih tvari i senzorskih svojstava, Doktorski Rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno biotehnološki fakultet, (2011).
50. F. Angerosa, C. Basti, R. Vito, Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars, *J. Agric. Food Chem.*, **(47)** (3) (1999) 836-839, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf980911g>.
51. L. Caipo, A. Sandoval, B. Sepulveda, E. Fuentes, R. Valenzuela, A. H. Metherel, N. Romero, Effect of storage conditions on the quality of *Arbequina* extra virgin

- olive oil and the impact on the composition of flavor-related compounds (Phenols and volatiles), *Foods*, **(10)** (9) (2021) 2161, DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10092161>.
52. *F. Coutelieris, A. Kanavouras*, Experimental and theoretical investigation of packaged olive oil: Development of a quality indicator based on mathematical predictions, *J.Food Eng.*, **(73)** (1) (2006) 85-92, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.01.008>.
53. *K. Silva, N. Rodrigues, J.A. Pereira, E. Ramalhosa*, Characterisation of olive oils from the Douro Valley, Portugal: Study of the volatile fraction and its relationship with sensory characteristics, *Appl. Sci.*, **(12)** (18) (2022) 9246, DOI: <https://doi.org/10.3390/app12189246>.
54. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Hexenal> (16.05.2023.)
55. *K. Brkić Bubola, M. Krapac, I. Lukić, B. Sladonja, A. Autino, C. Cantini, D. Poljuha*, Morphological and molecular characterization of *Bova* olive cultivar and aroma fingerprint of its oil, *Food Technology and Biotechnology*, **(52)** (3) (2014) 342-350.
56. *A. Sanchez-Ortiz, A.G. Perez, C. Sanz*, Cultivar differences on nonesterified polyunsaturated fatty acid as a limiting factor for the biogenesis of virgin olive oil sroma, *J. Agric. Food Chem.*, **(55)** (19) (2007) 7869-7873, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf071202i>.
57. *C. M. Kalua, M. S. Allen, D. R. Bedgood, A. G. Bishop i P. D. Prenzler*, Discrimination of olive oils and fruits into cultivars and maturity stages based on phenolic and volatile compounds, *J. Agric. Food Chem.*, **(53)** (20) (2005) 8054–8062, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf051233i>.
58. URL: <https://bs.wikipedia.org/wiki/Metil-acetat> (16.05.2023.)
59. *O. Baccouri, A. Bendini, L. Cerretani, M. Guerfel, B. Baccouri, G. Lercker, D.D. Ben Miled*, Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils, *Food Chem.*, **(111)** (2) (2008) 322-328, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.066>.
60. *G. Luna, M. T. Morales, R. Aparicio*, Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions, *Food Chem.*, **(98)** (2) (2006) 243–252, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.069>.