

# Oksidacijska stabilnost i udio ukupnih fenola maslinovog ulja autohtonih hrvatskih sorti maslina - Oblice, Buhavice, Lastovke i Drobnice u periodu rane i kasne berbe

---

**Bukvić, Antonia**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:796177>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-14**

*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**OKSIDACIJSKA STABILNOST I UDIO UKUPNIH  
FENOLA MASLINOVOG ULJA AUTOHTONIH  
HRVATSKIH SORTI MASLINA - OBLICE, BUHAVICE,  
LASTOVKE I DROBNICE U PERIODU RANE I KASNE  
BERBE**

**ZAVRŠNI RAD**

**ANTONIA BUKVIĆ**

**Matični broj: 1155**

**Split, rujan 2017.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE**  
**SMJER: KEMIJSKO INŽENJERSTVO**

**OKSIDACIJSKA STABILNOST I UDIO UKUPNIH**  
**FENOLA MASLINOVOG ULJA AUTOHTONIH**  
**HRVATSKIH SORTI MASLINA - OBLICE, BUHAVICE**  
**LASTOVKE I DROBNICE U PERIODU RANE I KASNE**  
**BERBE**

**ZAVRŠNI RAD**

**ANTONIA BUKVIĆ**

**Matični broj: 1155**

**Split, rujan 2017.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY**  
**COURSE: CHEMICAL ENGINEERING**

**OXIDATIVE STABILITY AND TOTAL PHENOLS OF  
OLIVE OIL FROM AUTHENTIC CROATIAN OLIVE  
VARIETIES - OBLICA, BUHAVICA, LASTOVKA AND  
DROBNICA IN THE PERIOD OF EARLY AND LATE  
HARVEST**

**BACHELOR THESIS**

**ANTONIA BUKVIĆ**

**Parent number: 1155**

**Split, September 2017.**

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Preddiplomski studij kemijske tehnologije, smjer Kemijsko inženjerstvo

Znanstveno područje: Tehničke znanosti

Znanstveno polje: Kemijska tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: Prof. dr. sc. Tea Bilušić

Pomoć pri izradi: Prof. dr. sc. Tea Bilušić

**OKSIDACIJSKA STABILNOST I UDIO UKUPNIH FENOLA MASLINOVOG ULJA AUTOHTONIH HRVATSKIH SORTI MASLINA - OBLICE, BUHAVICE, LASTOVKE I DROBNICE, U PERIODU RANE I KASNE BERBE**

Antonia Bukvić, 1155

**Sažetak:**

Maslinovo ulje je samo po sebi prehrambeno vrijedna i zdrava namirnica, međutim danas postoje maslinova ulja lošije i bolje kvalitete, što ovisi o samom načinu uzgoja masline, berbe i prerade. Nezasićene masne kiseline koje se nalaze u maslinovom ulju, od kojih je najzastupljenija jednostruko nezasićena oleinska kiselina, osjetljive su na djelovanje kisika i povišene temperature. Maslinovo ulje sadrži prirodne antioksidanse, fenolne tvari, koje usporavaju proces oksidacije. Stoga je vrlo važno da se pravilnom preradom maslinovog ulja i pravim trenutkom i tehnikom berbe sačuva što veća količina ukupnih fenola u ulju i time se postigne bolja prehrambena vrijednost i otpornost ulja na oksidaciju. Poznato je također da kvaliteta maslinovog ulja, odnosno udio ukupnih fenola ovisi o samoj sorti masline, području na kojem se uzgaja i periodu berbe. Tako su masline koje rastu na višim nadmorskim visinama i u područjima sa velikom količinom vlage siromašnije sa fenolnim spojevima.

U ovom radu analizirani su uzorci ekstra djevičanskog maslinovog ulja proizvedeni od četiri sorte autohtonih hrvatskih maslina; Oblice, Buhavice, Lastovke i Drobnice u periodu rane i kasne berbe. Analizirana je oksidacijska stabilnost te ukupni fenoli i uspoređene su vrijednosti ovisno o sorti i periodu berbe.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da oksidacijska stabilnost i udio ukupnih fenola uvelike ovise o sorti i o periodu berbe. Općenito je dokazano da je maslinovo ulje dobiveno od maslina u ranom periodu berbe znatno otpornije na oksidaciju i sadrži veće količine ukupnih fenola.

**Ključne riječi:** maslina, oksidacijska stabilnost, ukupni fenoli, period berbe

**Rad sadrži:** 32 stranice, 5 slika, 4 tablice, 8 priloga, 20 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. Dr.sc. Danijela Skroza, znan. sur.- predsjednik
2. Doc.dr.sc. Ivana Generalić Mekinić- član
3. Prof. dr. sc. Tea Bilušić - član-mentor

**Datum obrane:** 21 . rujna 2017.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku** pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## BACHELOR THESIS

**University of Split**

**Faculty of Chemistry and Technology Split**

**Undergraduate study of Chemical Technology, course Chemical Engineering**

**Scientific area:** Technical sciences

**Scientific field:** Chemical Engineering

**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21

**Mentor:** Ph. D. Tea Bilušić, Full professor

**Technical assistance:** Ph. D. Tea Bilušić, Full professor

### **OXIDATIVE STABILITY AND TOTAL PHENOLS OF OLIVE OIL FROM AUTHENTIC CROATIAN OLIVE VARIETIES – OBLICA, BUHAVICA, LASTOVKA AND DROBNICA IN THE PERIOD OF EARLY AND LATE HARVEST**

Antonia Bukvić, 1155

#### **Abstract:**

Olive oil is a nutritionally valuable and healthy ingredient, however there are olive oil with better and worse quality, which depends on the very way of olive growing, harvesting and processing. Unsaturated fatty acids found in olive oil, the most absorbed single-unsaturated oleic acid, are sensitive to oxygen activity and elevated temperatures. Olive oil contains natural antioxidants, phenol substances, which are slowing down the oxidation process. Therefore, it is very important that olive oil is properly processed at the right time with right harvesting technique to save as much as possible the amount of total phenol in oil, thereby achieving better nutritional value and oil resistance to oxidation. It is also known that the quality of olive oil, that is, the share of total phenol depends on the olive variety itself and the area where the harvest is grown. So are the olives growing at higher altitudes and in areas with a high degree of humidity poorer with phenol compounds.

In this paper was investigated oxidative stability of samples of olive oil produced from four varieties of Croatian olives: Oblice, Buhavice, Lastovke and Drobnice in the period of early and late harvest. The oxidation stability of the oil was determined by the Rancimat method in the early and late harvest period, and the total phenols in oils was determined by a rapid spectrophotometric method.

The results show that oxidation stability and the total phenols depend largely on varieties and on the harvest period. It has generally been shown that olive oil obtained from olives during the early harvest is significantly more resistant to oxidation and contains higher amounts of total phenols.

**Keywords:** olives, oxidative stability, phenols, harvest period

**Thesis contains:** 32 pages, 5 figures, 4 tables, 8 supplements, 20 references

**Original in:** Croatian



**Defence committee:**

1. Ph. D. Danijela Skroza
2. Ph. D. Ivana Generalić Mekinić,, assistant professor
3. Ph. D. Tea Bilušić, full professor

**Defence date:** 21 September 2017

**Printed and electronic (pdf format) version of** thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Rad je izrađen na Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Tee Bilušić u razdoblju od travnja do rujna 2017. godine.*

## ZAHVALA

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Tei Bilušić na posvećenom vremenu, strpljenju i uloženom trudu u pomoći oko izrade ovog rada.*

## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Zadatak završnog rada bio je prikupiti uzorke ekstra djevičanskog maslinovog ulja hrvatskih autohtonih sorti – Oblice, Buhavice, Drobnice i Lastovke u ranom (početak listopada 2016.) i kasnom periodu berbe (sredina studenog 2016.) te odrediti njihovu oksidacijsku stabilnost i udio ukupnih fenola u uljima.

## SAŽETAK

Maslinovo ulje je samo po sebi prehrambeno vrijedna i zdrava namirnica, međutim danas postoje maslinova ulja lošije i bolje kvalitete, što ovisi o samom načinu uzgoja masline, berbe i prerade. Nezasićene masne kiseline koje se nalaze u maslinovom ulju, od kojih je najzastupljenija jednostruko nezasićena oleinska kiselina, osjetljive su na djelovanje kisika i povišene temperature. Maslinovo ulje sadrži prirodne antioksidanse, fenolne tvari, koje usporavaju proces oksidacije. Stoga je vrlo važno da se pravilnom preradom maslinovog ulja i pravim trenutkom i tehnikom berbe sačuva što veća količina ukupnih fenola u ulju i time se postigne bolja prehrambena vrijednost i otpornost ulja na oksidaciju. Poznato je također da kvaliteta maslinovog ulja, odnosno udio ukupnih fenola ovisi o samoj sorti masline, području na kojem se uzgaja i periodu berbe. Tako su masline koje rastu na višim nadmorskim visinama i u područjima sa velikom količinom vlage siromašnije sa fenolnim spojevima.

U ovom radu analizirani su uzorci ekstra djevičanskog maslinovog ulja proizvedeni od četiri sorte autohtonih hrvatskih maslina: Oblice, Buhavice, Lastovke i Drobnice u periodu rane i kasne berbe. Analizirana je oksidacijska stabilnost te ukupni fenoli i uspoređene su vrijednosti ovisno o sorti i periodu berbe.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da oksidacijska stabilnost i udio ukupnih fenola uvelike ovise o sorti i o periodu berbe. Općenito je dokazano da je maslinovo ulje dobiveno od maslina u ranom periodu berbe znatno otpornije na oksidaciju i sadrži veće količine ukupnih fenola.

**Ključne riječi:** maslina, oksidacijska stabilnost, fenolni spojevi, period berbe

## **SUMMARY**

Olive oil is a nutritionally valuable and healthy ingredient, however there are olive oil with better and worse quality, which depends on the very way of olive growing, harvesting and processing. Unsaturated fatty acids found in olive oil, the most absorbed single-unsaturated oleic acid, are sensitive to oxygen activity and elevated temperatures. Olive oil contains natural antioxidants, phenol substances, which are slowing down the oxidation process. Therefore, it is very important that olive oil is properly processed at the right time with right harvesting technique to save as much as possible the amount of total phenol in oil, thereby achieving better nutritional value and oil resistance to oxidation. It is also known that the quality of olive oil, that is, the share of total phenol depends on the olive variety itself and the area where the harvest is grown. So are the olives growing at higher altitudes and in areas with a high degree of humidity poorer with phenol compounds.

In this paper was investigated oxidative stability of samples of olive oil produced from four varieties of Croatian olives: Oblice, Buhavice, Lastovke and Drobnice in the period of early and late harvest. The oxidation stability of the oil was determined by the Rancimat method in the early and late harvest period, and the total phenols in oils was determined by a rapid spectrophotometric method.

The results show that oxidation stability and the total phenols depend largely on varieties and on the harvest period. It has generally been shown that olive oil obtained from olives during the early harvest is significantly more resistant to oxidation and contains higher amounts of total phenols.

**Keywords:** olives, oxidative stability, phenols, harvest period

## Sadržaj:

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	3
1.1    Kemijski sastav ploda masline.....	3
1.2    Hrvatske autohtone sorte maslina.....	6
1.2.1    Oblica.....	6
1.2.2    Buhavica.....	7
1.2.3    Lastovka.....	8
1.2.4    Drobnica.....	9
1.3    Utjecaj perioda berbe na kvalitetu maslinovog ulja.....	9
1.4    Postupak prerade maslina.....	11
1.5    Fenolni spojevi iz maslinovog ulja.....	14
2. MATERIJALI I METODE.....	15
2.1    Uzorcji ulja.....	15
2.2    Određivanje oksidacijske stabilnosti maslinovog ulja (Rancimat metoda).....	15
2.3    Postupak ekstrakcije fenolnih spojeva iz maslinovog ulja.....	17
2.4    Određivanje udjela ukupnih fenola u uzorcima maslinovog ulja (Folin-Ciocalteu metoda).....	19
3. REZULTATI.....	21
4. RASPRAVA.....	25
5. ZAKLJUČAK.....	26
6. LITERATURA.....	27
7. PRILOZI.....	29

## UVOD

Maslina (*Olea europaea* L.) je vrsta koja potječe još iz drevnih vremena, pronađena je u arheološkim nalazima koji datiraju još iz samih početaka civilizacije i bila je sastavni dio života ljudi s područja Mediterana. Nalazila se u svim aspektima tadašnjeg života od duhovnog, kulturnog pa sve do gospodarskog. Poznato je da se koristila u religijskim obredima, zatim kao sredstvo plaćanja i glavna prehrambena i zdravstvena namirnica. Također se pojavljuje u narodnim predajama kao simbol snage, mira i ponovnog rođenja.

Razlog takvom štovanju masline krije se u samoj sposobnosti drva masline da uspijeva na škrtom tlu i uz malo vode, kakvo je područje Mediterana. Osim toga postoje brojne zdravstvene prednosti maslinovog ulja u svakodnevnoj konzumaciji čiji je glavni uzrok povoljan kemijski sastav masnih kiselina, visok udio fenola i vitamina topivih u mastima.

Najnovija arheološka istraživanja značajno su promijenila uvriježeno mišljenje da uzgoj maslina u Hrvatskoj započinje dolaskom Grka na ove prostore. Kod Vranjica, mjesta nedaleko Splita, u nedirnutom prapovijesnom sloju pronađene su koštice masline za koje je utvrđeno da potječu iz IX. stoljeća prije Krista, odnosno punih pet stoljeća prije doseljavanja Grka u naše krajeve.<sup>1</sup>

Fenolni spojevi su jedna od najvažnijih skupina sastojaka maslinovog ulja, koji uvelike utječu na njegovu kakvoću, kako organoleptičku, tako na kemijsku i prehrambenu. Utjecaj fenolnih spojeva na kakvoću se očituje u većoj zdravstvenoj vrijednosti ulja koji sadrže veću količinu fenola, te većoj oksidacijskoj stabilnosti. Poznavanje oksidacijske stabilnosti ulja je bitno jer je maseni udio slobodnih masnih kiselina u ulju standardni tržišni pokazatelj hidrolitičkog kvarenja ulja. Slobodne masne kiseline tijekom čuvanja ulja dodatno potiču i hidrolizu aglikona sekoiridoida, glavnih fenolnih sastojaka djevičanskih maslinovih ulja, pri čemu raste koncentracija fenolnih alkohola.

Posljedice porasta koncentracija fenolnih alkohola očitije se u većoj trpkosti, te smanjenoj pikantnosti ulja, tj. ima utjecaj na okusna svojstva maslinovog ulja.<sup>2</sup> Organoleptička svojstva maslinovog ulja se također mijenjaju ovisno o količini fenola, tako imamo pikantna ulja s velikom količinom fenola i blaga ulja s malom količinom fenola.



Cilj ovog istraživanja bio je proučiti utjecaj perioda berbe i sorte na oksidacijsku stabilnost i udio ukupnih fenolnih tvari u uljima dobivenim od plodova četiri autohtone sorte maslina u Dalmaciji: Oblice, Buhavice, Lastovke i Drobnice.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1 Kemijski sastav ploda masline

Plod masline sastoji se od nekoliko osnovnih dijelova, a to su: kožica (epikarp), pulpa (mezokarp) i koštica (endokarp), unutar koje se nalazi sjemenka (endosperm).

*Tablica 1.* Postotak osnovnih dijelova ploda masline u odnosu na ukupnu težinu ploda.<sup>3</sup>

Postotak od ukupne težine ploda	
<b>Epikarp</b>	1,5-3,5 %
<b>Mezokarp</b>	70-81%
<b>Endokarp</b>	11-24,5%

Pulpa je građena od stanica bogatih uljem koje čine najveći i tehnološki najvažniji dio ploda. Za stanicu pulpe karakteristično je nakupljanje ulja u vakuolama, odnosno uljnim mjehurićima s membranama koje ih odvajaju od ostalog vodenog sadržaja citoplazme. U zreлом plodu takve vakuole ispunjavaju preko 80% volumena stanica.<sup>2</sup>

Količina ulja u plodu uvjetovana je sortnim osobinama i vanjskim čimbenicima uzgoja. Kemijski sastav plodova pa tako i ulja ovisi o sorti te o klimatskim i agrotehničkim uvjetima.

Trigliceridi su glavna kemijska komponenta maslinovog ulja. U trigliceridnom dijelu maslinovog ulja masne kiseline zauzimaju značajno mjesto, čak 95%, a uglavnom se sastoje od 16 do 18 ugljikovih atoma. O građi i kemijsko-fizikalnim svojstvima zastupljenih masnih kiselina ovise i kemijska svojstva samog ulja. U maslinovom ulju prisutne su zasićene masne kiseline i u većem udjelu nezasićene masne kiseline.

Upravo je povoljan omjer nezasićenih masnih kiselina u odnosu na zasićene najvažniji čimbenik po kojem možemo kazati da je maslinovo ulje prehrambeno vrijednije od ostalih

biljnih ulja. Najzastupljenija jednostruko nezasićena masna kiselina s parnim brojem ugljikovih atoma u maslinovom ulju je oleinska kiselina (18:1, n-9) koja ima visoku biološku i prehrambenu vrijednost i lako je probavljiva.<sup>3</sup>

**Tablica 2.** Zasićene i nezasićene masne kiseline u maslinovom ulju te njihov postotak.<sup>4</sup>

<b>Zasićene masne kiseline</b>	<b>Postotak (%)</b>	<b>Nezasićene masne kiseline</b>	<b>Postotak (%)</b>
<b>Miristinska (C14:0)</b>	0,0-0,1	<b>Palmitoleinska (C16:0)</b>	0,3-3,0
<b>Palmitinska (C16:0)</b>	5,7-18,6	<b>Oleinska (C18:1)</b>	59,2-83,0
<b>Heptadekanska (C17:0)</b>	0,0-0,2	<b>Linoleinska (C18:2)</b>	3,5-20,0
<b>Stearinska (C18:0)</b>	0,5-4,0	<b>Linolna (C18:3)</b>	0,1-0,6
<b>Arahinska (C20:0)</b>	0,1-0,4	<b>Eikosenoinska (C20:1)</b>	0,1-0,2

U vodenom dijelu citoplazme sadržani su šećeri, organske kiseline, enzimi, fenoli i druge u vodi topljive tvari. Od šećera su najzastupljenije glukoza i fruktoza, dok se saharoza i manitol javljaju u vrlo malim količinama. Od organskih kiselina u plodu masline najzastupljenije su limunska, jabučna i oksalna kiselina, koje se pretežito javljaju u obliku soli, koje pulpi maslina osiguravaju pH u rasponu od 4,5-5.<sup>2</sup>

Plod masline također sadrži mali udio malonske, fumarne, vinske, mliječne, octene kiseline i trikarbonskih kiselina. Organske kiseline dolaze u obliku soli ili kao slobodne kiseline.<sup>3</sup>

Tvari koje su sadržane u negliceridnoj komponenti maslinovog ulja su odlučujući pri utvrđivanju čistoće i eventualnih patvorenja u trgovini maslinovim uljem, jer su upravo one te koje karakteriziraju maslinovo ulje i razlikuju ga od ostalih biljnih ulja. Naime, u navedenih

2% negliceridnih sastojaka nailazimo na tvari koje ulju daju mirise, arome, okuse (gorko, slatko, pikantno) te snažne antioksidanse, prirodne konzervanse i tijelu korisne nutritivne sastojke. U negliceridne komponente, odnosno u neosapunjivi dio spadaju voskovi, skvalen, klorofil, karoteni, steroli, tokoferoli, polifenoli. Od navedenih spojeva možemo izdvojiti fenolne tvari, od kojih je najpoznatiji spoj oleuropein, koji maslinovom ulju daje poseban, pikantan okus, i štiti ulje od oksidacije.<sup>5</sup>

Minerali koji se nalaze u plodu masline su najvećim dijelom natrij i kalcij, zatim kalij, fosfor, željezo, magnezij i cink. Vitamini koji su prisutni su uglavnom vitamini topivi u mastima, od kojih je najprisutniji vitamin E, zatim vitamin K, od manje prisutnih nalazimo vitamin C te vitamine iz skupine B kompleksa (B1, B3 i B6).<sup>6</sup>

Sjemenka masline sadrži u sebi znatan dio ulja (35-40%), no obzirom na njen mali maseni udio u plodu, to ulje predstavlja tek 5-7% od ukupne količine ulja u svježem plodu. Za sjemenku i ulje dobiveno iz sjemenke karakterističan je veći udio tokoferola, prisutnost specifičnih fenolnih tvari, znatno veći dio linolne kiseline i ukupnih sterola, te znatno veća lipoksigenaza i peroksidaza u odnosu na kožicu i pulpu ploda masline.<sup>2</sup>

## **1.2 Hrvatske autohtone sorte maslina**

Hrvatska maslinarska regija podijeljena je u šest uzgojnih podregija: Istra, Hrvatsko primorje i Kvarnerski otoci, Sjeverna Dalmacija, Srednja Dalmacija, Južna Dalmacija i Unutrašnjost Dalmacije. Podregije su izdvojene na temelju specifičnih pedoloških i klimatskih uvjeta koji su rezultirali i različitim sortnim sastavom u pojedinim podregijama. U svakoj podregiji uzgajaju se različite sorte masline.<sup>7</sup>

Danas u Hrvatskoj postoji značajan broj autohtonih sorti maslina i svaka podregija se odlikuje pojedinom sortom. U pogledu strukture u hrvatskoj ima 31 autohtona sorta masline. Najzastupljenije autohtone sorte maslina u Hrvatskoj su Oblica, Drobница, Lastovka, Istarska bjelica, Dužica, Levantinka, Plominka, Buža, Crnica.<sup>8</sup>

### **1.2.1 Oblica**

Oblica spada u autohtone hrvatske sorte koja se primarno koristi za dobivanje ulja, ali se zbog svog krupnog ploda može koristiti i u konzumne svrhe, odnosno za konzerviranje. Na našem području se uzgaja više od 2 000 godina i spada u najbrojniju sortu na hrvatskom uzgojnom području.<sup>9</sup>

Oblica razvija srednje bujno stablo, prirodno stvara krošnju okruglog oblika, tipa kišobrana. List je srednje krupan, dug i širok, eliptičnog oblika s valovitom površinom, sivomaslinaste boje lica. Prosječna dužina osi cvata je oko 3,5 cm i na njoj se može naći od 10 do 35 cvjetova. Plod Oblice je krupan i okrugao. Masa ploda varira od 2,5 do 14,5 grama, uz prosječnu masu oko 5 grama. Oblica neujednačeno dozrijeva pa na stablu nalazimo plodove različite obojenosti od zelene, žute, zlatnožute, ljubičaste do potpuno crne boje. Djelomično je samooplodna sorta, sklona alternativnoj rodosti.<sup>10</sup>

Randman ulja u plodu u fazi optimalne zrelosti (berba sredinom listopada) je oko 14 posto. Ulje je vrhunske kakvoće u kojem se osjeća blaga pikantnost i gorčina koja nije prenaplašena,

ali se zato odlikuje izuzetnom slatkoćom i okusom po zrelom plodu masline. U ulju je prepoznatljiva aroma po jabuci, pokošenoj travi i bademu.<sup>11</sup>

Oblica ima vrlo dobru otpornost na napad raka masline, ali je osjetljiva na napad paunovog oka i maslinine muhe. Veoma je adaptabilna sorta i može se uzgajati na različitim položajima, nagibima i nadmorskim visinama. Uzgaja se posebno na škrtim tlima na kojima ne uspijevaju ostale sorte maslina. Otporna je također i na niske temperature pa se može uzgajati i u unutrašnjosti Dalmacije. Obzirom na njenu brojnost, Oblica je gospodarski najvažnija sorta masline koja zavrjeđuje proizvodnju sortnog maslinovog ulja te ulja koje može dobiti jednu od oznaka zaštite proizvoda: izvornost, zemljopisno porijeklo ili tradicionalni ugled.<sup>7</sup>

### **1.2.2 Buhavica**

Sorta koja se uzgaja na istočnoj strani otoka Brača već više od tri stotine godina ali se širi dalje po Dalmaciji radi svoje redovite i izuzetne rodnosti i kvalitete ulja. Otporna je na sušu i može uspijevati na škrtom tlu.

Krošnja je srednje bujna, okruglog oblika. Osnovne grane rastu pod kutom od 40 stupnjeva, a izbojci su visoki, uspravni i bujni. Plod je krupan, gotovo okruglog oblika prosječne težine od 4,5 grama. Randman je u fazi pune zrelosti oko 14 posto, a boja mesa u punoj zrelosti je gotovo crne boje. Sorta se koristi za mješovite namjene, dakle pogodna je za izradu malinovog ulja ali i za konzerviranje. Ekstra djevičansko maslinovo ulje sorte Buhavica je blagog do srednje izraženog mirisa i okusa po plodu masline, voća, badema, mirisa pokošene trave i aromatičnog bilja. Ulje je zelene do zlatne boje i ima visoki udio antioksidansa.<sup>11</sup>

Buhavica nije uvrštena na Sortnu listu Republike Hrvatske niti postoje registrirana matična stabla ove sorte. Također ne postoji ni proizvodnja sadnog materijala. Uzgoj Buhavice ima veoma dugu tradiciju na istočnom dijelu otoka Brača, dok drugdje nije registriran.<sup>10</sup>

### 1.2.3 Lastovka

Lastovka je autohtona sorta južnog Dubrovačkog primorja, najzastupljenija je na zapadnom dijelu otoka Korčule, oko Vele Luke. Ime je dobila po savijenim mladica pod teretom plodova u obliku luka, koje podsjećaju na krila lastavice. Rasprostranjena je i na području cijele južne i djelomično oko srednje Dalmacije, posebno na srednjodalmatinskim otocima.<sup>11</sup>

Lastovka razvija srednje bujno stablo s piramidalnom krošnjom koja je posljedica uspravnog rasta grana. U prirodnim formama kut grananja je oštar, a mladi izbojci su uspravnog i bujnog rasta te kratkih internodija zbog čega krošnja izgleda veoma gusto. List je sitan, uzak i kratak, kopljastog izgleda, tamnozeleno boje lica. Cvate obilno, a u jednom cvatu ima od 20 do 25 cvjetova. Plod Lastovke je eliptično izdužen, a neki ga autori nazivaju bačvastim. Plod je srednje krupan, prosječne mase 3,0 g, a ako je manji rod plod postiže masu i 5,5 g. Intenzivno je zelene boje, a što je bliže puna zrioba poprima blijedozelenu boju koja u konačnici prelazi u crnu. Lastovka je izrazito samooplodna sorta, radi čega rađa redovito i obilno.<sup>7</sup>

Gospodarski je veoma vrijedna sorta zbog visokog udjela i odlične kvalitete ulja. Randman ulja se kreće od 16 % do 24 %, ulje je zelenkasto-žute boje sa izraženom gorčinom koja potječe od visoke količine polifenola, koja je posebno naglašena u sušnijim godinama i u periodu rane berbe.<sup>9</sup> Lastovka je od svih sorti najotpornija na sušu, ali je osjetljiva na niske zimske temperature i napad raka masline. Kupažirano ulje sorti Lastovke, Oblice i Drobnice jedno je od prepoznatljivih proizvoda otoka Korčule, a posebno mjesta Blata gdje se ove tri sorte uzgajaju u konsocijaciji. Ulje je prepoznatljivo po osebujnoj boji, mirisu i okusu.<sup>10</sup>

#### **1.2.4 Drobnica**

Drobnica je autohtona hrvatska sorta masline. Uzgaja se na cijelom uzgojnom području, a posebno na području Zadra, Korčule i poluotoka Pelješca. Na području otoka Korčule postoje veoma stara stabla i smatra se najstarijom sortom masline u ovim prostorima.<sup>12</sup>

Razvija srednje bujno stablo s granama uspravnog rasta u odnosu na os stabla. List je sitan, kratak i uzak te na vrhu zašiljen, tamnozeleno boje lica. Cvat je kratak, dužine oko 12 mm s prosječno 12 cvjetova u cvatu. Ova sorta ima veliku produkciju polena koji je dobre vijabilnosti radi čega se može koristiti kao dobar oprašivač. Plod je sitan, prosječne mase 2,5 g, eliptičnog oblika. Uoči zrenja je zelene boje koja postupno prelazi u ljubičastu i na kraju u crnu boju. Plod ima tanku kožicu koja se teško odvaja od mesa ploda. Drobnica ima visok postotak samooplodnih cvjetova i redovito rodi.<sup>7</sup>

Uglavnom se uzgaja kao uljarica. Ulje je odlične kvalitete, izražene pikantnosti, ali s blagim intenzitetom gorčine i pomalo slatkastog voćnog okusa.<sup>11</sup> Značajna je njena dobra tolerantnost na sušu i snažne vjetrove, što je jedan od razloga velike rasprostranjenosti Drobnice. Potrebno je istaknuti dobru otpornost na napad paunovog oka i raka masline. Nedostatak ove sorte je sitan plod radi kojeg je otežana berba, što se danas može jednostavno riješiti primjenom suvremenih pomagala za berbu masline.<sup>7</sup>

### **1.3 Utjecaj perioda berbe na kvalitetu maslinovog ulja**

Jedan od najvažnijih čimbenika u proizvodnji i preradi ulja je postupak koji prethodi preradi, a to je branje maslina. Odluka o vremenu berbe značajno utječe na kvalitetu i okus ulja. Najcjenjenije ulje, prijatnog i svježeg okusa po plodu masline stari su Rimljani nazivali *ex albis ulivis* (od svijetlih maslina) a dobivalo se pri ranoj berbi kada se boja ploda mijenjala iz zelene u zeleno-žutu. Fenolni sastojci koji ulju daju okus i miris, sa zriobom masline se smanjuju, stoga je vrlo važno pratiti proces zriobe i pravovremeno donijeti odluku o berbi kada je razina polifenola u svježem plodu masline najviša.<sup>10</sup>



Među najvažnijim fenolnim spojevima je i oleuropein, fenolni glikozid tipičan za maslinu. On je odgovoran za gorak okus nezrelog ploda masline koja ga sadrži oko 2 % (od težine svježeg ploda). Kako plodovi dozrijevaju tako se smanjuje udio oleuropeina u njima, a oni time postaju manje gorki.<sup>3</sup>

Dosadašnja istraživanja pokazala su da na sastav i udio sterola, triterpenskih diola te alifatskih i triterpenskih alkohola utječe veći broj faktora (agronomski, zemljopisni, tehnološki), a utjecaji sorte i stupnja zrelosti (vremena berbe) su među najznačajnijima. Pokazano je da varijabilnost u udjelu određenih važnih sastojaka maslinovog ulja zbog utjecaja sorte i stupnja zrelosti može doseći iste razmjere, što upućuje na to da je od presudne važnosti uzeti u obzir i stupanj zrelosti plodova maslina kada se istražuju profili kemijskih spojeva u svrhu karakterizacije sorti maslina.<sup>13</sup> Stupanj zrelosti plodova masline značajno utječe na prinos ulja. Tako prinos može biti veći za 7-10 % kod napola obojenih plodova nego kod zelenih, a isto tako kod posve crnih u odnosu na polovično obojene plodove, što je posljedica koncentriranja ulja u plodu i sve većeg gubitka vode. Maksimalni prinos se postiže kod optimalne zrelosti ploda, a ona je otprilike postignuta kad su plodovi koji su najizloženiji suncu potpuno prekriveni crvenkasto-plavkastom bojom. U tom razdoblju plodovi masline sadrže maksimalnu količinu i najbolju kakvoću ulja, a udio fenola i hlapivih tvari u optimalnom su omjeru. Prerana ili prekasna berba imaju negativan utjecaj na kvalitetu i kvantitetu ulja.

Tijekom starenja triacilgliceroli podliježu hidrolizi, te se povećava kiselost. Ustanovljeno je da za vrijeme dok su plodovi ostavljeni na maslini, triacilgliceroli iz maslinova ulja prolaze postepenu hidrolizu, te su peroksidna vrijednost i UV absorbancija povišeni. Otkriveno je da ranije ubrani plodovi bolje podnose skladištenje od kasnije ubranih plodova. Ulja ranije ubranih plodova prolaze minimalnu hidrolizu i oksidativnu degradaciju, te sadrže visoke količine fenolnih tvari.<sup>3</sup>

Stoga je vrlo važno odabrati povoljan trenutak za berbu maslina, koji je okvirno govoreći sredinom listopada, kada masline počinju mijenjati boju iz svjetlo zelene ka svijetlocrvenoj i ljubičastoj.

## 1.4 Postupak prerade maslina

Ulje se najvećim dijelom nalazi slobodno u staničnim vakuolama ploda masline i lako se izlučuje mehaničkim i drugim fizikalnim postupcima. Preostali je dio ulja raspršen u koloidnom sustavu citoplazme, teško se izlučuje i u pravilu se gubi pomiješano s kominom i u vegetabilnoj vodi. Prerada maslina se sastoji od sljedećih postupaka: čišćenja i pranja plodova, odvajanja lišća, mljevenja, miješanja tijesta, odvajanja čvrstog od tekućeg dijela, separacije uljnog mošta na ulje i vodu. Svrha je tih postupaka da se na odgovarajući način izvrši priprema maslinova tijesta, te da se iz njega izluči ulje.<sup>3</sup>

Prerada započinje tako da se masline iz prijemnog lijevka podižu do nivoa odlišćivača, gdje ih struja zraka usisnog ventilatora, putem plastična cijevi, oslobađa od zaostalih listova dopremljenih zajedno sa ubranim maslinama i odvodi ih van prostora uljare. Odlišćene masline padaju u perilicu čiji je zadatak da operu masline od svih anorganskih nečistoća, ostataka zemlje i eventualnog kamenja. Pranje se vrši vodom obogaćenom zračnim mjehurićima, čime se višestruko povećava efekt čišćenja površine masline. Eventualne zaostale nečistoće ispiru se na tušu sa čistom vodom na samom izlazu maslina iz peračice.<sup>14</sup>

Oprane masline prihvaća horizontalni transporter maslina čiji je zadatak da premosti prostor od peračice do elevatora maslina koji ih podiže do prihvata elektro mlina gdje se masline melju. Cilj drobljenja i usitnjavanja ploda prvenstveno je osloboditi kapljice ulja iz vakuole i tako omogućiti njihovo izdvajanje u kasnijim fazama prerade. To teoretski znači da je za djelotvorniju ekstrakciju ulja nužno u što većoj mjeri razoriti staničnu strukturu ploda. Tijekom mljevenja može se javiti i neželjena pojava stvaranje emulzije. Dakle mljevenje treba provesti na način da se iz pulpe oslobodi što više ulja, a da se ono pri tome što manje rasprši u sitne kapljice i što manje dovodi u stanje emulzije. Usitnjavanje ploda moguće je provesti različitim izvedbama kamenih mlinova ili mlinova sa rotirajućim metalnim dijelovima (čekićima, diskovima ili konusnim valjcima).

Sljedeća operacija nakon mljevenja je miješanje. Cilj operacije je da se u što većoj mjeri razbije emulzija i kapljice ulja ujedine do promjera većih od 30  $\mu\text{m}$ , kada ih je moguće izdvojiti u daljnjem postupku ekstrakcije. Miješanje se uobičajeno odvija u seriji od dva do tri spremnika s metalnim mješačima i s plaštem kroz koji struji topla voda. Sporo miješanje mase

izaziva razbijanje preostalih cijelih stanica pod utjecajem lipoproteinske membrane i spajanje manjih u veće kapljice ulja. Tvari koje su se iz vakuola i mikrosomskih membrana oslobodile tijekom mljevenja, sad imaju priliku za raspodjelu između vodene i uljne faze, te za međusobne reakcije. Za kakvoću ulja najvažnije je ono što se tijekom miješanja događa sa pigmentima, triacilglicerolima i masnim kiselinama, fenolnim tvarima i enzimima.<sup>2</sup>

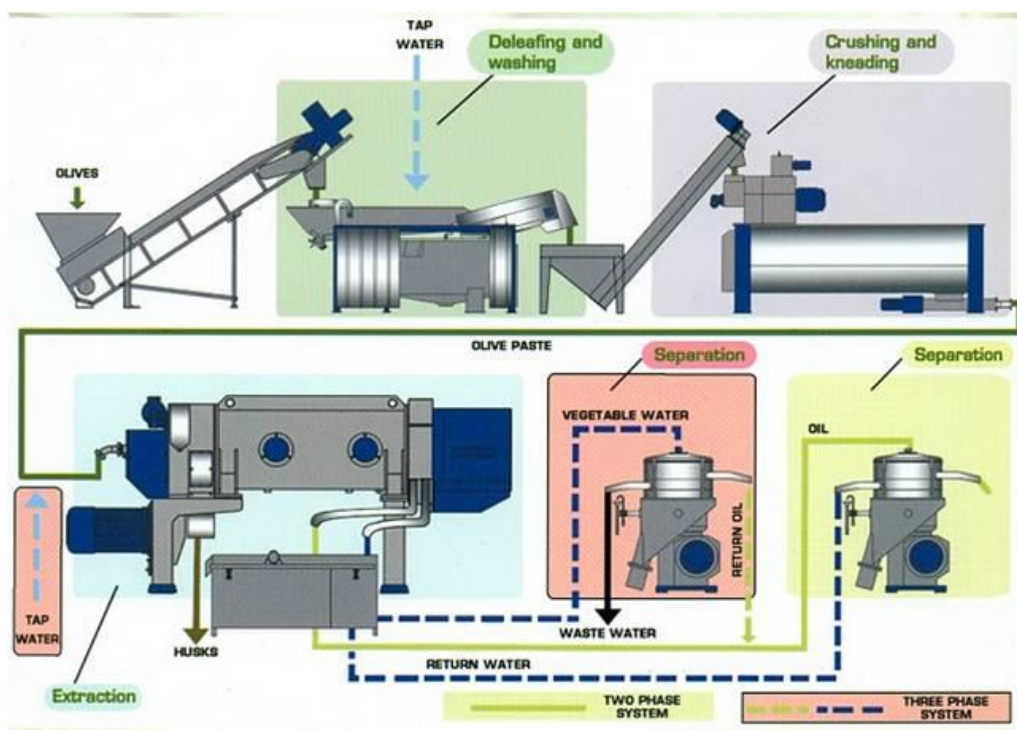
Nakon miješanja tijesto odlazi pomoću cijevi u dekanter. U ovom dijelu procesa razlikujemo tri vrste rada pogona za preradu maslina. Ovisno o tome koliko se faza javlja razlikujemo takozvani rad u 3, 2 i 2,5 faze. Kod rada u tri faze dekanter putem odgovarajućih adaptera u svojoj unutarnjoj konstrukciji vrši separaciju pristiglog tijesta na fazu komine, fazu vegetativne vode i fazu ulja. U ovakvom sistemu rada stroj mora za ispravan rad koristiti do 40 % dodatne higijenske vode. Empirijskim poznavanjem sastava ploda masline znamo da u istoj ima oko 20 % krute tvari, 60 % vegetativne vode i 20 % ulja. Slijedom rečenog znači da kao otpad iz uljare imamo 20-30 % vlažne krute tvari te 90-100 % otpadne vegetativne vode (60 % vegetativne vode i 40 % dodane vode). Otpadna voda iz procesa prerade u sebi sadrži fenolne spojeve, povišenu razinu kiselosti kao i mikro plutajuće čestice obogaćene masnoćom. Ovu vodu potrebno je stabilizirati u otpadnoj separacijskoj jami koja će svojom konstrukcijom omogućiti taloženje čestica, odvajanje masnoća koje će isplivati na površinu, i osigurati dovoljno vremena da fenolni spojevi ishlape u atmosferu. Najbolje i jedino ispravno rješenje problema otpadne vode je transport na komunalni pročišćavač otpadnih voda koji bi istu vodu preradio i biokemijski, i kao takva bi postala prihvatljiva za odlaganje u prirodu.

Kod rada u 2,5 faze potrošnja dodatne higijenske vode pada za 50 % u odnosu na rad u tri faze, tj. na 100 kg tijesta ide 20 L vode. Ovakvim sistemom prerade je postignut određeni kompromis u odnosu na potrošnju higijenske vode i kapaciteta prerade stroja, koji je u ovom slučaju nešto manji i tehnički zahtjevniji. Primjenjuje se na područjima gdje je još uvijek moguće riješiti otpadnu vodu.

Rad u dvije faze se sastoji od faze komine i vegetativne vode zajedno, te faze ulja. Kod ovog sistema prerade ne koristi se dodatna voda što svakako pogoduje očuvanju fenolnih spojeva koji su topivi u vodi. Ulje sa većim postotkom polifenola ima višestruko veću

zdravstvenu vrijednost. Otpadna vegetativna voda odlazi zajedno sa kominom, koja tako obogaćena sa otprilike 60 % vode daleko bolje i lakše fermentira i pretvara se u vrlo vrijednu sirovinu za ogrjev ili sredstvo za poboljšanje kvalitete tla. Gledano na opremu uljare također postoji ušteda jer nije potreban separator za otpadnu vodu dekantera.<sup>14</sup>

U procesu prerade maslina mogu se izazvati promjene kemijskog sastava ulja, a osobito sastojaka negliceridnog dijela, koji su zastupljeni u malim količinama, ali su vrlo značajni za kakvoću ulja i imaju veliku biološko-prehrambenu vrijednost. Mehanički postupci pri preradi maslina izazivaju niz unutrašnjih reakcija između faze voda-ulje i čvrstih sastojaka, tako da mogu uzrokovati različite učinke poput nemogućnost izlučivanja cjelokupne količine ulja iz vakuola, kemijske promjene sastojaka ili pojave razgradnje ulja. Postrojenja za preradu maslina su usavršena tako da su spomenuti negativni učinci svedeni na najmanju moguću mjeru.<sup>3</sup> Slika 1. prikazuje shemu suvremenog postrojenja za proizvodnju maslinovog ulja.



Slika 1. Shema suvremenog postrojenja za proizvodnju maslinovog ulja<sup>15</sup>

## 1.5 Fenolni spojevi iz maslinovog ulja

Fenolni spojevi su prirodni antioksidansi prisutni u maslinovom ulju koji utječu na konačnu procjenu kvalitete pojedinog maslinovog ulja. To su bioaktivni spojevi koji imaju izraženu antioksidacijsku aktivnost i značajno utječu na oksidacijsku stabilnost, ali i na njegova senzorska svojstva.<sup>16</sup> Fenoli su ciklični ugljikovodici kod kojih je hidroksilna grupa direktno vezana za aromatsku jezgru. S obzirom na broj hidroksilnih grupa razlikujemo mono-, di- i polihidroksilne fenole. Prema građi molekule dijele se na jednostavne (hidroksitirozol, tirozol, vanilinska kiselina) i složene (oleuropein, apigenin i luteolin). Od svih uljarica masline su najbogatije fenolnim tvarima, koje se većinom nalaze u tzv. vegetacijskoj vodi ploda. Sadržaj ukupnih fenola u maslinovom ulju izražava se u mg galne kiseline po litri ulja. Ekstra djevičansko maslinovo ulje sadrži značajnu količinu polifenola 50- 500 mg/kg.<sup>17</sup>

Proučavanja antioksidativnog djelovanja fenolnih spojeva pokazala su da poli- i difenoli, kao što su oleuropein i hidroksitirozol imaju veću antioksidativnu aktivnost od monofenola (npr. tirozola). Također je otkriveno da su hidroksitirozol i tirozol, kao i njihovi derivati, djelomično odgovorni za pikantan i gorak okus koji ponekad može biti dominantan u djevičanskom maslinovom ulju.<sup>18</sup> Fenolne tvari štite od oksidacije nezasićene masne kiseline koje se nalaze u sastavu triacilglicerola maslinovog ulja. Utvrđeno je i sinergističko djelovanje polifenola i  $\alpha$ - tokoferola (vitamina E) na stabilnost maslinovog ulja. Oleuropein je glavni polifenolni spoj koji maslinovom ulju daje karakterističnu pikantnost. Hidroksitirozol, koji nastaje razgradnjom oleuropeina, sprječava oksidaciju lipoproteina niske gustoće (LDL). Poznato je da antioksidativno djelovanje hidroksitirosola pet puta veće od djelovanja vitamina E.<sup>17</sup>

Na količinu polifenola u maslinovom ulju utječu mnogi parametri kao što su stupanj zrelosti ploda, sorta masline, nadmorska visina, opskrbljenost vodom, postupci ekstrakcije ulja, uvjeti skladištenja te rafiniranje.<sup>19</sup>

## **2. MATERIJALI I METODE**

### **2.1 Uzorci ulja**

Uzorci ekstra djevičanskog maslinovog ulja sorti Oblice, Drobnice, Lastovke i Buhavice sakupljeni su i prerađeni u ranom periodu berbe (zeleni plodovi, početak listopada 2016.) i u kasnom periodu berbe (zreli plodovi, kraj prosinca, 2016.). Uzorci su sakupljeni na području otoka Brača (selo Selca, sorta Buhavica), otoka Korčula (mjesto Vela Luka, sorte Lastovka i Drobница) te na području Kaštela (sorta Oblica). Plodovi su brani ručno i odmah su prerađeni na Institutu za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu na mini-pogonu Abencor (MC2, Ingenierias y Sistemas, Sevilla, Spain). Uvjeti prerade bili su sljedeći: temperatura malaksacije 26 °C tijekom perioda od 35 min, centrifuga pri 3000 rpm i potom filtracija. Nakon prerade, uzorci su pohranjeni u tamnim staklenim bocama pri temperaturi od 18 do 20 °C do daljnjih analiza.

### **2.2 Određivanje oksidacijske stabilnosti maslinovog ulja (Rancimat metoda)**

Oksidacijska stabilnost ispitivanih maslinovih ulja određena je testom ubrzane oksidacije ulja koristeći Rancimat test (ISO 6886:1996). Ovaj test temelji se na ubrzanom kvarenju ulja pri povišenim temperaturama uz konstantan dovod zraka određene brzine protoka u uzorak ulja. Indukcijski period (IP) oksidacije ulja određuje se na osnovi količine izdvojenih kratko lančanih hlapljivih organskih kiselina, uvedenih u demineraliziranu vodu te mjerenjem porasta vodljivosti indirektno se prati tijek oksidacijskog kvarenja ulja. Dobivena vrijednost indukcijskog perioda (vrijeme u satima) ukazuje na otpornost ispitivanog ulja prema oksidaciji. Ako je vrijednost indukcijskog perioda veća tada je veća i oksidacijska stabilnost ili održivost ulja. Korišten je automatski uređaj za određivanje oksidacijske

stabilnosti ulja Rancimat model 743 (Metrohm, Švicarska), kod uvjeta rada: masa uzorka ulja 3,0 g, temperatura 120 °C, protok zraka 20 L/h. Dobiveni rezultat je izražen kao indukcijski period (IP) u satima. Vrijeme indukcije (indukcijski period) predstavlja broj sati potreban da analizirano ulje dostigne vrijednost peroksidnog broja od 5 mmol O<sub>2</sub> /kg. Slika 2. prikazuje Rancimat uređaj.



*Slika 2.* Rancimat uređaj

### 2.3 Postupak ekstrakcije fenolnih spojeva iz maslinovog ulja

Za ekstrakciju fenolnih spojeva iz maslinovog ulja se odvažuje 2 g ulja u epruvetu. U epruvetu s uzorkom se doda 1,0 mL *n*-heksana i 2,0 mL smjese MeOH/H<sub>2</sub>O (v/v 60/40). Smjesa se vorteksira 2 minute pri 2000 okretaja u minuti, a nakon toga se centrifugira 3 minute (3000 okretaja u minuti). Iz dobivene smjese odvoji se donji sloj metanola u drugu epruvetu te ponovi ekstrakcije gornjeg sloja dodatkom novih 2,0 mL MeOH/H<sub>2</sub>O. Donji metanolni sloj se ponovo odvoji i spoji s prethodnim. Fenole ekstrahirane iz uzorka ulja koji se nalaze u metanolnom ekstraktu potrebno je dodatno pročistiti dodatkom 2,0 mL *n*-heksana. Smjesa se ponovo vorteksira (1 minutu pri 2000 okretaja u minuti), a zatim se centrifugira (3 minute pri 3000 okretaja u minuti). Gornji heksanski sloj se odvoji te se ekstrakcija ponovi dodatkom novih 2,0 mL *n*-heksana. Gornji sloj heksana se ponovo odbaci. Metanolni ekstrakt se prebaci u tikvicu za uparavanje uz ispiranje metanolom i upari do suha na rotacijskom vakuum uparivaču pri 35°C. Upareni uzorak se otopi u 2,0 mL metanola i prebaci u tamnu bočicu u kojoj se čuva na temperaturi -20°C do analiza. Slika 3. prikazuje rotacijski vakuum uparivač koji služi za potpuno uklanjanje metanola.





*Slika 3.* Rotacijski vakuum uparivač koji služi za potpuno uklanjanje metanola

## 2.4 Određivanje udjela ukupnih fenola u uzorcima maslinovog ulja (Folin-Ciocalteu metoda)

Određivanje ukupnih fenola u uzorcima ulja provedeno je prema metodi Singleton i Rossi (1965).<sup>20</sup>

### *Postupak:*

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetira se 1 mL uzorka (ukoliko se po boji zaključuje, da je bogat fenolima, može se razrijediti u omjeru 1:10), a dodaje se potom 60 mL destilirane vode i 5 mL Folin-Ciocalteu reagensa (reagens se prethodno priprema na način da se napravi razrjeđenje 1 dio reagensa i 2 dijela destilirane vode). Smjesa se dobro promućka i u intervalu od 30 sekundi do 8 minuta dodaje se još 15 mL natrijevog karbonata ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) i nadopuni do oznake destiliranom vodom. Otopina se ostavi da odstoji 2 sata na sobnoj temperaturi, a potom se izmjeri absorbancija na 765 nm. Iz baždarne krivulje očita se vrijednost ukupnih fenola izraženih kao ekvivalenti galne kiseline (GAE). U slučaju kada je uzorak razrijeđen, rezultat se pomnoži s faktorom razrjeđenja.

### *Priprava standardne otopine galne kiseline:*

Standardna otopina galne kiseline se priprema miješanjem 0,5 g galne kiseline s cca 10 mL 96 % -tnog etanola, a smjesa se otopi u tikvici od 100 mL u destiliranoj vodi. Iz tikvice se uzima po 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL i 10 mL otopine i otpipetira u odmjernu tikvicu od 100 mL, dodaje se 60 mL vode i 5 mL prethodno pripremljenog Folin-Ciocalteu reagensa. Otopina se potom dobro promućka i u intervalu od 30 sekundi do 8 minuta u tikvicu se dodaje još 15 mL natrijevog karbonata ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) i nadopuni do oznake destiliranom vodom. Ostavi se da odstoji 2 sata na sobnoj temperaturi i zatim se očita absorbancija na 765 nm. Odmjerna tikvica bez uzorka je slijepa proba i služi za određivanje nule na spektrofotometru.

### *Reagensi:*

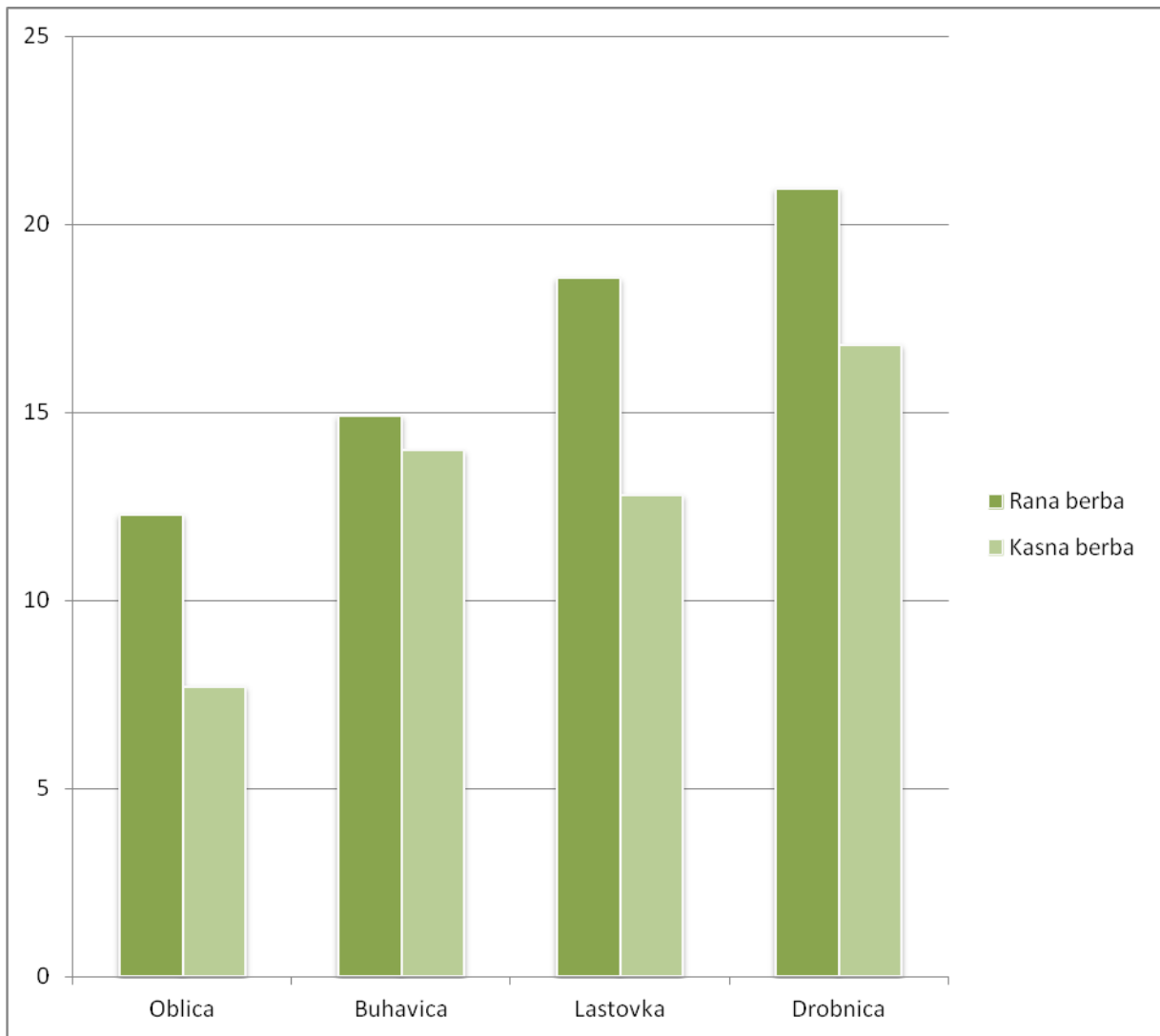
- 20 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 20 %-tna otopina  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  priprema se tako da se otopi 200 g bezvodnog  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  u 800 mL destilirane vode i stavi se malo zagrijati. Otopina se

potom ohladi na sobnu temperaturu, doda se malo kristalića  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  i ostavi da se taloži 24 h. Nakon toga se filtrira i nadopuni do volumena 1 L.

### 3. REZULTATI

**Tablica 3.** Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja pri temperaturi od 120 °C prikazana kao induksijski period

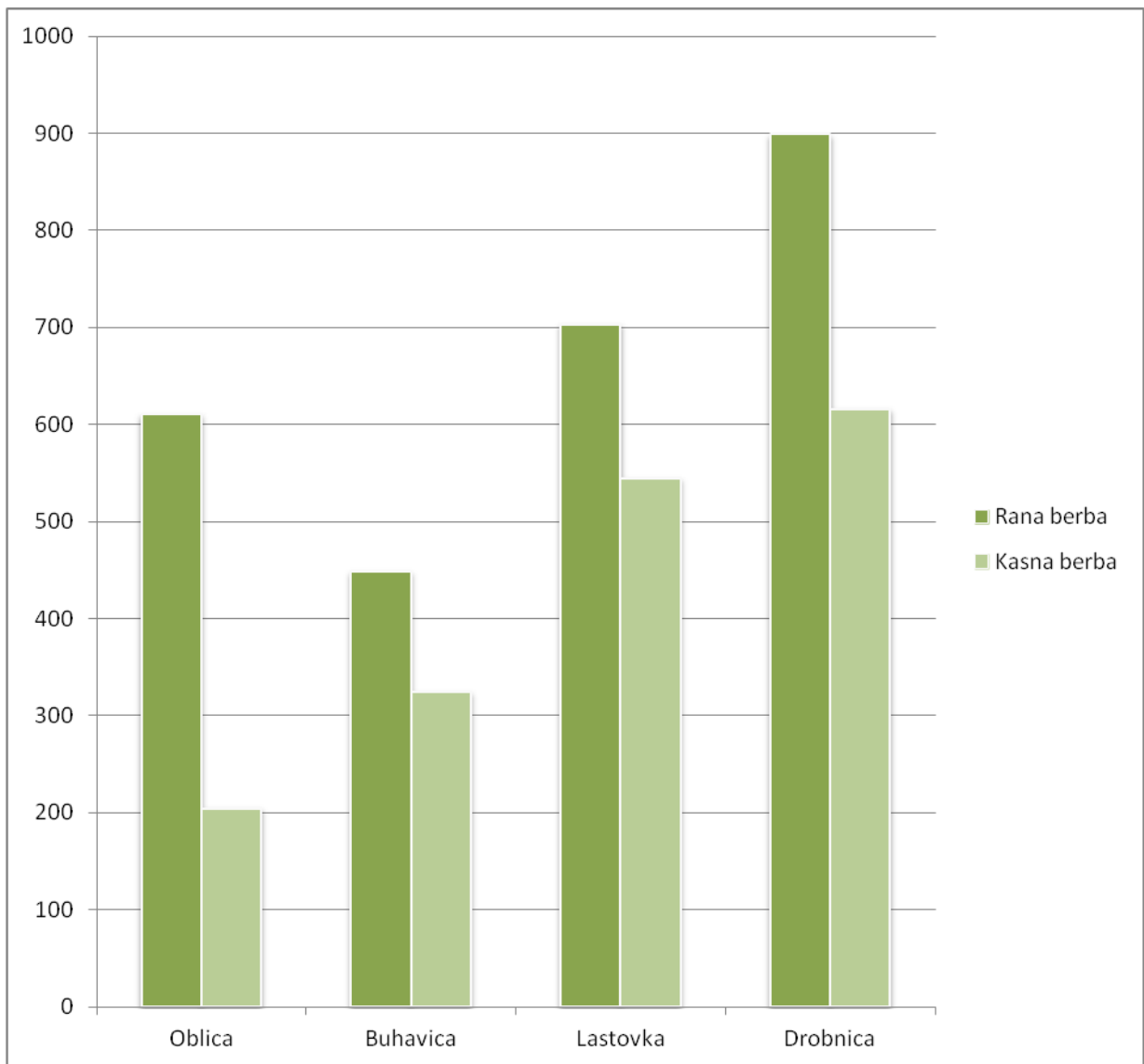
<b>Sorta masline</b>	<b>Indukcijski period (vrijeme u satima)</b>
<i>Rana berba</i>	
Oblica	12,28 ± 0,01
Buhavica	14,90 ± 0,11
Lastovka	18,56 ± 0,46
Drobnica	20,95 ± 0,31
<i>Kasna berba</i>	
Oblica	7,72 ± 0,01
Buhavica	13,98 ± 0,28
Lastovka	12,80 ± 0,40
Drobnica	16,79 ± 0,09



**Slika 4.** Usporedba oksidacijske stabilnost maslinovog ulja izražene u satima za rani i kasni period berbe

**Tablica 4.** Udio ukupnih fenola u maslinovom ulju izraženih kao mg/L galne kiseline (GAE)

<b>Sorta masline</b>	<b>Udio ukupnih fenola (mg/L GAE)</b>
<i>Rana berba</i>	
Oblica	610,36 mg/L GAE ± 18,45
Buhavica	448,27 mg/L GAE ± 17,85
Lastovka	703,29 mg/L GAE ± 20,55
Drobnica	898,65 mg/L GAE ± 24,78
<i>Kasna berba</i>	
Oblica	204,33 mg/L GAE ± 21,38
Buhavica	324,19 mg/L GAE ± 16,56
Lastovka	544,36 mg/L GAE ± 15,66
Drobnica	615,64 mg/L GAE ± 22,47



**Slika 5.** Usporedba udjela ukupnih fenola izraženih u mg/L GAE za rani i kasni period berbe

## 4. RASPRAVA

Maslinovo ulje je jako vrijedan prehrambeni proizvod koje u svom sastavu sadrži brojne komponente koje ga čine specifičnim i zasigurno jednim od najzdravijih biljnih ulja. Sve te komponente koje se nalaze u ulju ovise o samoj sorti ali i o periodu berbe maslina.

U ovom radu uspoređen je utjecaj sorte i vremena berbe plodova autohtonih hrvatskih sorti maslina- Oblice, Buhavice, Lastovke i Drobnice.

Dobiveni rezultati oksidacijske stabilnosti prikazani su tablicom br. 3 i slikom 4. izraženi kao indukcijsko vrijeme (u satima). Oksidacijska stabilnost urađena je u cilju pronalaženja veze između kemijskog sastava ulja, perioda berbe i stupnja njegove degradacije pod ubrzanim uvjetima. Kako je vidljivo iz rezultata oksidacijska stabilnost uvelike ovisi o sorti i periodu berbe. U periodu rane berbe najbolju otpornost prema oksidaciji pokazala je Drobница, sa indukcijskim vremenom od  $20,95 \pm 0,31$  sati, dok je najlošiji rezultat vidljiv kod Oblice od  $12,28 \pm 0,01$  sati. Uočava se također i značajno smanjenje oksidacijske stabilnosti u periodu kasne berbe u odnosu na ranu berbu. Uzrok tome je razgradnja fenolnih spojeva koji štite nezasićene masne kiseline od procesa oksidacije.

Rezultati za ukupne fenole su prikazani tablicom br. 4 i slikom 5. te su izraženi kao mg/L GAE. Udio ukupnih fenola izravno je vezan za sortu i period berbe te se odražava na oksidacijsku stabilnost maslinovog ulja. Upravo kao i za oksidacijsku stabilnost kod perioda rane berbe, Drobница je pokazala najveći udio ukupnih fenola od  $898,65 \text{ mg/L GAE} \pm 24,78$ , dok je najmanji udio uočen kod Buhavice od  $448,27 \text{ mg/L GAE} \pm 17,85$ .

Vidljivo je kako se udio ukupnih fenola višestruko smanjio kod maslinovog ulja kasne berbe što je svakako posljedica razgradnje fenolnih spojeva na sastavne dijelove.



## 5. ZAKLJUČAK

- Udio ukupnih fenolnih tvari u maslinovom ulju ovisi o sorti masline i o periodu berbe plodova. Potrebno je pronaći optimalno vrijeme berbe kada plod masline sadrži najveću količinu ukupnih fenola. U ovom radu je uočeno da je period rane berbe (početak listopada) značajno povoljniji od perioda kasne berbe (kraj prosinca). Od ispitivanih sorti najveći udio ukupnih fenola u maslinovom ulju rane berbe imala je Drobnica, a najmanji Buhavica. Kod perioda kasne berbe najveći udio fenola je također uočen kod Drobnice, dok je najmanji kod Oblice.

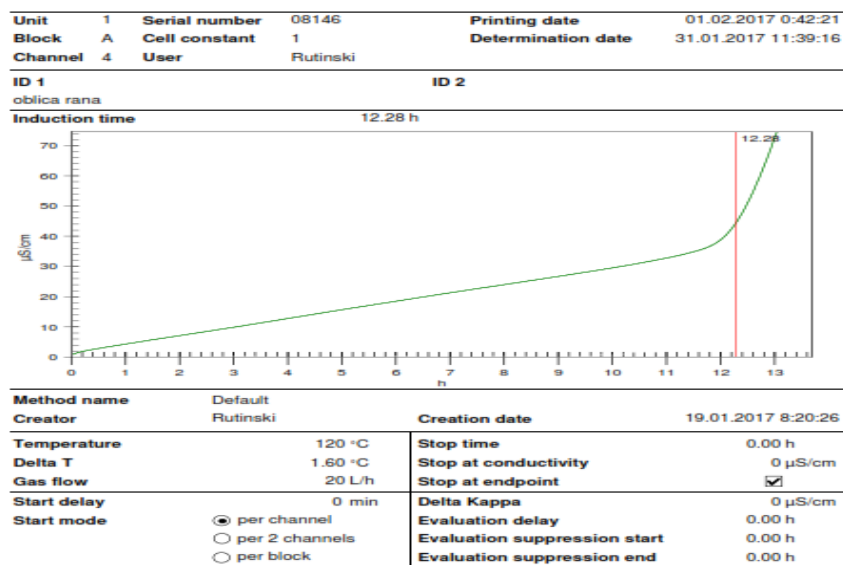
- Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja također ovisi o sorti masline za koju je vezan kemijski sastav i o periodu berbe koja uvjetuje količinu ukupnih fenola. Oksidacijska stabilnost je to veća što je veći udio ukupnih fenola jer upravo oni štite maslinovo ulje od oksidacije. Najveću oksidacijsku stabilnost u oba perioda berbe je postigla Drobnica, dok je najmanju postigla Oblica.

## 6. LITERATURA

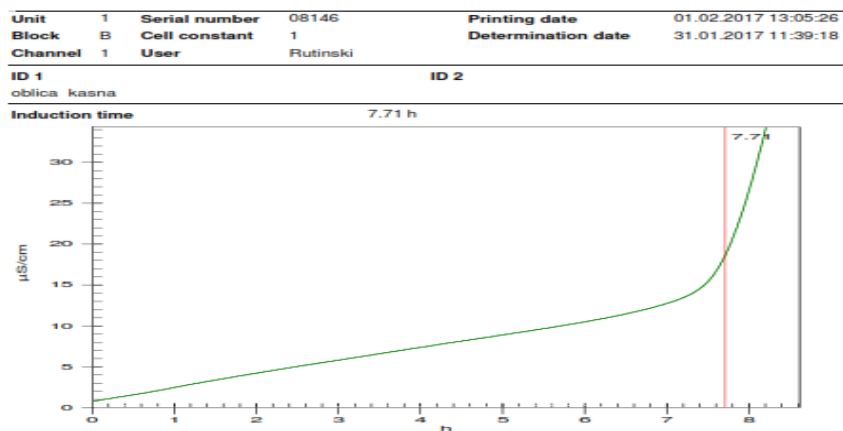
1. *Gugić, J., Tratnik, M., Strikić, F., Gugić, M. & Kursan, P.*, Pregled stanja i perspektiva razvoja hrvatskoga maslinarstva, *Pomologia Croatica* : Glasilo Hrvatskog agronomskog društva **16**, Hrvatsko agronomsko društvo, (2011).
2. *Tolić, D.*, Utjecaj lokacije maslinika i dodatka antioksidansa na oksidacijsku stabilnost ulja maslina sorte Oblica, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, (2015).
3. *Ročak, T.*, Osnovne kemijske analize kakvoće istarskih maslinovih ulja, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski Fakultet, (2005).
4. [https://bs.wikipedia.org/wiki/Maslinovo\\_ulje](https://bs.wikipedia.org/wiki/Maslinovo_ulje) (Pristupljeno: 14.9.2017.)
5. <http://www.istrianoil.eu/hr/ulje-balija/kusanje/kemijski-sastav/> (Pristupljeno: 14.9.2017.)
6. <http://www.rpasd.hr/index.php/zdravlje/item/238-zdravstvena-vrijednost-maslina>. (Pristupljeno: 14.9.2017.)
7. *Nikolić, T., Mitić, B., Ruščić, M., Milašinović, B.*, Diversity, knowledge and spatial distribution of the vascular flora of Croatia, *Plant Biosyst. - An Int. J. Deal. with all Asp. Plant Biol.* **148**, 591–601, (2014).
8. <http://www.oleacult.com/hr/footer/hrvatske-maslinarske-sorte-2>. (Pristupljeno: 14.9.2017.)
9. *Barbarić, M., Raič, A., Karačić, A.*, Priručnik iz maslinarstva, Federalni agromediteranski zavod mostar, (2005).
10. <http://www.oio-vivo.com/kvaliteta-maslinovo-ulje> (Pristupljeno: 13.9.2017.)
11. *Bulimbašić, S.*, Sorte maslina u Hrvatskoj, *Mediterranska poljoprivredna knjiga*, 17-19, 30-31, 52-54, 66-68, (2011).
12. <http://botanickivrh.hr/drobnica/> (Pristupljeno: 14.9.2017.)
13. [http://razmjena.ptfos.hr/PTF/Radna\\_tijela/Fakultetsko\\_vijece/Akadska\\_11.-12./VI\\_sjednica\\_Fakultetskog\\_vijeća\\_ak.11.-12/Materijali/Prilog\\_tocka\\_9/Marina\\_Lukić\\_-\\_Obrazloženje\\_teme\\_doktorskog\\_rada.pdf](http://razmjena.ptfos.hr/PTF/Radna_tijela/Fakultetsko_vijece/Akadska_11.-12./VI_sjednica_Fakultetskog_vijeća_ak.11.-12/Materijali/Prilog_tocka_9/Marina_Lukić_-_Obrazloženje_teme_doktorskog_rada.pdf) (Pristupljeno: 14.9.2017.)

14. <https://www.baldasar.hr/clanci/item/opis-tehnoloskog-procesa-proizvodnje-maslinovog-ulja.html> (Pristupljeno: 13.9.2017.)
15. <https://www.oliveoiltimes.com/features/pieralisi-monte-schiavo/2759> (Pristupljeno: 14.9.2017.)
16. *Žanetić, M., Škevin, D., Vitanović, E., Jukić Špika, M., Perica, S.*, Ispitivanje fenolnih spojeva i senzorski profil dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja, *Pomologia Croatica: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* **17**, Hrvatsko agronomsko društvo, (2012).
17. *Šindrak, Z., Benčić, Đ., Voća, S., Berberić, A.*, Ukupne fenolne tvari u sortnim istarskim maslinovim uljima, *Pomologia Croatica : Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* **13**, Hrvatsko agronomsko društvo, (2007).
18. *Barberić, A.*, Polifenoli u sortnim maslinovim uljima iz Istre, Diplomski rad, Sveučilite u Zagrebu, Agronomski fakultet, (2006).
19. *Marinac-Anđić, I.*, Utjecaj zagrijavanja maslinovog ulja na sadržaj polifenolnih tvari, Diplomski rad, Sveučilište u Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, (2016).
20. *Singleton, V. L. & Rossi, J. A.*, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144–158, (1965).

## 7. PRILOZI



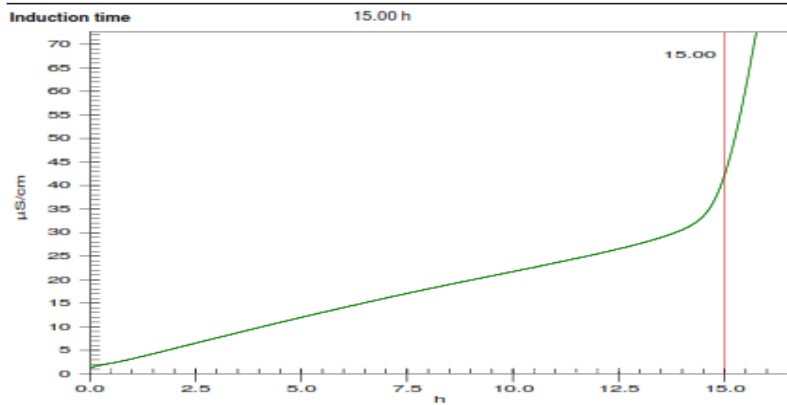
*Slika 6.* Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Oblica, u periodu rane berbe



*Slika 7.* Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Oblica, u periodu kasne berbe

Unit	1	Serial number	08146	Printing date	31.01.2017 9:25:45
Block	B	Cell constant	1	Determination date	30.01.2017 14:13:45
Channel	2	User	Rutinski		

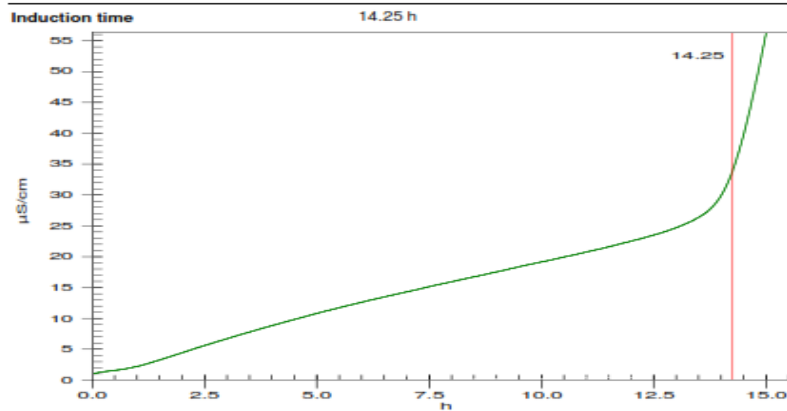
ID 1 ID 2  
buhavica rana



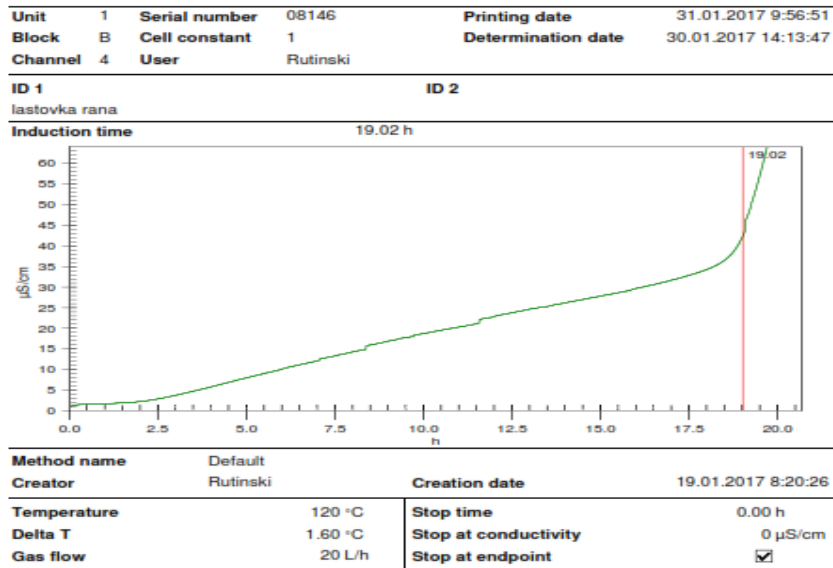
Slika 8. Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Buhavica, u periodu rane berbe

Unit	1	Serial number	08146	Printing date	31.01.2017 9:26:14
Block	B	Cell constant	1	Determination date	30.01.2017 14:13:46
Channel	3	User	Rutinski		

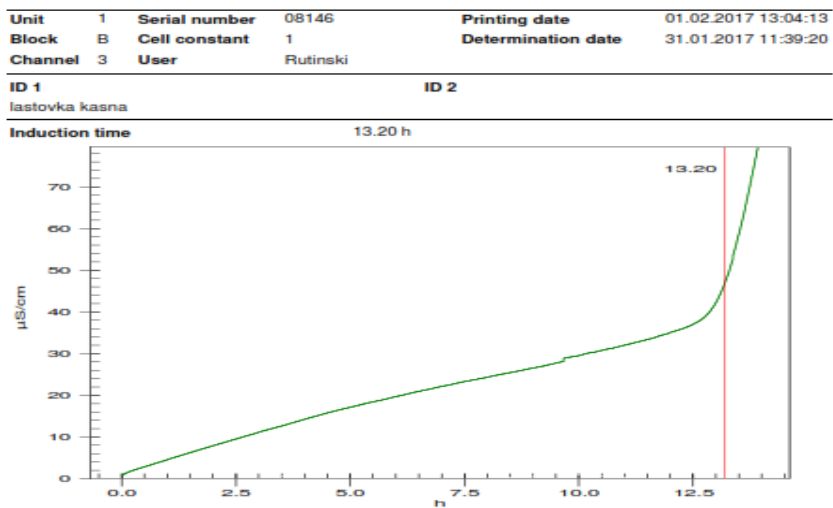
ID 1 ID 2  
buhavica kasna



Slika 9. Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Buhavica, u periodu kasne berbe



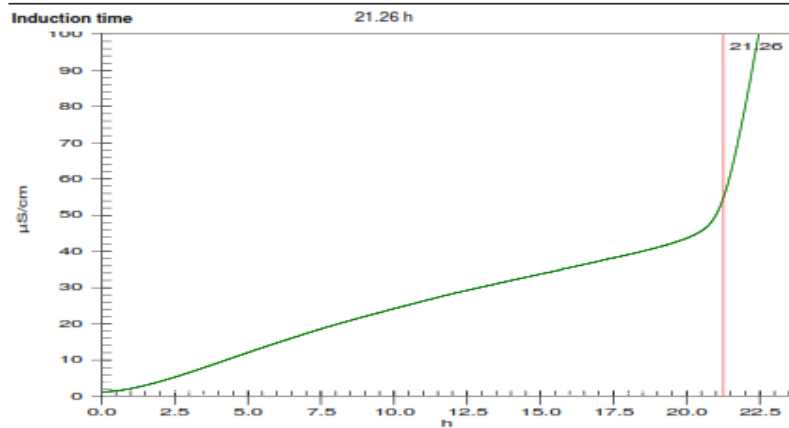
*Slika 10.* Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Lastovka, u periodu rane berbe



*Slika 11.* Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Lastovka, u periodu kasne berbe

Unit	1	Serial number	08146	Printing date	01.02.2017 13:05:47
Block	B	Cell constant	1	Determination date	31.01.2017 11:39:22
Channel	4	User	Rutinski		

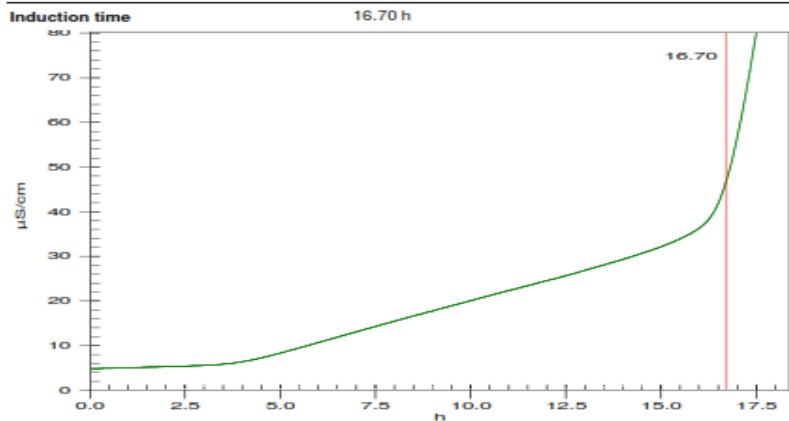
ID 1 ID 2  
drobnica rana



Slika 12. Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Drobnica, u periodu rane berbe

Unit	1	Serial number	08146	Printing date	02.02.2017 10:50:17
Block	A	Cell constant	1	Determination date	01.02.2017 12:57:04
Channel	2	User	Rutinski		

ID 1 ID 2  
drobnica kasna



Slika 13. Oksidacijska stabilnost maslinovog ulja sorte Drobnica, u periodu kasne berbe