

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**Usmjerenje:
Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo**

TINA ROČAK

**OSNOVNE KEMIJSKE ANALIZE KAKVOĆE
ISTARSKIH MASLINOVIH ULJA**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj: mr. sc. Zoran Šindrak

Zagreb, siječanj 2005.

Ovaj diplomski rad ocijenjen je i obranjen dana _____ s ocjenom
_____ pred povjerenstvom u sastavu:

1. Mr. sc. Zoran Šindrak

2. Doc. dr. sc. Đani Benčić

3. Doc. dr. sc. Ljubica Đumija

SADRŽAJ

1. Uvod i cilj istraživanja.	1
1.1. Uvod.	1
1.1.1. Biologija masline.	2
1.1.2. Porijeklo masline.	4
1.2. Cilj istraživanja.	6
2. Pregled literature	7
2.1. Građa i sastav ploda masline.	7
2.2. Rast i razvoj plodova masline	12
2.3. Čimbenici koji utječu na kakvoću maslinovog ulja.	16
2.3.1. Sorta kao čimbenik kakvoće ulja.	16
2.3.2. Ekološki uvjeti uzgoja maslina.	16
2.3.3. Utjecaj svjetlosti na razvoj ploda masline i tvorbu ulja	17
2.3.3.1. Oblik (struktura) krošnje	17
2.3.3.2. Fotosinteza ploda	18
2.3.4. Agrotehničke mjere	19
2.3.4.1. Gnojidba i obrada	20
2.3.4.2. Navodnjavanje.	20
2.3.4.3. Rezidba	21
2.3.5. Berba, transport i prerada maslina	21
2.3.5.1. Berba maslina.	21
2.3.5.2. Transport i skladištenje maslina.	22
2.3.5.3. Prerada maslina.	23
2.3.5.4. Čuvanje maslinovog ulja	24
2.4. Maslinovo ulje	25
2.4.1. Masne kiseline u maslinovom ulju.	26
2.4.2. Triacilgliceroli u maslinovom ulju.	27
2.4.3. Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u pulpi, sjemenki i cjelovitom plodu masline.	28
2.4.4. Udio različitih vrsta triacilglicerola (%) u pulpi, sjemenki i cjelovitom plodu masline	29

2.4.5. Ukupni triacilgliceroli (TAG), diacilgliceroli (DAG) i gliceridni indeksi (engl. <i>glyceridic indices</i> – GI).	31
2.4.6. Negliceridni sastojci maslinova ulja.	32
2.4.7. Maslinovo ulje i njegova prehrambena vrijednost. . . .	36
2.4.7.1. Terapeutska vrijednost maslinovog ulja.	36
2.4.7.2. Maslinovo ulje i “mediteranska prehrana”	37
2.4.8. Klasifikacija maslinovog ulja	41
2.4.9. Razgradnja maslinovog ulja	44
2.4.9.1. Hidroliza	44
2.4.9.2. Oksidacija	46
3. Materijali i metode.	48
3.1. Materijali.	48
3.2. Metode.	48
3.2.1. Određivanje slobodnih masnih kiselina.	49
3.2.2. Određivanje peroksidnog broja.	51
3.2.3. Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području	52
4. Rezultati i rasprava.	57
5. Zaključci	58
6. Literatura	59

1. Uvod i cilj istraživanja

1.1. Uvod

Maslina (*Olea europaea*), cijenjena biljka prirođena mediteranskom bazenu od prapovijesnih vremena rađa plodovima uljevitog mesa koji se mogu koristiti bez mnogo prerađivanja. Maslinovo ulje koje se u davnini proizvodilo prešanjem cijelih plodova, čemu je prethodilo pranje vodom, prvenstveno se koristilo za ljudsku prehranu. Osim toga, maslinovo ulje ima vrijednost u pripravi raznih farmaceutskih i kozmetičkih pripravaka. Kao neizostavni sastojak mediteranske prehrane, plodovi maslina i maslinovo ulje u znatnoj mjeri pridonose dobroj izbalansiranosti jelovnika zemalja južne Europe (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

Iskopavanja u sjevernoj Mezopotamiji potvrđuju činjenicu da uzgoj maslina i proizvodnja maslinova ulja seže sve do civilizacija kao što su Asirska, koja je prije približno 4000 do 5000 godina nastavala područje danas zvano Kurdistan. Čini se da su prije oko 3000 godina Feničani prenijeli maslinu iz sjeveroistočnog Mediterana u Malu Aziju, Egejske otoke, Grčku, pa čak do Kartage u Sjevernoj Africi.

Maslina i maslinovo ulje nije predstavljalo samo prehrambenu namirnicu već se upotrebljavalo u razne druge svrhe. Za vrijeme faraona, maslinovo ulje se koristilo u balzamiranju mrtvih, a samo najkvalitetnije frakcije su se koristile u prehrani.

S rastom i širenjem helenističke i rimske kulture, ovo je zimzeleno drvo 'pustilo korijenje' diljem europske obale Mediterana. Kao sveto drvo maslina je zauzela značajno mjesto u grčkoj i rimskoj mitologiji.

Maslina počinje plodonostiti tek nakon petnaestak godina, ali zato može doživjeti starost od nekoliko stotina godina u prosjeku; za neka stabla zna se da su doživjela i daleko veću starost, a ima ih i na našoj obali.

Danas se širom svijeta uzgaja više od 500 milijuna stabala maslina, a za očekivati je da će se njihov broj još povećavati – vjerojatno do maksimalno mogućeg u, za njihov uzgoj, pogodnim područjima (opaska autora). Preko 80% danas postojećih stabala raste u Mediteranu, najviše u Španjolskoj (42%), zatim Italiji (24%) i Grčkoj (12%). U manjoj mjeri maslina se uzgaja u nekim zemljama Bliskog Istoka, Sjeverne Afrike i Južne Amerike, a u zadnje vrijeme i na jugozapadu SAD-a (Kalifornija, Arizona).

1.1.1. Biologija masline

Ime roda *Olea* povezano je s latinskim imenicom koja označava biljku (stablo) masline. Ime vrste, *europaea*, predložio je Linnaeus (1764), želeći tako istaći da je maslina europskog porijekla, te tipična biljka mediteranskog područja. Etimološki gledano, ime roda vjerojatno je izvedeno od grčke riječi *elaion* (ulje), što znači "biljka koja proizvodi ulje" (Benigni *et al.*, 1962; prema Bartolini, G., i Petruccelli, R., 2002).

Maslina (ulika) (*Olea europaea* L. subsp. ***Sativa*** Hoffm. Et Link) spada u red **Oleales**, porodicu **Oleaceae** – maslinke (v. Denfer *et al.* 1971, Gracke 1972, Sitte *et al.* 1998), podporodicu **Oleoidae** i rod ***Olea*** L.

Erhardt *et al.* (2000) uvrštavaju maslinke u red **Scrophulariales**. U porodicu **Oleaceae** spadaju između ostalih i rodovi:

Abeliophyllum Nakai, ***Chionanthus*** L., ***Fontanesia*** Labill., ***Forestiera*** Poir., ***Forsythia*** Vahl (forsitija), ***Fraxinus*** L. (jasen), ***Jasminum*** L. (jasmin), ***Ligustrum*** L. (kalina), ***Menodora*** Hamb. Et Bonpl., ***Osmanthus*** Lour., ***Phillyrea*** (zelenika), ***Syringa*** L.

Rod ***Olea*** obuhvaća oko 30 vrsta, koje su rasprostranjene po Africi, Aziji, Oceaniji, Americi i Europi (Loussert et Brousse 1978). Najvažnija među njima je mediteranska maslina. Neke od ostalih, razmjerno malo važnih vrsta su: *O. capensis* L., *O. chrysopylla* Lam., *O. cuspidata* Wall. i *O. laurifolia* Lam. (syn. *O. undulata* Jacq.).

Zohary i Hopf (1994) uvrštava kultivirane genotipe (sorte) masline u ***Olea europaea*** L., subsp. ***Sativa*** (syn. ***europaea***) (***Olea europaea*** L. var. ***sativa*** Lehr.). Divlje oblike, koji su rasprostranjeni po mediteranskom bazenu i za koje se koristi naziv masline 'oleaster', su uvrštene u ***Olea europaea*** L. subsp. ***Oleaster*** Hoffm. Et Link., ***sylvestris*** (Miller) Hegi (syn. ***Olea oleaster*** Hoffm. Et Link.). Kultivirane masline i masline 'oleaster' su vrlo međusobno slične, vrlo su dobro prilagođene mediteranskoj klimi i imaju somatski broj kromosoma $2n = 2x = 46$. Međusobno se lako križaju. Masline 'oleaster' se od kultiviranih razlikuju prvenstveno po manjim plodovima, tanjem mezokarpu i manjem sadržaju ulja u plodu. Radi velike sličnosti, smatra se da kultivirana maslina potječe od masline 'oleaster'.

Obje spomenute podvrste vrste *O. europaea* su vrlo srodne (vjerojatno su zato i interfertilne) s mediteranskim divljim maslinama, koje se uvrštavaju u ***O. europaea*** L. subsp. ***Cuspidata*** (Wall. Ex DC.) Cifferi. Zohary (1994) u tu skupinu uvrštava ***O. africana*** Miller, syn. ***O. chrysophylla*** Lam. (raširena po zapadnoj Africi i južnom dijelu Arapskog

poluotoka) i **O. ferruginea** Royale (raširena po jugzapadnom Iranu, zapadnom Afganistanu, Pakistanu i zapadnoj Kini). Po istom autoru ta je skupina geografski vrlo izolirana od mediteranske i bolje je prilagođena tropskim klimatskim uvjetima. Radi izolacije i različitosti vjerojatno je opravdano uvrstiti ih u samostojne vrste (speciese).

Maslina je zimzelena drvo poznato po svojoj robusnosti i dugovječnosti, osobinama koje su vjerojatno povezane s prostranom korijenovom mrežom koju razvija. S obzirom na klimatske prilike masline rastu u umjerenim suptropskim područjima, između 30° i 45° zemljopisne širine, a najviše ih ima u mediteranskom bazenu, gdje su značajna sastavnica krajobraza. Tijekom više tisuća godina kultivacije masline stvorene su mnoge sorte koje se razlikuju po habitusu, otpornosti na sušu, hladnoću i bolesti, kakvoću i veličinu ploda, udio ulja, i druga svojstva (Sanchez, J., 1994).

Među značajne nemediteranske divje sorodnike kultivirane masline spada i **O. europaea** L. subsp. **Cerasifomis** (Webb i Berth.) Kunkel i Sundig (raširena po Kanarskim otocima i Madeiri).

Broj sorti, koje se danas uzgajaju, izuzetno je velik. Lavee (1990) tvrdi, da se 'danas uzgaja oko 2000 sorti, klonova i subklonova'. Kako je maslina biljna vrsta s izvanredno dugom životnom dobi, tako postoje primjerci sorti koje su se uzgajale još prije 1000 godina.

Sorte maslina se dijele na tri osnovne skupine:

- sorte za dobivanje ulja: 'Buža', 'Istrska bjelica' ('Bianca istriana'), 'Leccino', 'Črnica ili Crnica', 'Drobnica', 'Frantoio' ('Frantoiano'), 'Leccio del Corno', 'Maurino', 'Moraiolo' ('Morellino') itd.;
- sorte za konzerviranje (stolne sorte): 'Ascolana Tenera', 'Manzanilla', 'Santa Caterina', itd;
- sorte za kombiniranu uporabu: 'Oblica', 'Ascolana Semitenera', 'Itrana', 'Picholine' i druge.

Neki autori među sorte za dobivanje ulja uvrštavaju i 'Pendolino'. Ta sorta se u nasadima ne koristi kao glavna sorta (u pravilu nije zastupljena s više od 10 % u nasadu), već kao oprašivač. Međutim i u Hrvatskoj neki uzgajivači imaju dobra iskustva sa sortom Pendolino za dobivanje ulja (Benčić – osobna komunikacija).

Maslina se razmnožava vegetativno (podancima ili reznicama, pomoću hiperplazija tj. odebljanja – guka, koje se razvijaju na donjem dijelu debla, neposredno iznad površine tla, te cijepljenjem) i generativno – sjemenom. U modernoj proizvodnji je najvažnije razmnožavanje ukorijenjivanjem reznica. U suvremenoj proizvodnji sortnog materijala su

značajne i kulture tkiva. Korištenje hiperplazija (guka) spada u tradicionalni način vegetativnog razmnožavanja; međutim one su vrlo korisne kod regeneracije cijelog stabla masline. Generativno razmnožavanje je važno u oplemenjivačkom radu (Ivančić Anton, 2002).

1.1.2. Porijeklo masline

Maslina je jedna od nastarijih kultiviranih biljaka, koja najvjerojatnije potječe sa sirijsko-iranskog područja, s kojeg se raširila na područje Sredozemnog mora.

Prve sorte maslina potječu iz divljih populacija. Kako masline žive dovoljno dugo i razmnožavaju se vegetativno, velika je vjerojatnost da mnoge današnje tradicionalne sorte predstavljaju fenotipski izabrane (selekcionirane) jedinke, koje su udaljene jednu ili dvije generacije od genotipova ishodišnih divljih populacija. Naime, samo jedna generacija kod maslina može trajati nekoliko tisuća godina. Tijekom tako dugog razdoblja genetska struktura ishodišne biljke djelomično je bila očuvana putem vegetativnog razmnožavanja. Do daljnjih promjena genetske strukture došlo je radi mutacija. Utjecaj mutageneze na promjenu genetske strukture je vjerojatno bio velik, jer su se mutacije tijekom tog (više tisuća godina) dugog razdoblja stalno kumulirale (Ivančić Anton, 2002).

Datulju, smokvu i maslinu možemo smatrati biljkama starog svijeta. Ove tri biljke tvore najstariju grupu voćaka mediteranskog područja (Zohary i Spiegel-Roy, 1975). Maslina je jedna od prvih kultiviranih vrsta, te je čak za vrijeme brončanog doba predstavljala ekonomsku vrijednost za mnoga mediteranska društva. Neki smatraju da je to zato što se ona, kao rijetko koja druga vrsta, mogla razmnožavati samo aseksualno – vegetativno; u stvari prvi uzgajivači svakako nisu vladali profinjenim tehnikama razmnožavanja kao što je cijepljenje (Zohary i Hopf, 1994, prema Bartolini, G., i Petruccelli, R., 2002).

Uzgoj maslina datira unatrag 3500 godina pr. n. e. Znakovi uzgoja (npr. dobro očuvane, karbonizirane koštice masline i pougljenjeno maslinovo drvo, Zohary and Splegel-Roy, 1975) javljaju se za vrijeme kalkolita u Palestini između 3700-3500 pr. n. e. Biljka se prvi put spominje u opisu oaze Glove Ammone (Patac *et al.*, 1954). Povijesno gledano, maslina i njen glavni proizvod, ulje, stekli su neke posve jedinstvene konotacije; oni zapravo predstavljaju najzorniji primjer eklektičkog simbolizma u tradiciju, kulturi i mitologiji (Bartolini, G., i Petruccelli, R., 2002).

Maslina je značajno pridonijela razvoju svih kultura u Mediteranu. Ljudi su naučili kako koristiti svaki dio te biljke: lišće za ishranu životinja, konzervirane, a ponekad i sirove plodove kao ljudsku hranu, ulje iz

plodova za pripremanje hrane i kao gorivo – uglavnom za svjetiljke. U legendama mnogih naroda često se spominje maslina kao simbol svetosti i uzvišenosti: npr. u legendi o postanku grada Atene, te u religijama – judaizmu, kršćanstvu i islamu.

Danas se maslina uzgaja osim u samom Mediteranu, također i u svim područjima svijeta čija je klima slična mediteranskoj – doduše u manjoj mjeri. (Menini, U. G., 2002).

Širenje masline kroz povijest

Maslina je poznata kao najstarija kultivirana vrsta među stablašicama. Kultivacija masline je započela još prije nego je posojalo pismo (A.K. Kiritsakis, 1998). Ova vrsta spada u najstariju grupu voćnih vrsta na Mediteranu. Maslina je bila jedna od prvih vrsta koje su kultivirane, čak tijekom brončanog doba predstavljala je ekonomsko blagostanje za mnoge mediteranske zemlje.

Kultivacija masline datira još od 3500. g. pr. Kr. Znakovi njezine kultivacije pojavljuju se u Palestini oko 3700-3500. g. pr. Kr. (G. Batrolini, R. Petruccelli, 2002.).

Divlje populacije (prije kultiviranja) masline pojavljuju se u Maloj Aziji (Sirija - Irak), odakle su se širile u Grčku, te dalje u Egipat i Kretu. U 16. st. pr. Kr. Feničani počinju uzgajati maslinu u Grčkoj i kako su oni bili poznati moreplovci i vrsni trgovci proširili su maslinu po cijelom Sredozemlju (N. Barry).

U Grčkoj maslina se prvenstveno proširila po otocima, a znatno kasnije na kontinentalnim područjima. Grčka kolonizacija po obalama zapadnog Mediterana počinje u VI. st. pr. Kr. (Sicilija, južna Italija, južna Francuska, Španjolska) dovela je do daljnjeg širenja masline na Mediteranu. Širenje i usavršavanje proizvodnje maslinovog ulja odigralo je veliku ekonomsku ulogu u povijesti starog Rima. Nakon velikih osvajanja i prevlasti Rima na Sredozemlju i u Europi, nametnula se potreba za sve većim količinama maslinova ulja. Zbog toga se maslina širi po svim osvojenim područjima koja su bila prikladna za njezin uzgoj, pa je tako došla i na naša obalna područja.

Rimljani su prvi došli do temeljnih saznanja da kakvoća ulja ovisi o svojstvima sorti maslina, stupnju zrelosti ploda i načinu prerade (usavršili su kameni mlin za mljevenje maslina i tijesak za cijedenje ulja) (Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M, 1996).

U XVI. Stoljeću španjolski i portugalski osvajači prenijeli su maslinu preko Atlantskog oceana, te sadili je uglavnom na području Argentine, Meksika i Kalifornije. Dok u bližoj prošlosti maslina je uspješno introducirana u južnu Afriku i Australiju (Barry, N.).

Put kojim se maslina širila iz svoje pradomovine prikazuje **Slika 1.**



Slika 1. Širenje masline iz Sirije (iz Kiritsakis, A. K., 1998)

1.2. Cilj istraživanja

U nas se tek se unazad nekoliko godina počelo cijeniti maslinovo ulje, a time i provoditi provjere njegove kakvoće. Ovim radom nastojat ću potvrditi visoku kakvoću maslinovog ulja s područja Istre, kome u velikoj mjeri doprinose i agroekološke prilike te regije. Također je osobito malo poznato ponašanje nepatvorenih domaćih sortnih ulja tijekom skladištenja.

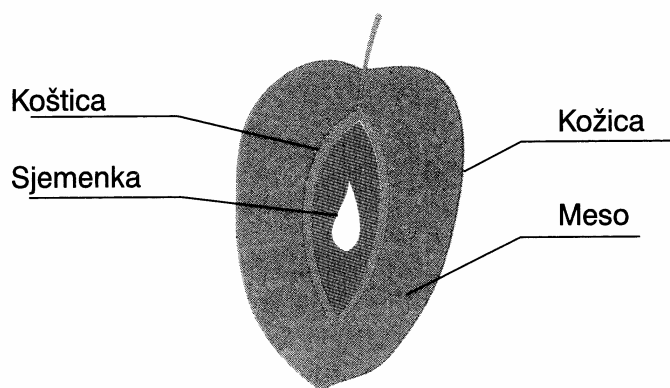
Namjerava se ispitati kakvoća nekoliko sortnih maslinovih ulja dobivena iz dva različita agroekološka područja Istre. Načinit će se određivanje slobodnih masnih kiselina (SMK, engl. FFA – *free fatty acids*), određivanje peroksidnog broja (odnosno stupnja oksidacije ulja), te određivanje primarnih i sekundarnih produkata oksidacije ulja.

Osim toga, obaviti će se ponavljanje istih analiza nakon držanja ulja nekoliko mjeseci u uvjetima sličnim uobičajenom čuvanju ulja, da se provjeri koliko ona degradiraju za to vrijeme.

2. Pregled literature

2.1. Građa i sastav ploda masline

Plod masline je koštunica, duguljastog ili okruglastog oblika, i sastoji se od dva glavna dijela, perikarpa i endokarpa. **Perikarp** (pulpa) se sastoji od epikarpa – kožice (sastavljena je od sloja malenih stanica bogatih kloroplastom) i **mezokarpa** – mesa ploda (**Slika 2.**).



Slika 2. Dijelovi ploda masline (iz Škarica, B., Žužić, I. i Bonifačić, M., 1996)

Veličina ploda uvjetovana je genetskim i okolinskim čimbenicima. Mase zrelih plodova mogu se kretati od 2 do 12 g, iako ima i onih koji dostižu i 20 g. Tijekom stoljeća selekcionirane su mnoge sorte maslina, koje se razlikuju po veličini, boji, kemijskom sastavu i ponešto po vremenu dozrijevanja plodova. Tako sorte koje su najbolje za proizvodnju ulja imaju prosječnu težinu ploda u kojima udio ulja može iznositi 15–40% mase svježeg zrelog ploda. S druge strane, masline koje se koriste za konzerviranje (odnosno kao stolne) redovito imaju manji udio ulja – čak 8 ili manje postotaka (Ryan i Robards, 1998).

Endokarp ili koštica drvenasta je ljuska u kojoj se nalazi jedna sjemenka. Perikarp predstavlja 66–85 % težine ploda, a ostatak je endokarp. Sama sjemenka ne prelazi težinu od 3 % cijelog ploda, a zajedno s drvenastim dijelom koštice čini 13-30% mase ploda. Na kožu otpada 1.5 do 3.5% mase ploda (Sanchez, J., 1994; Kiritsakis, A. K., 1998). Zreli plodovi maslina sastoje se od vode, ulja, raznih šećera,

organskih kiselina, tanina, oleuropeina, anorganskih tvari i ostalih sastojaka. U pulpi ploda od organskih kiselina nalazimo limunsku, oksalnu, malonsku, fumarnu, vinsku, mliječnu i octenu kiselinu, te trikarboksilne kiseline (Fedeli, 1977). Perikarp sadrži 96–98 % ukupne količine ulja ploda masline, a ostatak (2–4 %) se nalazi u endokarpu (Kiritsakis, A. K., 1998). Posve zreli plodovi masline mogu sadržavati i preko 30% ulja (računavši na svoju svježu masu) (Sanchez, J., 1994).

Meso ploda sadrži oko 50% vode, između 20 i 25% ulja, 25% ugljikohidrata i nešto malo proteina (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

Udio pojedinih sastojaka u plodu masline varira s obzirom na sortu, agroekološke prilike i stupanj dozrelosti. Prosječni sastav (%) ploda masline prikazan je u **Tablici 1**.

Tablica 1. Sastav ploda masline

Sastojak	(%)
voda	50.0
ulje	22.0
šećeri	19.1
celuloza	5.8
proteini	1.6
pepeo	1.5
UKUPNO	100.0

Na početku razvoja ploda njegova je boja zelena, a zrenjem postaje ljubičasta do plavkasta da bi naposljetku postala posve crna kod prezrelih plodova. Zelenu boju, naravno, daju klorofili, dok je ljubičasta i plavkasta boja uzrokovana antocijaninima. Crna boja nastaje oksidacijom fenolnih sastojaka uključujući oleuropein (Simpson *et al.* 1961).

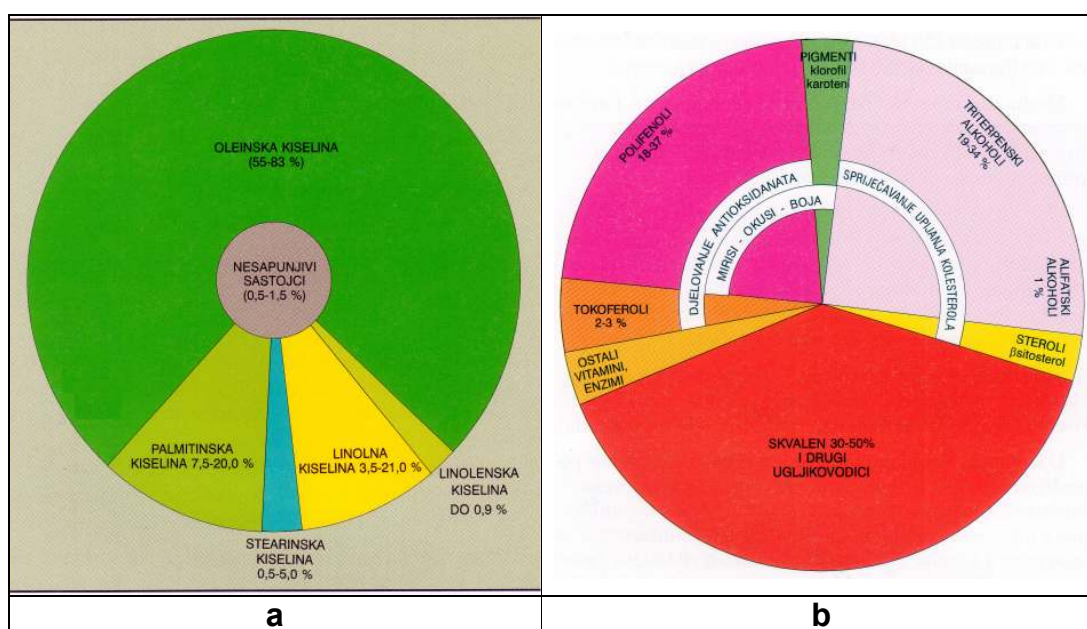
Glavni sastojci ploda masline su voda, šećeri, proteini, antocijanini, oleuropein i, naravno, ulje. Osim toga, sastojci ulja mogu se podijeliti po sposobnosti saponifikacije na osapunjive i neosapunjive (**Slika 3**).

Voda. Voda je sastojak koji je najviše zastupljen u plodu masline, te je ima oko 70% od svježe mase zrelog ploda. U vodi su otopljene organske kiseline, tanini, oleuropein i drugi vodotopljivi sastojci ploda. Udio vode u plodu ovisi o stupnju zrelosti, sorti (kultivaru) i drugim čimbenicima kao što su klimatske prilike, opskrbljenost vodom, te stanje ishranjenosti biljke. Plodovi s visokim udjelom ulja imaju manje vode i obrnuto.

Šećeri. Najzastupljeniji šećeri u pulpi ploda su glukoza i fruktoza. Saharoza, manoza i galaktoza su također nađeni u plodovima nekih sorata (Fedeli, 1977). Glukoza i u manjoj mjeri fruktoza, također su

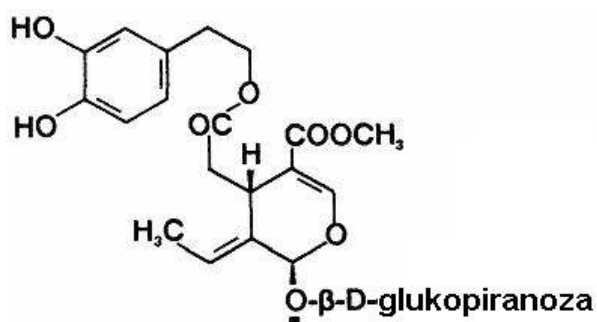
nađeni u sjemenci. Udio šećera opada sa zrelošću, što je povezano s nakupljanjem ulja.

Proteini. U mezokarpu maslinovog ploda nalazi se 1.5 do 3.0 % proteina, ovisno o sorti i o stupnju dozrelosti. Amino kiseline nađene u plodu masline nađene su i u proteinima ostalih bijaka. Udio 'slobodnog' dušika značajno varira, ali obično iznosi manje od 1 % ukupnog dušika. Arginin, asparaginska i glutaminska kiselina čine oko 40% od ukupnih slobodnih aminokiselina nađenih u plodovima nekih grčkih kultivara (Koroneiki, Throumbolia i Megaritiki). Arginin čini otprilike 25% svih esencijalnih aminokiselina, a odmah iza njega slijede leucin i valin (Manoukas *et al.* 1973 prema Kiritsakis, A. K., 1998).



Slika 3. Osapunjivi (a) i neosapunjivi (b) sastojci maslinova ulja (iz Škarica, B., Žužić, I. i Bonifačić, M., 1996)

Oleuropein. To je fenolni glikozid tipičan za maslinu (Cruess 1958, Slika 4.). On je odgovoran za gorki okus nezrelog ploda masline koja ga sadrži oko 2 % (od težine svježeg ploda) (Fedeli 1977). Kako plodovi zriju tako se smanjuje udio oleuropeina u njima, a oni time postaju manje gorki. Amiot *et al.* (1986) izvještavaju da udio oleuropeina u plodu može doseći i do 14% od suhe tvari mladog ploda. Općenito su sorte s malim plodovima bogatije oleuropeinom od onih s velikim plodovima.



oleuropein

Slika 4. Kemijska struktura oleuropeina, jednog od najkarakterističnijih sastojaka ploda masline.

Oleuropein je topljiv u vodi, te se difundira u vodenu fazu prilikom prerade plodova u ulje. Prilikom prerade plodova za stolne masline španjolskim načinom, oleuropein se hidrolizira pod utjecajem otopine natrijevog hidroksida (1–2 %) na sobnoj temperaturi. Kasnije se lužina uklanja iz plodova primjenom opetovanih ispiranja.

Marsilio *et al.* (1996) proučavali su hidrolizu oleuropeina pomoću različitih sojeva *Lactobacillus plantarum*. Tako je pronađeno da sojevi bakterija na početku hidroliziraju oleuropein pomoću enzima β-glukozidaze čime se oslobađa aglikon (prvi intermedijarni produkt koji se može opaziti). U drugom koraku taj aglikon prerasta u 2-(3,4-dihidroksifenil) etanol i elenolsku kiselinu pomoću djelovanja enzima esteraze. Prinosa derivata oleuropeina (engl. *oleuropein derivatives*), kao funkciju vremena, prilično je dobro opisan polinomskom jednadžbom drugog reda (Marsilio *et al.* 1996):

$$y = ax^2 + bx + c$$

gdje je,

- y udio derivata oleuropeina,
- x vrijeme reakcije,
- a, b, c su konstante.

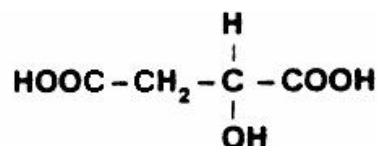
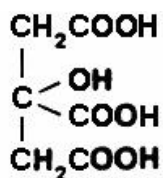
Oleuropein je također poznat po svojim farmaceutskim svojstvima (kao sredstvo za snižavanje arterijskog krvnog tlaka).

U mesu ploda masline također se nalaze steroli, sulfolipidi, organske kiseline i minerali (Kirtsakis, A. K., 1998).

Ostali sastojci ploda masline

Pulpa (mezokarp) ploda masline također sadrži steroide, cerebrozide, sulfolipide, organske kiseline i minerale. U nezrelom plodu manitol je zastupljen s čak 7-8 % (Fedeli 1977). Udio nekih organskih kiselina u pulpi je slijedeći: oksalna kiselina 0.10-0.17 %, limunska kiselina 0.10-0.15 %, jabučna kiselina 0.01-0.07 %. Plod masline također sadrži male količine malonske, fumarne, vinske, mliječne, octene kiseline i trikarbonskih kiselina. Organske kiseline dolaze u obliku soli ili slobodne.

Slika 5. prikazuje strukturu nekih organskih kiselina prisutnih u plodu maslina.



oksalna kiselina

limunska kiselina

jabučna kiselina

Slika 5. Struktura nekih organskih kiselina prisutnih u plodu maslina.

Stanoviti minerali poput željeza, kalcija, natrija, fosfora, mangana, magnezija i bakra nađeni su u pulpi (mezokarpu) maslinova ploda. Udio bakra u plodu masline raste kako plod dozrijeva (Androulakis, 1987). Zanimljivo je istaknuti da je udio kalija veći od ukupnog udjela svih ostalih minerala zajedno. Naime, akumulacija kalija u plodu obično je povezana s njegovim opadanjem u listovima. Isti je slučaj i sa borom.

Tablica 2. Neki sastojci koštice masline (g/100 g svježe težine)

Sastojak	Udio
lipidi	37.40
ugljikohidrati	33.30
proteini (% N × 0.25)	21.94
vlaga	4.60
pepeo	2.20
fosfor	0.32
kalcij	0.20
željezo	0.02
magnezij	0.02

Samir i Hegsted, 1974.

Pored triacilglicerola (ulja), i pulpa i koštica sadrže male količine različitih iona i drugih polarnih lipida svojstvenih za fotosintetska tkiva, kao što su diacilglicerofosfokolini, diacilglicerofosfoetanolamini, diacilglicerofosfogliceroli i diacilglicerofosfogliceroli kao i monogalaktozil-diacilglicerole, digalaktozildiacilglicerole i sulfokvinovozildiacilglicerole. Izoprenoidni lipidi uključuju acilne ugljikohidratne skvalene kao i ciklične oksigenirane triterpene, kao i sterole, steril estere i steril glikozide. Glavni spojevi koji daju boju su klorofili i β -karotene. Tvari okusa kod masline obuhvaćaju brojne hlapive ugljikohidrate, alkohole, aldehide, ketone, kiseline i laktone. Masline sadrže malu količinu fenolnih tvari, od kojih neki djeluju kao antioksidansi. Također nalazimo i vitamine, pogotovo E, B₁, B₂ i B₆. Udio minerala u plodovima ovisi o vrsti i sastavu tla na kojem se masline uzgajaju; uvijek su prisutni natrij, kalij, magnezij, kalcij, mangan i željezo (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

U maslinama gotovo da nema nejestivih ili čak toksičnih tvari; upravo se zato mogu jesti bez mnogo prerade. Za prehranu se u pravilu koriste nezrele ili zrele masline koje se koriste marinirane na različite načine. Visok postotak soli (NaCl) može se znatno reducirati potapanjem mariniranih maslina u vodu. S medicinskog gledišta možda bi bila dobra zamisao da se veći dio natrijeva klorida u marinadi zamijeni s magnezijevim kloridom; također se smatra da bi bilo dobro da par postotaka čini kalij jodid. Ovakva zamjena natrija s kalijem i magnezijem pogotovo je korisna starijim osobama koji zahtijevaju njihov dodatak u prehrani (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

U mediteranskim zemljama masline se obično beru u mjesecu studenom, nešto prije nego što postignu (fiziološku) zrelost. Plodovi su osjetljivi, pa se ne mogu čuvati više od par dana; najbolje ih je preraditi odmah po berbi da bismo dobili ulje što veće kakvoće (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

2.2. Rast i razvoj plodova masline

Na dinamiku rasta ploda i njegovo dozrijevanje utječu slijedeći faktori:

- a. Starost stabla – plodovi mlađih stabala brže dozrijevaju zbog bržeg metabolizma mlađih biljaka.
- b. Sorta (kultivar) – postoje sorte ranijeg i kasnijeg dozrijevanja.
- c. Zdravstveno stanje stabla – potpuno i normalno dozrijevanje svojstveno je zdravim stablima. Nasuprot tome, plodovi oboljelih

- stabala teško dozrijevaju, postižu manju veličinu, loše izgledaju i imaju nizak udio ulja.
- d. Zemljopisni položaj na kojima se uzgajaju masline.
 - e. Agrotehnički zahvati (npr. gnojivo koje se upotrebljava, rezidba) također utječu na dozrijevanje plodova.
 - f. Klimatski uvjeti – temperatura, voda (oborine) i svjetlo znatno utječu na dozrijevanje plodova maslina.

Masline cvatu u proljeće, a točno vrijeme cvatnje povezano je s prosječnim dnevnim temperaturama tijekom prethodne vegetacijske sezone. Mali bjelkasti cvjetovi nalaze se cvatovima izraslim iz pazušaca listova. Potrebno je vrijeme između 2 do 3 tjedna da se postigne puna cvatnja računavši od otvaranja prvih cvjetova. To čini stanovite poteškoće pri definiranju točnog datuma cvatnje u određenom masliniku ili čak za pojedino stablo. Zametanje plodova kod maslina je prilično neredovito; maslina pokazuje izraženu alternativnu rodnost, pri čemu biljka jedne godine može obilno roditi, a slijedeće godine čak može izostati i sama cvatnja. To se dešava u mnogim maslinarskim područjima, posebno onima gdje se fertilizacija i irigacija slabo primjenjuju.

Razvoj plodova masline od zametanja do pune zrelosti dug je i spor proces koji traje više od 5 mjeseci (35-40 tjedana). To je jedan od najdugotrajnijih perioda rasta među uobičajenim plodovima voća. Trajanje tog procesa može se i produžiti u nepovoljnim klimatskim prilikama (uglavnom hladnoća) (Kiritsakis, A. K., 1998). Za vrijeme rasta plodova dešavaju se mnoge promjene. Tijekom prve polovice razvojnog perioda, plod masline povećava svoju masu više ili manje linearno, tako da nakon nekih 25 tjedana od cvatnje (engl. *weeks after flowering* – WAF) they postižu svoju konačnu veličinu. Povećanjem težine ploda povećava i udio ulja u njemu, dok se udio šećera smanjuje. Prvih 10 tjedana nakon cvatnje nije primjećeno nakupljanje ulja ni u sjemenci ni u pulpi (Sanchez, J., 1994). Dijagram nakupljanja lipida u pulpi i sjemenci ploda tijekom razvojnog ciklusa ploda prikazan je na **Slici 6**.

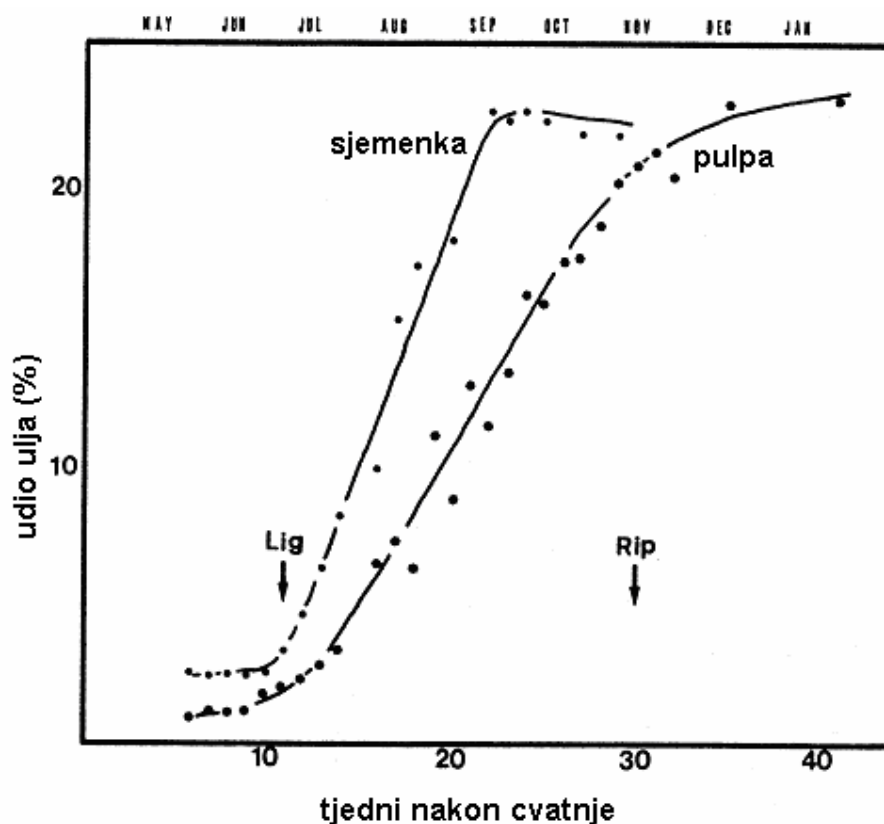
Biosinteza triacilglicerola maslinova ulja uključuje slijedeće procese (Hess, 1975):

1. Masne kiseline se sintetiziraju sukcesivnim adicijama malonil-CoA na početnu (*primer*) molekulu acetil-CoA. Progresivno produljenje masno kiselinskog lanca za dva atoma ugljika dešava se poslije svake adicije malonilnog ostatka (s tri atoma ugljika), te njegovog dekarboksiliranja. Multienzimski sistem katalizira reakcije kondenzacije, redukcije i dehidracije, koje su neophodne za proces sinteze masnih kiselina.
2. Prilikom glikolize od dihidroksi aceton fosfata stvara se glicerol fosfat.
3. Nakon toga masne se kiseline, kao derivati CoA, prenose na

slobodne hidroksi grupe glicerol fosfata. Nakon toga slijedi defosforilacija i završetak esterifikacije glicerola.

Triacilgliceroli maslinovog ulja stvaraju se i akumuliraju u vakuolama stanica mesa ploda, a taj proces može se pregledno podijeliti u četiri faze:

1. Početna faza: Usporedno s rastom ploda tvore se male količine ulja.
2. Faza najveće koncentracije: Tijekom ove faze sintetizira se gotovo svo ulje.
3. Stabilna faza: Udio ulja u pulpi se ne mijenja.
4. Opadajuća faza: Smanjenje udjela ulja je posljedica prezrelosti ploda.



Slika 6. Profil nakupljanja lipida u pulpi i sjemenci ploda masline zajedno s razvojnim ciklusom ploda. Skraćenice: Lig = lignifikacija endokarpa; Rip = početak zrenja ploda (Sanchez, J., 1994).

Na početku razvoja ploda udio vlakana u mesu brzo opada, dok se kasnije brzina njihovog opadanja smanjuje. Za razliku od toga, udio proteina ostaje nizak za vrijeme cijelog razvoja ploda – upravo kao i postotak pepela u plodu (Ryan & Robards, 1998).

Lignifikacija endokarpa je važan događaj koji se odvija između 10-og i 12-og tjedna nakon cvatnje. On ujedno i označava početak sinteze i nakupljanja triacilglicerola kako u sjemenci tako i u pulpi ploda. Akumulacija ulja u sjemenci je relativno brza, a završava nakon otprilike 10 tjedana. S druge strane, udio ulja u pulpi raste dosta sporije, te je potrebno nešto više od 20 tjedana da dostegne svoju najveću vrijednost; ipak je to vrijeme intenzivne sinteze triacilglicerola u kojemu se po plodu može stvoriti oko 40 mg ulja u tjedan dana za vrijeme maksimalne akumulacije (Sanchez, J., 1994). Slične rezultate navode i neki drugi autori.

Početak procesa zrenja ploda nastupa nekih 30-ak tjedana nakon cvatnje, kad je nakupljanje ulja doseglo svoj plafon, te se prepoznaje promjenom boje ploda, koja se mijenja od zelene ka ljubičastoj, a zatim i crnoj (kad su plodovi posve zreli, a praktično prezreli). Važno je naglasiti da se veći dio tvorbe triacilglicerola dešava prije početka procesa zrenja, dakle kada je plod zelen i ujedno fotosintetski aktivan (Sanchez, J., 1994).

Stupanj zrelosti odnosno dozrelost plodova masline značajno utječe na prinos ulja. Tako prinos može biti veći 7-10 % kod napola obojenih plodova nego kod zelenih, a isto tako kod posve obojenih (crnih) u odnosu na polovično obojene plodove. Na prinos ulja imaju utjecaj i agroekološke prilike uzgoja maslina. Maksimalni prinos se postiže kod optimalne zrelosti ploda, a ona je otprilike postignuta kad su plodovi koji su najizloženi suncu potpuno prekriveni crvenkasto-plavkastom bojom. U toj točki plodovi masline sadrže maksimalnu količinu i najbolju kakvoću ulja, a udio fenola i hlapivih tvari u optimalnoj su omjeru.

Povećanje plodova u jesen uglavnom je povezano s povećanjem udjela vode u njima. Ulje se u stanicama pulpe ploda obično počinje nakupljati krajem srpnja i početkom kolovoza kad je plod dovoljno razvijen, a koštica već odrvenila (Hartman i Opitz, 1977). Ako je u ovom periodu nedostatna vlažnost tla i pušu jaki suhi vjetrovi, očekivano povećanje veličine ploda će izostati. U uvjetima visoke transpiracije i niske vlažnosti tla lišće izvlači vodu iz ploda uzrokujući njihovo smežuranje. Tijekom sazrijevanja plodovi mogu opadati i to posebno pod utjecajem nepovoljnih klimatskih uvjeta. Otpali plodovi ubrzano se kvare, a ulje iz njih je loše kvalitete (Kiritsakis, A. K., 1998).

2.3. Čimbenici koji utječu na kakvoću maslinovog ulja

Na konačnu kvalitetu ulja utječe više faktora. Mogu se grupirati na one koji djeluju tijekom formiranja ulja u plodu, skupljanje plodova i skladištenje, ali također i tehnološki postupci prerade maslina te način skladištenja i dorade ulja (Kiritsakis, A. K., 1998; B. Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M., 1996).

2.3.1. Sorta kao čimbenik kakvoće ulja

Kvaliteta ulja počinje u masliniku pod utjecajem genetskih (sorta), klimatskih i geografskih čimbenika. Sorta ima značajan utjecaj na kakvoću jer je maslinovo ulje produkt metabolizma biljke. Sorta tako utječe na veličinu ploda, omjer meso/koštica, stvarnje ulja, sastav ulja, udio pojedinih masnih kiselina, stupanj njihove nezasićenosti, itd. Sorta masline utječe na ova svojstva više nego ekološki uvjeti.

Isto tako, sadržaj polifenola i značajnijih sterola pokazuje znatnije razlike po pojedinim sortama. Sorta ima također značajnu ulogu u odnosu na udio antocijana i koncentraciju i vrstu triterpenskijih frakcija ulja. Različite sorte zahtijevaju različiti broj dana od cvatnje do zriobe. Prema tome, plodovi različitih sorti maslina nisu podjednako zreli u određenom razdoblju berbe, iz čega proizlaze i razlike u sastavu ulja (Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M., 1996).

Sorta dalje utječe i na udio polifenola, stigmasterola i Δ^5 -avenasterola u ulju. Stigmasterol i Δ^5 -avenasterol se povećavaju kako plod dozrijeva i dostižu maksimum kad je i maksimum ulja u plodu. Ove komponente mogu se koristiti kao i indikatori zrelosti ploda (Kiritsakis, A. K., 1998).

2.3.2. Ekološki uvjeti uzgoja maslina

Čimbenik koji ide uz genetsku predispoziciju sorte je položaj na kojem se maslina ugaja. Podneblje je čimbenik koji tijekom godine uvjetuje biološki proces biljke.

Poznato je da su ulja sjevernijih uzgojnih područja bogatija nezasićenim masnim kiselinama i da imaju skladniji odnos tih kiselina u odnosu na ulja južnih područja. Ovisno o uvjetima podneblja, očituju se i razlike u sastavu negliceridnog dijela ulja. Položaj i tlo, u istim uvjetima podneblja, utječu također na procese zriobe plodova i sastava ulja. Tla s visokim sadržajem vlage rezultiraju velikim plodovima, spriječavaju smežuravanje i omogućavaju razvoj ploda, dok dugotrajno sušno

razdoblje koči sazrijevanje. Značajan je utjecaj osvjetljenja ne samo na sazrijevanje veći na kvalitetu ulja. Obilje sunčevog svjetla je povezano s prisustvom mnogih aromatičnih sastojaka u ulju.

Kiritsakis, A. K. navodi tako da se u sunčanim i suhim klimatskim područjima proizvode ulja dobrih svojstava. Dužina trajanja sunčane svjetlosti, temperatura, oborine i relativna vlažnost zraka imaju značajan utjecaj na kemijski sastav maslinovog ulja. Uspoređivana su ulja iz zemalja sjevernog Mediterana koja su bogatija nezasićenim masnim kiselinama od onih iz zemalja južnog Mediterana koja su bogatija zasićenim masnim kiselinama. Osim toga navodi i da su ulja sa brdovitih nagnutih terena bolje kvalitete od onih iz ravničarskih područja, te da su sušne godine povezane s posebno oštrim i gorkim uljima.

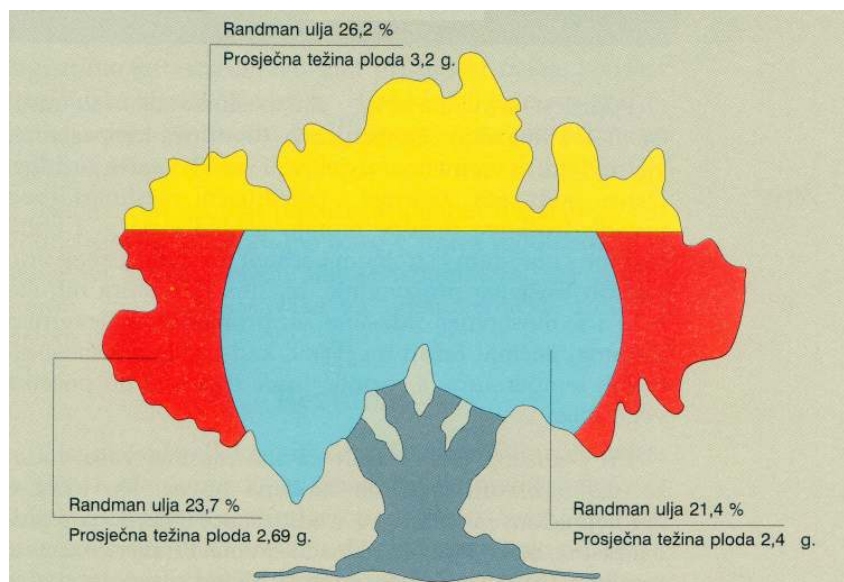
2.3.3. Utjecaj svjetlosti na razvoj ploda masline i tvorbu ulja

Svjetlo značajno utječe na dozrijevanje plodova masline. Tako je u područjima s mnogo sunčeva svjetla dozrijevanje brzo. Čak i na istom stablu, plodovi na osvjetljenim položajima u krošnji mnogo brže dozrijevaju. Svjetlost ne utječa samo na proces dozrijevanja plodova već i na kakvoću ulja. Obilje svjetlosti povezano je sa stvaranjem i prisutnošću mnogih aromatskih tvari u ulju.

2.3.3.1. Oblik (struktura) krošnje

Kad govorimo o strukturi krošnje mislimo na oblik i razmještaj nadzemnih dijelova biljke, uključivši njihovu veličinu, oblik i orijentaciju organa kao što su grane i ogranci, lišće i plodovi. Sve to određuje pristup sunčevim zrakama različitim biljnim organima, utječući time na fotosintetsku aktivnost.

Pokusi koje je u šezdesetih godina dvadesetog stoljeća provodio Ortega-Nieto u Španjolskoj pokazali su da su prosječna masa (veličina ploda) i sadržaj ulja u plodu povezani s njegovim položajem u krošnji: najveći plodovi, s ujedno najvećim udjelom ulja, nalaze se u gornjem dijelu krošnje, koji je izložen najvećoj insolaciji (**Slika 7**). Ova istraživanja koja su provedena uz ispitivanje utjecaja raznih uzgojnih oblika i rezidbe na prinos maslina po stablu, dokazuju važnu ulogu ustroja krošnje na rast maslina i nakupljanje ulja, iako nisu dala informacije o fotosintezi samoga ploda na stvaranje ulja (Sanchez, J. 1994).



Slika 7. Utjecaj položaja u krošnji na težinu ploda i na udio ulja u plodu. (Sanchez, J., 1994, prema Ortega-Nieto, 1962.)

2.3.3.2. Fotosinteza ploda

Već je dugo poznato da plodovi raznog bilja koji su zeleni tijekom svog razvoja i dozrijevanja imaju značajnu fotosintetsku aktivnost. Tada plod više proizvodi nego što troši disanjem. Međutim, kako plod dozrijeva mijenja boju, a fotosintetska aktivnost opada. Visoka razina C4 organskih kiselina nađenih u plodu (za razliku od lista), a posebno malata, te enzimske aktivnosti povezane s C4 metabolizmom (osobito visoko djelovanje fosfoenolpiruvat karboksilaze i malat dehidrogenaze), daje nam za pravo pretpostaviti da je fotosinteza ploda specifičan slučaj C4/CAM tipa fotosinteze. Međutim, nepodudaranja kao što je izostanak 'Kranz'-ove anatomije, te značajnijih fluktuacija u kiselosti, ukazuju na ne postojanje C4 tipa fotosinteze kod ploda. Ova nepodudaranja temelj su pretpostavci da se fotosinteza ploda treba promatrati kao novi tip fotosinteze. Prema takvom konceptu, plodovi se mogu smatrati visoko heterofilnim, djelujući kao snažni sabirni organi; tijekom rasta ploda, a zahvaljujući mitohondrijskom disanju zahvaljujući pristiglim asimilatima i nepropusnosti kutikule, plodovi nakupljaju visoku razinu CO₂ u svom slobodnom prostoru. Tako bi uloga aktivnosti fosfoenolpiruvat karboksilaze u plodu bila ta da ponovno veže CO₂ nastao disanjem, koji se pohranjuje u vakuolama ugrađen u organske kiseline, obično u formi malata, čime se gubitak CO₂ smanjuje na najmanju moguću mjeru. Tijekom svjetlosnog perioda malat se može mobilizirati enzimima, a nastali CO₂ reciklirati u Calvin-ovom ciklusu, usporedo sa izravnom fiksacijom atmosferskog CO₂. Ukratko, uloga fotosintetskog metabolizma ugljika u plodu masline je reasimilacija respiriranog CO₂.

Pokusima s [^{14}C]acetatom otkrilo se da je u fotosintetskom prihvatu svjetlosti aktivan samo vanjski zeleni epikarp (pokožica ploda), dok osvjetljivanje mezokarpa odnosno mesa ploda nije uzrokovalo nikakvu sintezu triacilglicerola. Slični su rezultati dobiveni korištenjem [^{14}C]piruvata kao alternativnog prekursora masnih kiselina, što ukazuje da je sinteza masnih kiselina ovisna o fotosintetskoj aktivnosti.

I acetat i piruvat su prikladni prekursori za proučavanje tvorme triacilglicerola zato što se efikasno usmjeruju u sintezu masnih kiselina. Međutim, daleko jasniji rezultati o utjecaju fotosinteze na lipide dobiveni su korištenjem [^{14}C]bikarbonata kao označenog supstrata. Isječci tkiva od plodova u razvoju pokazali su se sposobnim za fiksaciju [^{14}C]bikarbonata kako u vodotopive produkte (ugljikohidrate, organske kiseline i aminokiseline) tako i u glicerolipide (uključujući triacilglicerole). Sinteza glicerolipida iz [^{14}C]bikarbonata pokazala se vrlo ovisnom o svjetlu, te je stoga dešava u epikarpu. Štoviše, ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza je također koncentrirana u epikarpu, dok je fosfoenolpiruvat karboksilaza podjednako raspoređena između epikarpa i mezokarpa, ukazujući da se ugrađivanje [^{14}C]bikarbonata u lipide dešava u Kalvinovom ciklusu, pa je stoga izravno povezano s fotosintezom.

Ove činjenice ukazuju da je barem polovica svih triacilglicerola u plodovima nastala od asimilata koji su došli iz listova. Zanimljivo je da kad se uspoređuju biosintetske aktivnosti plodova u pokusima s radioaktivnim ugljikom, plodovi koji su rasli na grančicama bez listova (provedena defolijacija) bili su više aktivni u ugradnji (na svjetlu) bilo [^{14}C]bikarbonata bilo $^{14}\text{CO}_2$ u lipide, dok su manje razlike primjećene korištenjem [^{14}C]acetata. Čini se da plodovi koji oskudijevaju prikladnim izvorom (lišće) asimilata poboljšavaju svoje fotosintetske sposobnosti, što im makar djelomično omogućava da se razvijaju i rastu.

Ukratko, enzim fosfoenolpiruvat karboksilaza, koja ima visok afinitet prema bikarbonatu, obilno je prisutan u mesu (pulpi) ploda masline.

Zna se da manitol služi kao translocijska tvar u maslinama, a nešto noviji izvori govore o umješašanosti tetrasaharida stahiloze u cijeli proces. Znanja o stvorenim ili pristiglim asimilatima u plodu masline, te enzimima i metaboličkim putevima koji u tvorbi lipida u budućnosti bi se mogla iskoristiti za manipulaciju udjelom ulja u plodovima, bilo da ga se želi povećati ili smanjiti (Sanchez, J., 1994).

2.3.4. Agrotehničke mjere

Agrotehničkim mjerama pokušava se dati stalnost određenim značajkama ulja zaštićenog porijekla, postojanost proizvodnje tako da se ograniče oscilacije uzrokovane vremenskim uvjetima. Pošto su agrotehnički zahvati kompleksni radovi i u njih se ubrajaju razne mjere, a njihov utjecaj na samu kvalitetu ulja nije toliko izražen opisat ću samo najznačajnije karakteristike tih mjera.

2.3.4.1. Gnojidba i obrada

Utjecaji gnojidbe su mnogostruki, uz specifičnost utjecaja na metabolizam, djelovanje gnojiva ovisno je o agrotehničkim zahvatima, koji utječu na iskoritivost gnojiva za vrijeme biološkog ciklusa.

Dušik stimulira vegetativni rast kao sastavni dio klorofila, te pomaže asimilaciju drugih hranjivih elemenata. Najveći zahtjevi za dušikom su u fazi cvatnje, do okoštavanja sjemenki. Jaka gnojidba dušikom forsira rast masline te metabolizam lišća, plodovi zakašnjavaju u zriobi, povećavaju se količine oleinske i stearinske kiseline, otežavajući normalnu preradu maslina uslijed slabije konzistencije mesa ploda, te uzrokuje povećanu osjetljivost masline na niže zimske temperature kao i na napade štetnika i bolesti.

Fosfor je vrlo značajan element mnogih enzima, proteina, te igra primarnu ulogu u fotosintezi. Pomaže cvatnji i oplodnji plodova, ubrzava procese zriobe, balansirajući eventualne prevelike količine dušika.

Kalij ima primarnu ulogu u akumulaciji ugljikohidrata, stvaranju ulja u plodovima, sintezi fenola i aminokiselina. Pomaže otpornosti masline na negativne klimatske utjecaje, bolesti i štetnike.

Kalcij kontrolira ulogu pojedinih enzima, sastavni je dio stanice, pomaže diobi stanice, permeabilitetu stanice, translokaciji ugljikohidrata.

Magnezij je značajan sastojak klorofila koji pomaže procese sinteze RNA i značajan aktivator enzima. Pomanjkanjem magnezija vegetativna aktivnost masline se reducira.

Bor je vezan na metabolizam ugljikohidrata, raznim sistemima enzima hormonskim funkcijama.

Obrada tla je usko povezana s gnojidbom jer pri obradi se dodaju gnojiva. Plitkom obradom kroz dugi niz godina stvara se na određenoj dubini sloj zemlje koji se svakih 5-6 godina unošenjem fosforno-kalijevih gnojiva dubokom brazdom na 20 do 30 cm razbija te stvaraju bolji uvjeti za rast korijena. Značaj ove dublje brazde sastoji se od toga što se rezanjem korijena stimulira bolji rast masline obnavljanjem korijena.

2.3.4.2. Navodnjavanje

Navodnjavanje je vrlo pozitivna agrotehnička mjera. Djeluje na ranije stvaranje ulja, kada su manji prinosi, a na kasnije stvaranje ulja, kod visokih prinosa. Utječe na metabolizam triglicerida. Ulje postiže karakteristični omjer oleinske i linolne kiseline, gdje je količina linolne uvijek niža. Dalje je karakteristična veća količina klorofila koja čini ulje otpornijim na oksidaciju uz ugodniji okus (Kiritsakis, A. K. 1998).

Češćim navodnjavanjem, rast plodova i proces stvaranja ulja odvija se kontinuirano, bez ljetnog zastoja, potičući stvaranje uniformnih plodova s manjim košticama.

Pomanjkanje vode kod maslina, kao i kod drugih voćnih vrsta, ogleda se u opadanju plodova. Plodovi se smežuraju, a ulje postaje pikantnije i gorče (Škarica, B., Žužić, I., Bonifačić, M., 1996).

2.3.4.3. Rezidba

Rezidbom se omogućavaju predispozicije za svijetlo kao glavni čimbenik koji utječe na karakteristiku ploda. Pravilnom rezidbom postiže se vegetativno-generativna ravnoteža, osigurava stalnost roda i uklanja opasnost od zaraze bolestima i štetnicima. Postiže se bolja osvjetljenost maslinika i kvalitetniji i veći plod, s većim radmanom ulja. Ako je rezidba nepravilna, takvi se plodovi mogu naći samo na vanjskoj strani krošnje, na dobro osvjetljenim i prozračnim mjestima.

Maslina je produktivna kad rezidbom reguliramo prirodni razvoj i zajedno s ostalim agrotehničkim zahvatima omogućujemo pravilniju ravnotežu vegetativnih i generativnih organa. S obzirom na raznolikost agrotehničkih mjera rezidba regulira učinke agrotehničkih zahvata i određenog podneblja.

2.3.5. Berba, transport i prerada maslina

2.3.5.1. Berba maslina

Berba maslina najprikladnija je kod njene optimalne zrelosti. U toj fazi sadržaj i kvaliteta ulja su najveći. Prerana ili prekasna berba imaju negativan utjecaj na kvalitetu i kvantitetu. 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.

Tradicionalno, masline se beru kad su zeleno-žute ili crno-ljubičaste boje. Pošto plodovi masline na istom drvetu ne dozrijevaju ujednačeno berba se provodi kad je većina plodova optimalne zrelosti. Ovakva berba

nije uvijek moguća zbog različitih faktora koji utječu na berbu kao što su dostupnost radne snage, raspolaganje uljara, vremenski uvjeti, itd.

Tehnike berbe maslina nepromjenjene su u mnogim zemljama. Nove tehnike korištene za olakšanu berbu maslina uvode se u zadnje vrijeme. Tehnika berbe ima utjecaj na kvalitetu ulja.

Skupljanje plodova s tla je metoda koja se izbjegava zbog njezinog lošeg utjecaja na kakvoću ulja. Period između opadanja plodova, te njihovo višednevno ostajanje na tlu prije skupljanja je najvažniji faktor koji utječe na povećanje količine slobodnih masnih kiselina tj. kiselosti. Ova negativnost se posebno ističe kod plodova koja su zaraženi maslinovom muhom.

Berba ploda sa stabla gotovo uvijek se obavlja ručno. Ova metoda se primjenjuje u malim i mladim maslinicima. Plodove najbolje kakvoće preporučljivo je brati ručno sa stabla da bi se osigurala najbolja kvaliteta ulja. Ovaj način berbe rezultira najmanjim ozljeđivanjem stabla. Ručna berba zahtjeva mnogobrojne sudionike, što povećava ukupne troškove proizvodnje ulja.

Berba maslina udaranjem po granama s dugom motkom od drveta ili plastike nakon što je kožica plodova potamnila i količina ulja je znatna. Ova metoda može uzrokovati oštećenje plodnih grana i širenje bolesti. Da bi se unaprijedila te ubrzala berba maslina napravljen je mali stroj tresać, koji udara po granama. Uspoređujući ovaj tresać i ručno udaranje grana motkom utvrđen je niži postotak oštećenih plodova, te su ova saznanja utjecala na širenje ovih strojeva na sva područja gdje se uzgaja maslina.

Berba tresaćima obavlja berbu trešnjom grana ili cijelih stabala, pri čemu plodovi padaju na prostirku postavljenu ispod krošnje. Ovakav način berbe je prihvatljiv sa stajališta kvalitete plodova.

2.3.5.2. Transport i skladištenje maslina

Zastarjela praksa transporta plodova masline iz maslinika do uljara je u plastičnim ili jutenim vrećama. Ovakav način transporta treba izbjegavati zbog uvijeta koji potiču razvoj mikroorganizama i kvarenje plodova masline. Najbolji način transporta je u plastičnim ili drvenim sanducima s rupičastim stijenkama za cirkulaciju zraka. Na taj način spriječava se štetno zagrijavanje plodova uzrokovano kataboličkim aktivnosti ploda. Plastični sanduci različitog su kapaciteta, najčešće plitki, pa ograničavaju debljinu sloja maslina i izbjegava se opasnost gnječenja plodova i kvaliteta ulja je dobra. Oštećeni plodovi rezultiraju uljima loše kvalitete. Osim toga, plastični sanduci su pogodni i za čuvanje maslina do prerade, te je bolje iskorištenje prostora kod skladištenja.

Prerada maslina u idealnim uvjetima trebala bi se odvijati neposredno nakon berbe, međutim najčešće to nije moguće te plodove

treba uskladištiti. Tijekom skladištenja odvija se više kemijskih i biokemijskih procesa te vode ka kvarenju ulja. Najveće štete su uzrokovane fermentacijom ulja. Ovaj proces je uzrokovan djelovanjem enzima endogenog porijekla iz tkiva masline te enzima bakterija, kvasaca i plijesni koji se razvijaju na njima. Pod utjecajem enzima plodovi se ubrzano kvare. Kako maslina diše, povisuje se temperatura koja se ne raspršuje učinkovito, te ti procesi ubrzavaju enzimatsku aktivnost. Lipoliza, oksidacija lipida i druge nepoželjne reakcije uzrokuju povećanje kiselosti i degradaciju okusa i mirisa ulja. Skladištenje maslina treba vršiti u rashlađenim prostorima te prostiranju plodova maslina u slojevima ne većim od 25 cm da bi se izbjeglo kvarenje maslina.

Osim navedenog načina još postoji mogućnost skladištenja u slanoj vodi. Ovaj način skladištenja rezultira malim povećanjem kiselosti za razliku od smanjenog razvoja mikroorganizama.

Još se podovi masline mogu čuvati u anaerobnim uvjetima, sušenjem plodova infracrvenim zrakama prije skladištenja, čuvanje u tankovima s inertnim plinom, u komorama s kontroliranom atmosferom, te čuvanje u rashlađenim prostorijama u blizini postrojenja za preradu maslina (uljare).

2.3.5.3. Prerada 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 gubi se pomiješano s kominom i u vegetabilnoj vodi.

Prerada maslina se sastoji od sljedećih postupaka: čišćenja i pranja plodova, 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.

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 vode-ulja i čvrstih sastojaka, tako da mogu uzrokovati različite učinke: nemogućnost izlučivanja sve kličine 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.

2.3.5.4. Čuvanje maslinovog ulja

Neki proizvođači maslinova ulja pakiraju u boce svježe prešano ulje izuzetne kakvoće, a to je obično prva frakcija ulja (ulje koje poteče još prije početka prešanja ili na samom početku prešanja) koja može biti ponešto zamućena (dopušteno je odgovarajućim pravilnicima). Ostali proizvođači prije pakiranja za prodaju bistre ulje puštajući da se čestice koje uzrokuju mutnoću prirodno istalože, što može potrajati i do par mjeseci u odgovarajućim posudama. Međutim, u velikoj proizvodnji ne može se (a ponekad nije ni sigurno) čekati da mutnoća u ulju prirodno istaloži pa se 'sirovo' ulje već u samom postupku dobivanja u završnoj fazi centrifugira na velikom broju okretaja i/ili filtrira prethodno tretirano diatomejskom zemljom u svrhu odstranjivanja tragova vode. Takav industrijski proces koji se odvija u jednom prohodu naziva se kontinuirani proces. Vodu je potrebno odstraniti jer je bez nje otežana enzimatska aktivnost u ulju, pa se time minimalizira razvoj nepoželjnih mirisa i okusa ulja.

Prostori za čuvanje (kako skladišta, tako i smočnice) ulja trebaju biti svježiji, prozračni i zamračeni s temperaturom oko 10 °C. Proces kvarenja ulja je kontinuiran i ireverzibilan proces oksidacije i ovisi o uvjetima čuvanja ulja. Spremnici za čuvanje ulja mogu biti pomični ili nepomični. Prilikom čuvanja ulja u uljarama nekoliko mjeseci preporučuje se da cijeli skladišni prostor bude ukopan. Za čuvanje ulja u većim količinama u upotrebi su sve više spremnici od nehrđajućeg čelika (inox). U slučaju da se ulje čuva na otvorenom spremnici moraju imati termoizolaciju da se spriječe ekstremne promjene temperature. Svi spremnici trebali bi imati konično dno na kojem je ugrađena odvodna cijev s ventilom za ispuštanje taloga i vode.

Spremnici trebaju biti fizikalno i kemijski inertni naspram ulja da se izbjegne negativno zadržavanje okusa i mirisa u ulju. U prošlosti su se koristile glinene i metalne posude za čuvanje ulja. Ulja iz metalnih posuda imala su okus po metalu i oksidativno kvarenje ulja je bilo ubrzano. Prevlačenje metalnih spremnika s emajlom poboljšana je njihova inertnost prema ulju. Emajlirajuće i staklene prevlake se smatraju najboljom prevlakom sa spremnike velikih kapaciteta. Jednim pokusom ustanovljeno je da je ulje čuvano 325 dana u emajliranom spremniku imalo niže slobodne masne kiseline, peroksidni broj, te bolja organoleptička svojstva od ulja čuvanog u čeličnom spremniku.

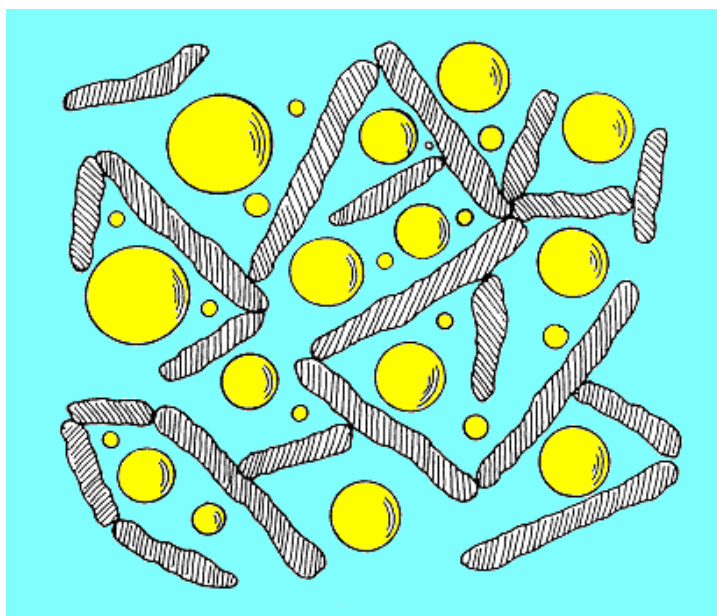
U pravilu bi spremnici za ulja trebali imati ova svojstva:

1. konstruiran od materijala nepropusnog za ulje, tako da se nakon temeljnog čišćenja može ponovo upotrijebiti,
2. inertan, da ne reagira s uljem koje absorbira mirise i metale ubrzavajući oksidaciju,

3. zaštita ulja od svjetla i pristupa zraka,
4. zadržava konstantnu temperaturu, približno 10 °C (pri ovoj temperaturi oksidacija je reducirana, a također i zamućivanje).

2.4. Maslinovo ulje

Ulje je unutar stanica ploda smješteno u vakuolama koje, kako se ulje nakuplja, mogu rasti, pa tako čak ispuniti cijelu stanicu. Vakuole maslinovog ulja mogu imati promjer između 39 i 63 µm. Veće vakuole mogu izobličiti stanicu pritiskanjem njezine membrane. Često su veće kapljice mogu naći zajedno s manjima i istoj stanici (**Slika 8.**). Količina ulja u stanici postepeno raste tijekom jeseni i zime (u toplijm krajevima); ona dostiže svoj maksimum negdje između kraja studenog i siječnja. Vanjski znakovi zrenja ploda masline okarakterizirano je povećanjem veličine ploda, te promjenom boje njegove kože. Boja kože se isprva mjenja od zelene na žutu, zatim na crvenkasto ljubičastu i na kraju u zagasito ljubičastu. Kada plod masline jednom dosegne određeni stupanj zrelosti, daljnje povećanje udjela ulja u njemu nije posljedica stvaranja ulja, već gubitka vode; u stvari od te točke stvarna količina ulja se zapravo smanjuje, a tako i njegova kakvoća (Lotti *et al.* 1982, prema Kiritsakis, A. K. 1998).



Slika 8. Kapljice ulja u stanici (Kiritsakis, A. K., 1998)

Maslinovo ulje se sastoji od triacilglicerola, male količine slobodnih masnih kiselina, glicerola, fosfatida, pigmenta, sastojaka okusa, sterola, neindetificiranih smolastih komponenti te drugih sastojaka. Maslinovo ulje, kao predstavnik skupine jednostavnih lipida, najvećim dijelom sastoji se od triacilglicerola. U pratnji triacilglicerola uvijek je i manja količina lipida iz drugih skupina, koji se nazivaju negliceridni ili neosapunjivi sastojci. Neosapunjivi sastojci u djevičanskom maslinovom ulju čine 0.5 – 1.5 %, dok u komini čine oko 2.5 %. Neki neosapunjivi sastojci doprinose organoleptičkoj kvaliteti ulja.

2.4.1. Masne kiseline u maslinovom ulju

Najzastupljenije masne kiseline u maslinovom ulju u obliku triglicerida su oleinska (C18:1), linolna (C18:2), palmitinska (C16:0), i stearinska kiselina (C18:0) (Kiritsakis, A. K., 1998). Oleinska kiselina je zastupljena u najvišoj koncentraciji 55-83 % za razliku od ostalih masnih kiselina.

Masne kiseline u maslinovom ulju variraju u širokim razmjerima ovisno o sorti, stupnju zrelosti ploda, nadmorskoj visini, klimi i mnogim drugim čimbenicima. Osim oleinske ostale masne kiseline su zastupljene u količinama: palmitinska 7-20 %, linolna 3.5-21 %, stearinska 0.5-5 %, palmitoleinska 0.3-3.5 %, linolenska ≤ 0.9 %, gadoleinska ≤ 0.4 %, te ostale koje su zastupljene u još nižim količinama.

Tablica 3. Masne kiseline u maslinovu ulju (Međunarodni Savjet za maslinovo ulje; engl. *International Olive Oil Council* (1995))

masne kiseline	udio (%)
Oleinska	55.0 – 83.0
Palmitinska	7.5 – 20.0
Linolna	3.5 – 21.0
Stearinska	0.5 – 5.0
Palmitoleinska	0.3 – 3.5
Linolenska	≤ 0.9
Miristinska	≤ 0.1
Arahinska	≤ 0.6
Behenska	$\leq 0.2^*$
Lignocerinska	≤ 0.2
Heptadekanska	≤ 0.3
Heptadecenska	≤ 0.3
Gadoleinska	≤ 0.4

*Granična vrijednost za ulje komine je $\leq 0.3\%$

Vrsta i udio masnih kiselina u maslinovom ulju je pod utjecajem klimatskih čimbenika, pa je tako ustanovljeno da je oleinska kiselina povišena, a linolna kiselina snižena u mesu ploda masline kako se prilazi hladnijim podnebljima. Generalizirano plodovi masline s hladnijih podneblja sadrže više nezasićenih masnih kiselina nego plodovi iz toplijih područja. Prema tome maslinovo ulje sa Sjevernog Mediterana je bogatije tekućim gliceridima u usporedbi s uljem sa Južnog Mediterana koje je bogatije krutim gliceridima (uglavnom gliceridi palmitinske i stearinske kiseline).

Maslinovo ulje sadrži veće količine oleinske i manje linolne i linoleinske kiseline od ostalih ulja biljnog porijekla, te ova svojstva čine maslinovo ulje otpornije prema oksidaciji.

Mnogi čimbenici kao što su vrijeme berbe, sorta i porijeklo, utječu različito na stvaranje glavnih masnih kiselina u ulju. Odnos zasićenih i nezasićenih masnih kiselina se mijenja sa geografskom širinom usljed povećanja oleinske te smanjenja linolne, palmitinske i stearinske kiseline. Također su vršena istraživanja u kojima je ustanovljen znatan utjecaj okoline na masne kiseline i omjere masnih kiselina u maslinovu ulju. Varijacije udjela masnih kiselina su još povezane s stupnjem zrelosti ploda. Odgađanje berbe dovodi do povećanja nezasićenih masnih kiselina, posebno linolne kiseline na račun palmitinske kiseline (Kiritsakis, A. K., 1998).

2.4.2. Triacilgliceroli u maslinovom ulju

Velika većina masnih kiselina se nalazi vezana u molekulama triacilglicerola. Triacilgliceroli su esteri masnih kiselina i trovalentnog alkohola glicerola. Esterifikacija može biti na jednoj, dvije ili na sve tri hidroksilne skupine glicerola, pa ovisno o tome nastaju mono-, di- i triacilgliceroli. Razmještaj masnih kiselina u prirodnim uljima ne dolazi slučajno, te na atom ugljika u poziciji 2 glicerola uglavnom se vežu nezasićene masne kiseline. Mono- i diacilgliceroli dolaze u malim količinama. Oni nastaju hidrolizom glicerida, pa je njihov sadržaj u prirodnom ulju ovisan o stupnju hidrolitičkih promjena, te je njihova prisutnost svojstvena uljima loše kakvoće.

Maslinovo ulje, kao i druga ulja biljnog porijekla imaju visoku koncentraciju oleinske kiseline i nisku koncentraciju zasićenih masnih kiselina na položaju 2 triacilglicerola. Detektiranje prisutnosti palmitinske kiseline na položaju 2 triacilglicerola maslinovog ulja dovodi do spoznaje o patvorenju ulja.

Tri glavna triacilglicerola u maslinovom ulju su OOL (6.8 %), OOO (43.5 %), POO (18.4 %), te su još neki navedeni SOO (5.1 %), POL (5.9 %), (P= palmitinska, O= oleinska, S= Stearinska, i L= linolna kiselina).

2.4.3. Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u pulpi, sjemenki i cjelovitom plodu masline

S obzirom da kompletno ulje ploda masline potječe od njegove pulpe, možemo aproksimirati da je ulje dobiveno od cijelog ploda (dakle s košticom) i odkoštičenog ploda zapravo vrlo slično po količini i vrsti masnih kiselina u svojim triacilglicerolima. Ustanovljeno je da su ulja dobivena samo od pulpe i ulja od cjelovitih plodova bogatija pojedinim mononezasićenim masnim kiselinama (izuzev eikosanske kiseline), kao i ukupnim mononezasićenim masnim kiselinama (engl. *monounsaturated fatty acids* – MUFA) prvenstveno zbog većeg udjela oleinske kiseline koja je ujedno i glavni sastojak ulja dobivenog kod sve tri vrste ulja (**Tablica 4**). Ulja cjelovitog ploda i ulja pulpe također su bogatija ukupnim zasićenim masnim kiselinama (engl. *saturated fatty acids* – SFA), poglavito uslijed većeg udjela palmitinske kiseline (glavne zasićene masne kiseline triacilglicerola u sve tri vrste ulja), čak i kada je u njima udio stearinske kiseline (druge po zastupljenosti zasićene masne kiseline) manji (**Tablica 4**) (Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Di Loreto, G., Iannucci, E., Lucera, L. i Russi, F., 2002.).

Tablica 4. Udio pojedinih masnih kiselina (%) (kako je određeno pomoću HRGC Method) u ulju pulpe, sjemenke i cjelovitog ploda masline^a

masne kiseline	vrsta ulja		
	pulpa	sjemenka	cjelovit plod masline
C16:0 (palmitinska)	13.43 ± 1.21a	10.15 ± 1.02b	13.44 ± 1.15a
C16:1 (palmitoleinska)	1.15 ± 0.07a	0.39 ± 0.04b	1.09 ± 0.08a
C17:0 (heptadekanska)	0.11 ± 0.01a	0.10 ± 0.01a	0.12 ± 0.01a
C17:1 (heptadekanska)	0.28 ± 0.02a	0.11 ± 0.01b	0.18 ± 0.02a
C18:0 (stearinska)	2.45 ± 0.17a	2.87 ± 0.24b	2.56 ± 0.31a
C18:1 (oleinska)	73.01 ± 7.55a	68.02 ± 6.37b	72.97 ± 6.89a
C18:2 (linolenska)	7.95 ± 0.83a	16.55 ± 1.84b	8.00 ± 0.63a
C20:0 (arahidonska)	0.47 ± 0.04a	0.51 ± 0.05a	0.45 ± 0.02a
C18:3 (linolenska)	0.66 ± 0.06a	0.42 ± 0.04b	0.58 ± 0.05a
C20:1 (eikosanska)	0.28 ± 0.02a	0.59 ± 0.04b	0.39 ± 0.03a
C22:0 (behenska)	0.21 ± 0.02a	0.29 ± 0.02a	0.22 ± 0.01a
Σ SFA ^b	16.67 ± 1.55a	13.92 ± 1.25b	16.79 ± 1.30a
Σ MUFA ^c	74.72 ± 6.02a	69.11 ± 4.97b	74.63 ± 6.38a
Σ PUFA ^d	8.61 ± 8.92a	16.97 ± 1.63b	8.58 ± 0.76a

^a Vrijednosti (% od ukupnih masnih kiselina) su aritmetičke sredine ± SD ($n = 28$) ulja sedam glavnih talijanskih sorti: *leccino*, *dritta*, *caroleo*, *coratina*, *castiglione*, *carboncella* i *nebbio*. Za svaku sortu i svaku vrstu ulja analizirano je po četiri nezavisnih uzoraka. Aritmetičke sredine u istom retku označene različitim slovom značajno se razlikuju (Scheffé's test, $p \leq 0.05$).

^b SFA, zasićene masne kiseline.

^c MUFA, mononezasićene masne kiseline.

^d PUFA, polinezasićene masne kiseline.

(Ranalli, A., et al., 2002.).

Ulje od sjemena bogatije je polinezasićenim masnim kiselinama (PUFA, engl. *polyunsaturated fatty acids*) (čak i kad im je udio linolenske kiseline nizak), zbog povišenog udjela linolne kiseline (glavnog sastojka PUFA frakcije (**Tablica 4**)). Ovi se podaci uglavnom podudaraju s podacima drugih autora, čak i kad su korištena drugačija otapala za ekstrakciju. S nutricionističkog gledišta unos ulja dobivenog od sjemenke, za razliku od ulja dobivenog od pulpe ili cjelovitog ploda, rezultira izraženom oksidacijom lipoproteina niske gustoće (engl. *low-density lipoproteins* – LDL), koji sadrže na tisuće masnih kiselina primarno poteklih od unešene hrane. Međutim, prema nekim autorima, ulje iz sjemena, pored toga što je njegov udio u ukupnom ulju ploda masline minimalan, samo se djelomično izdvja današnjim postupcima (mehaničkim) ekstrakcije; sve su učestalija istraživanja tehničkih rješenja kojima bi se koštice uklonile iz plodova prije ekstrakcije ulja. Ukoliko je prerađen cjelovit plod, sastojci ulja iz sjemenke može poslužiti, korištenjem posebnih laboratorijskih postupaka, za klasificiranje nepoznatih maslinovih ulja.

Svojstva sorte masline (genetski resurs) utječu na kvantitetu ali ne i na vrstu masnih kiselina u ulju. Tako je npr. ulje sorte Caroleo bogatije oleinskom kiselinom, a siromašnije linolenskom, dok ulja sorti Nebbio i Leccino sadrže manje palmitinske kiseline.

CDA metoda klasifikacije maslinovog ulja temelji se na podacima udjela različitih masnih kiselina cjelovitog ploda masline, te je učinkovita u razlikovanju sorti maslina od kojih je ulje dobiveno. U stvari, temeljeno na Mahalanobis udaljenosti, sve sorte se mogu korektno klasificirati pomoću dva prva korijena (kanoničke funkcije). Tako su u jednom istraživanju već prvim korijenom razlikovane sorte *Leccino*, *Karoleo*, *Koratina*, *Nebbio*, i *Dritta* varieties (pozitivna polovica) kao i sorta *Karboncella* (negativna polovica), dok se drugim korijenom razlikovala sorta *Kastiglione*.

RDA metoda klasifikacije (temeljena na podacima o udjelima masnih kiselina ulja dobivenih preradom cjelovitih plodova) također se pokazala vrlo učinkovitom za razlikovanje sorata maslina. Ova multivarijatna metoda traži zavisne procjene (engl. *biased estimates*) matrica kovarijanci u cilju smanjivanja njihovih varijanci.

2.4.4. Udio različitih vrsta triacilglicerola (%) u pulpi, sjemenki i cjelovitom plodu masline

Primjećeno je da ulja pulpe, sjemenki i cjelovitih plodova sadrže iste vrste triacilglicerola, ali u različitim koncentracijama ovisno o ekvivalentu broja ugljika (engl. *equivalent carbon number* – ECN) tih komponenti (**Tablica 5**). ECN triacilglicerola se definira kao broj atoma ugljika koji se nalazi u njegovoj molekuli minus dvostruki broj dvostrukih veza.

Tablica 5. Udio različitih vrsta triacilglicerola (%) (detektirano pomoću HPLC metode) ulja dobivenog od pulpe, sjemenke i cjelovitog ploda^a

vrsta triacilglicerola	vrsta ulja		
	pulpa	sjemenka	cjeloviti plod
trilinolein (LLL)	0.18 ± 0.02a	1.92 ± 0.16b	0.31 ± 0.02a
1,2-dilinoleoil-3-oleoil-glicerol (LLO)	1.90 ± 0.18a	7.85 ± 0.55b	1.79 ± 0.14a
1,2-dilinoil-3-palmitoil-glicerol (LLP)	1.42 ± 0.10a	2.26 ± 0.18b	1.45 ± 0.12a
1,3-dioleoil-2-linoleoil-glicerol (OLO)	13.92 ± 1.21a	20.27 ± 1.77b	14.32 ± 1.33a
1-palmitoil-2-oleoil-3-linoleoil-glicerol (POL)	6.83 ± 0.49a	7.93 ± 0.78b	7.31 ± 0.70a
triolein (OOO)	40.51 ± 4.17a	34.85 ± 3.22b	39.63 ± 3.43a
1,2-dioleoil-3-palmitoil-glicerol (OOP)	25.96 ± 1.61a	16.89 ± 1.54b	26.01 ± 2.51a
1,2-dipalmitoil-3-oleoil-glicerol (PPO)	4.51 ± 0.40a	2.57 ± 0.29b	4.23 ± 0.39a
1-stearoil-2,3-dioleoil-glicerol (SOO)	4.77 ± 0.43a	5.46 ± 0.41b	4.95 ± 0.52a

^a Vrijednosti (izražene u % od ukupnih triacilglicerola) su srednje vrijednosti ± SD ($n = 28$) od ulja sedam vodećih talijanskih sorti maslina: *Leccino*, *Dritta*, *Caroleo*, *Coratina*, *Castiglione*, *Carboncella*, i *Nebbio*. Od svake sorte i svake vrste ulja analizirana su četiri nezavisna uzorka. Srednje vrijednosti unutar istog retka a kojima su dodijeljena različita slova značajno se razlikuju (Scheffé's test, $p \leq 0.05$) (Ranalli, A., et al., 2002.).

Ove tri vrste ulja sadrže četiri glavne vrste triacilglicerola, kao što su triolein (OOO), 1,2-dioleoil-3-palmitoil-glicerol (OOP), 1,3-dioleoil-2-linoleoil-glicerol (OLO), i 1-palmitoil-2-oleoil-3-linoleoil-glicerol (POL). Osim toga, ona sadržavaju osrednji postotak 1,2-dipalmitoil-3-oleoil-glicerola (PPO) i 1-stearoil-2,3-dioleoil-glicerola (SOO), te mali postotak 1,2-dilinoleoil-3-palmitoil-glicerola (LLP). 1,2-dilinoleoil-3-oleoil-glicerol (LLO) pokazao se kao glavni triacilglicerol u uljima dobivenih iz sjemenki, ali ga je zato bilo vrlo malo u uljima iz pulpe i cjelovitog ploda. OOO, OOP, i PPO vrste triacilglicerola (ECN = 48) bile su mnogo zastupljenije u pulpi i cjelovitom plodu, dok su triacilgliceroli acilirani s linoleilnim lancem (koji je imao nisku ECN vrijednost), kao što su LLL (ECN = 42), LLO i LLP (ECN = 44), te OLO i POL (ECN = 46), bili više zastupljeni u ulju sjemenki. Ovakvi rezultati su, općenito, sukladni onima drugih istraživača.

Razlike u relativnom udjelu triacilglicerola između ulja pulpe i sjemenke mogu se objasniti pretpostavkom da se te tvari sintetiziraju u sjemenci s ciljem ishrane embrija tijekom početne faze klijanja, dok triacilgliceroli pulpe ne imaju nikakvu fiziološku svrhu.

Čimbenik sorte utječe na kvantitativni ali ne i na kvalitativni udio triacilglicerola ulja neke sorte. Tako je, recimo ulje plodova talijanske sorte *Dritta* bogatije s POL, dok je ono sorte *Castiglione* bogatije s LLO i OLO, a ulje sorte *Caroleo* bogatije s OOO, ali siromašnije s OLO.

Zapaženo je da je osjet na dodir (pod prstima, u ustima) kod ulja spomenutih sorti pod utjecajem vrste triacilglicerola koje sadrže, dok je njihov okus pod utjecajem vrsta i udjela masnih kiselina (posebno se tu ističe omjer oleinska/linolna kiselina). Ipak, kod ovih ulja zasićene masne kiseline su gotovo 100% smještene na 1,3-položaj glicerolnog kostura, dok se nezasićene kiseline nalaze na položaju 2. Biljni enzimi određuju

kako prirodu masnih kiselina tako i stereoselektivnost pri acilaciji glicerola.

Na temelju udjela različitih vrsta triacilglicerola ulja sjemenki, tri multivarijatne biometričke metode pokazale se učinkovite; HCA, SIMCA i KNN učinkovite su za razlikovanje sorti maslina. HCA proizvodi hijerarhijsko odvajanje (particiju) objekata tako da je bilo koji klaster (engl. *cluster*) neke particije potpuno uključen u neki od klastera kasnije particije. Takve se particije najbolje prikazuju dendogramima (binarno stablo). SIMCA je verzija diskriminantne tehnike analize kojom se izračunava odvojena najvažnija (glavna) komponenta (engl. *separate principal component*) za svaku klasu. KNN je neparametrijska metoda kojom se traže *K* najbliži susjedi (engl. *nearest neighbors*) nekog objekta u skupini podataka, te se procjenjuje grupna pripadnost tih objekata naspram onih u njihovoj blizini (susjedstvu).

2.4.5. Ukupni triacilgliceroli (TAG), diacilgliceroli (DAG) i gliceridni indeksi (engl. *glyceridic indices – GI*)

Podaci u **Tablici 6** ukazuju da su ulja dobivena od sjemenki značajno bogatija s TAG a siromašnija s DAG (1,2-DAG + 1,3-DAG). Gliceridni omjeri (1,2-DAG/1,3-DAG i 1,2-DAG/DAG), koji su se pokazali da bi mogli biti kvalitativni indeksi, čini se da nisu prikladni za razlikovanje tri vrste ulja (sjemena, pulpe i cjelovitog ploda) ($p \leq 0.05$) (**Tablica 6**). Što su ti indeksi veći, to je bolja kakvoća ulja. Svaka vrsta ispitivanog ulja imala je gliceridne indekse, ukupne triacilglicerole (TAG) i ukupne diacilglicerole (DAG) pod utjecajem sorte. U provedenim pokusima ulja sorti *Carboncella* i *Castiglione* koja su bila siromašnija upupnim triacilglicerolima, a bogatija ukupnim diacilglicerolima, dok su ulja sorti *Caroleo* i *Coratina* bila bogatija ukupnim triacilglicerolima, a siromašnija s 1,3-DAG (Ranalli, A., et al., 2002.).

Tablica 6. Udio (%) ukupnih triacilglicerola (TAG) i ukupnih diacilglicerida (DAG) (određenih pomoću ^{13}C NMR), te vrijednosti gliceridnih omjera ulja dobivenih od pulpe, sjemena i cjelovitog ploda^a

analitički parametar	vrsta ulja		
	pulpa	sjemenka	cjeloviti plod
ukupni TAG	93.63 ± 5.65a	96.88 ± 6.29b	93.56 ± 5.97a
1,2-DAG	1.51 ± 0.07a	0.93 ± 0.05b	1.76 ± 0.18b
1,3-DAG	4.86 ± 0.39a	2.19 ± 0.14b	4.68 ± 0.27a
1,2-DAG/1,3-DAG omjer	0.31 ± 0.02a	0.42 ± 0.02a	0.38 ± 0.04a
1,2-DAG/ukupni DAG omjer	0.24 ± 0.01a	0.30 ± 0.01a	0.27 ± 0.01a

^a Vrijednosti (izražene u % od ukupnih gliceridnih klasa) su prosječne vrijednosti ± SD ($n = 28$) dobivene ispitivanjem ulja sedam vodećih talijanskih sorata: *Leccino*, *Dritta*, *Caroleo*, *Castiglione*, *Carboncella*, *Coratina*, i *Nebbio*. Od svake sorte i svake vrste ulja analizirana su četiri nezavisna uzorka. Aritmetičke sredine unutar istog retka s različitim slovima značajno se razlikuju (Scheffé test, $p \leq 0.05$) (Ranalli, A., et al., 2002.).

2.4.6. Negliceridni sastojci maslinova ulja

U negliceridni dio maslinovog ulja uvrštavaju se svi lipidni sastojci koji nisu gliceridi masnih kiselina. To su prvenstveno negliceridni esteri, ugljikovodici, steroli, triterpenski alkoholi, tokoferoli, fenoli, klorofil, komponente okusa i fenolni spojevi kao što je hidroksitirozol.

Neke negliceridne komponente maslinovog ulja su biološki aktivne i važne u analizi maslinovog ulja zbog njihovih specifičnih svojstava. Kvantitativne analize određenog sastava kao što su steroli i triterpenski alkoholi određuju autentičnost maslinovog ulja.

Ugljikovodici

Ugljikovodici sudjeluju s oko 50–60 % u ukupnom sadržaju neosapunjivog dijela. Od većeg značenja je prisutnost višenezasićenog ugljikovodika **skvalena** koji sudjeluje do 40 % u ukupnom sadržaju neosapunjivog dijela. Skvalen je temeljni prethodnik u biosintezi kolesterola i fitosterola, a također i svih steroidnih hormona (žučnih kiselina, hormona nadbubrežne žlijezde i spolnih hormona). Količina skvalena je najveća u maslinovu ulju u usporedbi s ostalim uljima biljnog porijekla.

Proučavan je sadržaj ugljikovodika i drugih sastojaka maslinova ulja s promjenom nadmorske visine na kojima se uzgajaju masline.

U negliceridnom dijelu prisutan je i β -karoten, višenezasićeni tetraterpenski ugljikovodik. Ima biokemijsku ulogu prethodnika vitamina A. Utvrđeni su tragovi likopena koji se također ubraja u skupinu višenezasićenih terpenskih ugljikovodika.

Negliceridni esteri

Alifatski alkoholi, steroli i triterpenski alkoholi prisutni su u maslinovu ulju slobodni ili esterificirani. Esteri alifatskih n-alkohola (C_{27} - C_{32}), sterola i triterpenskih alkohola s masnim kiselinama utvrđeni su u negliceridnom dijelu ulja.

Tokoferoli

Redoviti su sastojci u negliceridnom djelu maslinova ulja. Po kemijskom sastavu visokomolekularni su ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Pojedine se vrste tokoferola razlikuju po sastavu skupine R – alifatski ugljikovodikovi ostaci. S biološkog i antioksidacijskog gledišta

najznačajniji su α -tokoferol koji u ukupnoj količini tokoferola čini 88.5 %, β + γ -tokoferol 9.9 %, te δ -tokoferol 1.6 %.

Ustanovljeno je da rafinirana ulja sadrže vrlo male količine γ -tokoferola, te da se količina tokoferola smanjuje u maslinovu ulju usporedno s njegovom postupnom degradacijom u procesima prerade i čuvanja. Teko je ustanovljeno da tijekom rafinacije gubitci tokoferola mogu biti i do 50 %. Zbog toga sadržaj tokoferola ne ovisi samo njegovom sadržaju u plodu već i o drugim čimbenicima kao transport, čuvanje i prerada.

Tokoferoli se nazivaju vitaminom E. Poznati su kao dobri antioksidansi, te sprečavaju autooksidaciju ulja – vezivanje kisika iz zraka na nezasićene veze u lancu masne kiseline. Naime, tokoferoli lako oksidiraju i prelaze u tokokinone, pa je stoga vrlo značajno da se odgovarajućim tehnološkim postupcima onemoguće oksidacijski procesi u ulju.

Alifatski alkoholi

Alifatski alkoholi su prisutni u maslinovom ulju kao slobodni i esterificirani. Skupina tih spojeva sastavljena je pretežno od zasićenih alkohola ravnog lanca s parnim brojem ugljikovih atoma od C_{18} do C_{30} . Ovaj posljednji, $C_{30}H_{50}$, iste je strukture kao i skvalen. Susreće se u uljima toplijih i suhijih područja.

Istraživanjima je ustanovljena količinska razlika alifatskih alkohola u uljima koja su ekstrahirana prešanjem te onih koja su ekstrahirana otapalima. Ulja ekstrahirana prešanjem sadrže manje količine alifatskih alkohola od onih ekstrahiranih otapalima, te tako možemo dokazati patvorenje djevičanskog maslinovog ulja s uljima komina.

Voskovi

Voskovi su esteri viših masnih kiselina i viših alifatskih alkohola pa njihove molekule sadrže velik broj ugljikovih atoma. Ulja maslinove komine sadrže više voskova nego djevičanska maslinova ulja. Zbog toga određivanje voskova može se koristiti kao metoda dokazivanja patvorenja djevičanskog maslinovog ulja s uljima dobivena otapalima.

Steroli

Steroli količinski predstavljaju značajnu skupinu spojeva u neosapunjivom dijelu; njihove količine u maslinovim uljima kreću se od 0.1 do 0.25 %. Sastav i količina sterola specifična je za svaku vrstu ulja. Značajniji steroli su β -sitosterol, Δ_5 -avenasterol i kampesterol. Također

prisutni u maslinovom ulju ali u manjim količinama su stigmasterol, kolesterol, 24-metilen-kolesterol, Δ_7 -kampesterol, $\Delta_{5,23}$ -stigmastadienol, sitosterol, $\Delta_{5,24}$ -stigmastadienol, Δ_7 -stigmastenol i Δ_7 -avenasterol.

Istraživanjima je ustanovljeno da sadržaj sterola varira, te da u djevičanskim uljima ima više, a u uljima koja su rafinirana manje.

Na temelju znanstvenih istraživanja ustanovljeno je da sastav sterola jako malo varira s obzirom na klimatske uvjete u kojima se uzgaja.

4- α -metilsterol je skupina sterola koju predstavljaju gramisterol, obtusifoliol, cikloeukalenol i citrostadienol. Najzastupljeniji 4 α -metilsterol u maslinovom ulju je citrostadienol, te ga slijede cikloeukalenol i/ili gramisterol i obtusifoliol.

Količina sterola se smanjuje tijekom oksidacije za vrijeme čuvanja ulja. 4- α -metilsteroli su više podložni oksidaciji nego ostali steroli i triterpenski alkoholi.

Triterpenski alkoholi

U triterpenske alkohole spadaju α - i β -amirin, cikloartenol, 24-metilencikloartenol, ciklobranol, butirospermol. Nastajanje triterpenskih alkohola povezano je s biosintezom ulja u plodu, pa se i ukupna količina ovih spojeva povećava do stupnja najvećeg sadržaja ulja u plodu masline. Znatnije razlike sastava ove skupine spojeva izražene su kod različitih sorti maslina, dok se kod dužeg čuvanja plodova ne očituju promjene.

Triterpendioli

Identificirana su dva triterpenska diola, eritrodiol i uvaol. Sadržaj eritrodiola i uvaola kod maslinovih ulja dobivenih mehaničkim postupcima uključujući i kategoriju lampante (loživo), znatno je niži u odnosu na ulja koja se dobivaju ekstrakcijom iz maslinovih komina. Tako značajna odstupanja njihova sadržaja koriste se za razlikovanje ulja dobivena mehaničkim postupcima iz ploda masline od ulja što su dobivena organskim otapalima iz maslinovih komina.

Hidroksi i dihidroksiterpenske kiseline

Maslinovo ulje također sadrži oleanolnu kiselinu, te još maslinsku, ursolnu i betulinsku kiselinu u tragovima. Oleanolna kiselina sudjeluje u stabilnosti ulja. Nalazi se u većim količinama u lišću, pa je odvajanje lišća i pranje plodova prije prerade vrlo važno.

Pigmenti

Jedinstvena boja maslinova ulja potječe od pigmenata klorofila i feofitina, te karotenoida. Maslinovo ulje sadrži klorofil a i klorofil b, od toga klorofil a pokazuje najvišu absorbanciju na 670 nm, a klorofil b pokazuje maksimum pri 650 nm.

Prisutnost pigmenata ovisi o nekoliko čimbenika kao što su sorta, tlo, klimatske prilike, stupanj zrelosti ploda, te prerada. Količina klorofila se smanjuje što je plod zreliji i s nižom nadmorskom visinom. Količina klorofila u svježem maslinovom ulju dostiže 1 do 10 mg/kg, a feofitina a i b proizvoda razgradnje klorofila između 0.2-24 mg/kg.

Ustanovljeno je također da pigmenti degradiraju tijekom čuvanja, te se razgrađuju pod utjecajem svjetla. Poznato je da klorofil i njegovi derivati ubrzavaju oksidaciju ulja na svjetlu, dok u mraku djeluju kao antioksidansi, odnosno kao sinergisti fenolnim spojevima u maslinovu ulju.

Karotenoide maslinova ulja čine tetraterpenski nezasićeni ugljikovodici, među kojima su najvažniji β -karoten, likopen i oksidirani derivati karotena (ksantofil). O njihovu sadržaju ovisi intezitet i sklad boje. Njihov sadržaj ovisi o brojnim biološkim i tehnološkim čimbenicima tijekom zrenja ploda, izlučivanja i čuvanja ulja. Stoga su ulja dobivena od maslina ubranih na početku sezone prerade bogatija ovim sastojcima, nego ulja od zrelih i prezrelih plodova. Zbog visokog stupnja nezasićenosti, karotenoidi su vrlo nestabilni spojevi. Prilikom zagrijavanja ili oksidacije gube svoja kromogena svojstva.

Fosfolipidi

Maslinova ulja sadrže skromne količine fosfolipida, što ovisi o biološkim i tehnološkim čimbenicima, a osobito o starosti ulja. U uljima su ustanovljene količine između 40 i 135 mg/kg. Istraživanjem lipidnih ekstrakta masline utvrđeni su glavni fosfolipidi kefalin, lecitin, fosfatidilserin i sfingomielin.

Fenolni sastojci

Maslinovo ulje sadrži promjenljive količine fenolnih sastojaka. Na promjene njihovih udjela u ulju utječe više čimbenika: sorta, stupanj zrelosti ploda i trajanje uskladištenja prije prerade, te način prerade i čuvanja ulja. Važnost fenolnih sastojaka je u tome što su oni prirodni antioksidansi koji zaštićuju ulje od autooksidacijskih promjena, te utječu na organoleptička svojstva ulja.

Glavni fenolni sastojak ploda masline je složeni glukozid oleuropein. On utječe na jačinu gorkosti ploda i ulja. Tijekom zrenja ploda količina ovog sastojka se smanjuje.

Hidrolizom složenih fenolnih sastojaka oslobađaju se jednostavni spojevi, koji se mogu naći u ulju i vegetabilnoj vodi. To su najvećim dijelom fenolne kiseline, a svojstvena je i nazočnost dva fenolna alkohola: tirosola i hidroksitirosola. Hidroksitirozol ima veliku antioksidativnu aktivnost i pripisuje mu se osobita zasluga za veću stabilnost maslinova ulja u odnosu na fenomen autooksidacije.

Od fenolnih spojeva osim tirosola i hidroksitirosola prisutni su još: kavena kiselina, dihidrokavena kiselina, p-kumarinska kiselina, gorušičina kiselina, vanilinska, gentizinska, protokatehinska, siringinska, galna i ferula kiselina.

2.4.7. Maslinovo ulje i njegova prehrambena vrijednost

Djevičansko maslinovo ulje je jedinstveni proizvod zato što se dobiva umjerenim samo fizikalnim postupcima, što ga čini pravim 'voćnim sokom' izvrsnih organoleptičkih i prehrambenih svojstava. Njegovo bogatstvo oleatima (oleinskom kiselinom u trigliceridima) čini ga prikladnim za neposrednu ljudsku prehranu, kao i u dijetama namijenjenim prevenciji odnosno reduciranju mogućnosti nastanka kardiovaskularnih bolesti (Ranalli, A., *et al.*, 2002).

2.4.7.1. Terapeutska vrijednost maslinovog ulja

Maslinovo ulje se koristilo u medicinske svrhe sve od antike, preko srednjeg vijeka ps do danas. Povijesni izvori najčešće spominju njegovu primjenu u terapeutske svrhe. U radovima "De Dieta" i "De Dieta Salubris", Hipokrat, najznamenitiji antički liječnik i otac znanstvene medicine, spominje maslinovo ulje, te govori o njegovoj primjeni u farmako-terapeutske svrhe. On je preporučivao konzumaciju žličice maslinovog ulja, što je bila uobičajena praksa za ljude koji su patili od probavnih smetnji; Ta su saznanja i danas prisutna u suvremenoj farmakologiji (Kiritsakis, A. K., 1998). Drevni liječnici poznavali su njegov stežući (protiv krvarenja) i antiseptički učinak. Diskorid (*De materia medica*) piše da se ulje dobiveno od nezrelih maslina treba koristiti u obliku krema i kao pomada, te kao laksativ u slučaju kolika ili žučnih ili bubrežnih kamenaca (Viola, 1989). Maslinovo se ulje također koristilo za spravljanje obloga i pomada za ozljede kože, protiv glavobolja i za negu vlasišta. Plinije stariji govori o takvoj vrsti maslinovog ulja koje, kad se drži u ustima, čuva bjelinu zubi i liječi oboljele desni (Bartolini, G., i Petruccelli, R., 2002).

2.4.7.2. Maslinovo ulje i “mediteranska prehrana”

Osim za prehranu, gdje je bilo glavni izvor masnoća u hrani, maslinovo ulje koristilo se i u terapijske svrhe, za njegu tijela, za rasvjetu, u religijskim obredima, te mnoge druge svrhe.

Za razliku od uobičajenih ulja koje koristimo u prehrani koja su dobivena rafinacijom, u maslinovom ulju dobivenim hladnim prešanjem zaostaju neosapunjivi sastojci u suspenziji koji daju maslinovom ulju terapijsku vrijednost. To su pigmenti, vitamini i antioksidansi koji djeluju učinkovito na prevenciju kardiovaskularnih i usporavaju pojavu znakova starenja. Maslinovo ulje je bogato oleinskom kiselinom koja također povoljno djeluje na zdravlje.

U posljednjih pola stoljeća inenzivirala su se istraživanja na temu terapijskog utjecaja maslinovog ulja gdje su se te tvrdnje potvrdile. Potvrdilo se da maslinovo ulje ima povoljan utjecaj na žučni mjehur i sprječava stvaranje žučnog kamena tako što regulira sekreciju žuči.

Daljnijim istraživanjima dokazan je znatan utjecaj maslinovog ulja na probavu i peristaltiku tankog crijeva, te na sprječavanje gastritisa i čira želuca i dvanaesnika (N. Barry).

Najnovija statistička istraživanja o prehrani i zdravlju na sveučilištima u Francuskoj i Americi podigli su maslinovo ulje na uzvišeno mjesto.

Poznata kretska prehrana bogata maslinovim uljem i crnim vinom, kroz koju se objašnjava niski udio karcinoma i kardiovaskularnih oboljenja na otoku i dugovječnost njegovog stanovništva (N. Barry).

Hranidbeni faktori sami po sebi ne objašnjavaju u potpunosti odlično zdravlje mediteranskog stanovništva, međutim dostupni dokazi o utjecaju prehrane idu u prilog tome (Kiritsakis, A. K., 1998). Da ne bi sve zasluge za zdravlje prisvojilo maslinovo ulje vrlo velik dio čini i sam način života (stres, sportske aktivnosti, ...).

Već skoro pola stoljeća medicinska istraživanja razvili su studiju o povezanosti između prehrane i zdravlja u raznim europskim zemljama. Rezultati tih epidemioloških istraživanja pokazala su povoljan utjecaj mediteranske prehrane na zdravlje (Mangold, H. K., i Fedeli, E., 1997).

Tradicionalna mediteranska prehrana uglavnom je bazirana na žitaricama, maslini i maslinovom ulju, morskoj ribi kao izvor energije, svježem voću i povrću kao izvor vitamina, minerala i vlakana. Opće je poznato da je ova prehrana dobro izbalansirana i zbog toga iznimno povoljna na zdravlje, posebno u prevenciji karcinoma i kardiovaskularnih oboljenja. Na temelju toga neke zemlje i internacionalne organizacije preporučuju smjernice za prehranu koja se bazira na sastavu mediteranske prehrane.

Tako prehrambene smjernice preporučuju da masnoće i ulja trebaju sudjelovati sa 25-30% ukupnog energetskeg unosa ali sastav njihovih masnih kiselina nije razmatran. Brojnim istraživanjima je ustanovljeno da bi polovicu masnih kiselina trebala činiti oleinska kiselina, te linolna i linolenska pojedinačno 3%. Vrste i udio masnih kiselina u mediteranskoj prehrani odgovara ovim preporukama.

U posljednja tri desetljeća slika prehrane populacije u južnoj Europi znatno se promijenila. Sve je veća konzumacija mesa i mesnih proizvoda, mlijeka i mliječnih proizvoda kao i jaja, dok pada potrošnja ribe i što je najgore pada potrošnja maslina i maslinovog ulja.

Nedavna istraživanja u kojima se uspoređivao utjecaj prehrane na zdravlje kod muškaraca srednjih godina u mediteranskim zemljama i njihovih očeva 30 godina ranije, te je uočeno znatan porast tjelesne mase, povišenog krvnog tlaka, porast kolesterola u promatranoj grupi. Istaknute promjene u stilu života kojima su bili izloženi nisu uzete u obzir.

U drugoj polovici prošlog stoljeća struktura prehrane postala je slična u cijeloj Europi te je usporedno i s tim zabilježen porast oboljenja kao što su karcinomi i kardiovaskularne bolesti koji se pripisuju stilu života. Prehrana, stil života i zdravlje su blisko povezani te bi sve to trebalo uzeti u obzir (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

Znanstvene spoznaje o prehrambenoj zdravstvenoj vrijednosti djevičanskog ulja visoke kakvoće omogućile su Međunarodnom vijeću za maslinovo ulje i odgovarajućim institucijama njegovih članica da intenziviraju promidžbene aktivnosti o prednostima načina mediteranske prehrane s maslinovim uljem, posebno na tržištu razvijenih zemalja. Zahvaljujući tim mjerama, proizvodnja i potrošnja maslinovih ulja u svijetu ima trend stalnog porasta.

U društvima razvijenih zemalja širom svijeta rastuća potražnja i potražnja za maslinovim uljem generirana je sve većom brigom za zdravlje, s obzirom da je maslinovo ulje već od starina na glasu kao "zdravo", a što opetovano potvrđuju i brojna suvremena istraživanja.

Povećanom brigom o zdravlju današnjeg kozmopolitskog društva objašnjava se rastuća potrošnja i potražnja maslinovog ulja diljem svijeta, a time i brzi rast maslinastva. Povoljna svojstva maslinovog ulja bila su poznata od starina.

Masline i maslinovo ulje su dio mediteranske prehrane i kulture, za koju se smatra da je odgovorna za manju pojavnost kardiovaskularnih bolesti u mediteranskom području (najmanja je u zapadnoj hemisferi). Ti učinci maslinova ulja pripisani su visokom udjelu oleinske kiseline i njenom svojstvu da usporava prodiranje masnih kiselina u arterijske stijenke (Perrin, 1992, prema Milošević, Ashton i Cocksedge, 2002).

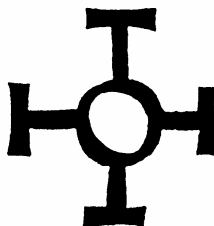
Sjemenova ulja kao što su npr. sojino, suncokretovo i ulje uljane repice, dobivaju se ili samim prešanjem ili prešanjem uz ekstrakciju

pomoću heksana. Međutim takva sirova ulja moraju biti podvrgnuta “degumiranju”, otkiseljavanju, izbjeljivanju i dezodorizaciji (uklanjanju nepoželjnih mirisa) (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

Kod proizvodnje maslinovog ulja cijeli plodovi se peru vodom i melju, a dobivena se masa miješa (tzv. malaksacija) neko vrijeme (30-45 min) da bi daljnja ekstrakcija ulja bila uspješnija. Nakon miješanja smjesa se zove tijesto (u stranoj literaturi obično ‘pasta’).

Više od 3000 godina mediteranske zemlje bile su jedini proizvođač maslinova ulja u svijetu. Tisućljećima se maslinovo ulje koristilo ne samo za pripremanje hrane nego i za pomade i balzame; takva primjena maslinovog ulja poznata je u tradicionalnoj medicini mnogih mediteranskih naroda.

Srednjovjekovni alkemičari koji su radili s maslinovim uljem, ponekad su za njega koristili poseban simbol kao za kakav samostalan kemijski element (**Slika 9**).



Slika 9 – Simbol srednjovjekovnih alkemičara za označavanje maslinovog ulja kao posebnog kemijskog elementa.

(Iz: C. Litchfield, “Analysis of Triglycerides”, Academic Press, New York and London, 1972.).

Francuska, grčka, talijanska i španjolska ulja razlikuju se s obzirom na sastav, konzistenciju, boju i okus. Ova svojstva su tipična za pojedine sorte masline, odnosno određena su genetskom nasljednom osnovom sorata, ali su također uvjetovana i agroekološim uvjetima (prvenstveno klimatske prilike i tlo). Vrlo važani čimbenici koji utječu na kakvoću maslinovog ulja su postupanje s plodovima za vrijeme i nakon berbe, te način prerade plodova u ulje. Plodovi masline zahtijevaju što je moguće pažljiviji tretman, te trebaju biti prerađeni što je prije moguće. Iako je u današnje vrijeme moguće dobiti kvalitetno maslinovo ulje i prešanjem (uporabom visokokvalitetnih materijala), taj se postupak gotovo više i ne primjenjuje radi sporosti i skupoće – zato se u današnje vrijeme ulje ekstrahira gotovo isključivo centrifugiranjem tijesta ‘paste’ maslina.

Međunarodni Savjet za maslinovo ulje (engl. *The International Olive Oil Council* – IOOC) definira maslinovo ulje kao “ulje dobiveno isključivo od ploda masline, što isključuje ulja dobivena korištenjem otapala ili

procesa reesterifikacije ili bilo kakvog miješanja s drugim vrstama ulja” (Mangold, H. K. i Fedeli, E., 1997).

Meditranska prehrana (engl. *Mediterranean diet*)

Prije otprilike pola stoljeća medicinari su počeli pokazivati interes za proučavanje odnosa između prehrane i zdravlja kod stanovništva različitih europskih zemalja. Među tim istraživačima značajan doprinos dao je A. Keys. Rezultati tih epidemiološka istraživanja upućivala su na moguću zdravstvenu korist od mediteranskih prehrambenih navika.

Tradicionalna mediteranska dijeta većinom se temelji na žitaricama njihovim prerađevinama, raznim leguminozama, maslinama i maslinovom ulju morskoj ribi kao izvoru energije, te svježem voću i povrću kao izvorima vitamina, minerala i balastnih tvari (vlakna i sl.). Ona je dakle dobro izbalansirana istoga posebno korisna za održavanje zdravlja, pogotovo kao prevencija od kroničnih bolesti srca i krvnih žila, te tumora. Nekoliko zemalja i međunarodnih organizacija izdalo je u sklopu promicanja zdrave prehrane vodiče za prehranu koji su temeljeni na principu mediteranske dijeta. Međutim, u nekoliko slučajeva, neke od danih preporuka nejasno su definirane, pa čak i nametnute zbog koristi (a ne zdravlja) moćnih interesnih skupina.

Na primjer, ulje sadržano u već gotovoj hrani (engl. *ready-to-serve-food*) rijetko kad je specificirano (vrsta i količina). Štoviše, prehrambeni priručnici preporučuju da bi masti i ulja u nešena hranom trebala osigurati između 25 i 30 % ukupnog unosa energije, ali se nigdje ne spominje kakvog sastava masnih kiselina bi triacilgliceroli trebali biti. Mnoga su istraživanja pokazala da na oleinsku kiselinu (*cis*-9-oktadecenska kiselina) može otpadati i do polovica ukupnih masnih kiselina, dok linolna kiselina (*cis*-9,12-oktadecanska kiselina) i α -linolenska kiselina (*cis*-9,12,15-oktadekatrienska kiselina) trebaju sudjelovati s oko 10 do 15 odnosno manje od 3%. Profil zastupljenosti masnih kiselina u mediteranskoj prehrani uvelike odgovara ovim preporukama.

Biološki učinci sjemenovih ulja koje sadrže izomere oleinske kiseline, kao što je peršinova kiselina (engl. *petroselinic acid*) ili *cis*-6-oktadecanska i *cis*-11-oktadecanska kiselina, istraživani su i uspoređeni s onima maslinovog ulja. S obzirom na njihovo specifično djelovanje na metabolizam, takva nesevakidašnja sjemenska ulja mogu biti od značaja kao hrana koja je ujedno i lijek (engl. “*nutraceuticals*”).

Unazad protekla tri desetljeća značajno su se promijenile prehrambene navike populacije južne Europe. Potrošnja mesa i mesnih prerađevina, mlijeka i mliječnih proizvoda kao i jaja. Time se smanjila potrošnja ribe, a ponešto i maslinova ulja u mediteranskim zemljama.

Nedavna istraživanja u kojima se uspoređivao utjecaj različitih dijeta na zdravlje današnje mediteranske populacije ljudi srednjih godina s

onima njihovih očeva (podaci bilježeni i prikupljeni prije 35 godina) pokazala su značajan prosječni porast tjelesne težine, krvnog tlaka i kolesterola u serumu današnje mediteranske populacije. Ranije spomenute promjene u načinu života, koje su se desile u međuvremenu, nisu uzete u obzir.

U drugoj polovici dvadesetog stoljeća jelovnik je diljem Europe postao prilično sličan, a pojavljivanje (kroničnih) bolesti kojima je način života glavni uzrok (kao što su koronarna oboljenja, ali i neke vrste tumora) simultano se povećalo. Neki istraživači smatraju poželjnim da se svaka rasprava o mogućim pozitivnim utjecajima određenih dijeta (načina prehrane) vodi uz uzimanje u obzir socijoloških i psiholoških varijabli kako bi se ispravno vrednovalo kako tijelo tako i psiha.

Medicinska antropologija daje nam obilje etnografskog materijala o problematici psihosomatskih bolesti, posebno dajući naglasak na psihološke uzroke u nastajanju ali i u prevenciji i liječenju tegoba i bolesti. No još uvijek je u sociološko-kulturnim studijama u kojima se proučavaju prehranbene navike, utjecaj psiholoških faktora na zdravlje zanemarivan. Zato se možemo zapitati koliki je uistinu pozitivan fiziološki utjecaj mediteranske prehrane, a koliki njen psihološki utjecaj (očekivanje) i uvjeti života (sklad i zadovoljstvo životom) – pogotovo u tradicionalnim društvima starog mediteranskog svijeta gdje se život, po današnjim mjerilima, odvija usporeno.

Nesumnjivo je da se treba više cijeniti i značajnost mediteranskog "ambijenta" na ljudsko zdravlje. Čini se da će budući napori promocije zdravlja s obzirom na način prehrane morati biti prošireni uključivanjem socijalno-kulturnim varijablama koje bi mogle biti ključne za povećanje kakvoće života. Takvi činioци uključuju i izrazito uživanje u životu, toliko kakarakteristično diljem mediteranskog svijeta.

Očito je da mediteranska prehrana sama za sebe nije panacea pomoću koje se mogu liječiti sve bolesti uzrokovane nepravilnim načinom života.

Prehrana i način života imaju izuzetno velik utjecaj na zdravlje. Zato svaka rasprava o mogućim pozitivnim utjecajima na zdravlje mediteranske prehrane ne treba biti limitirana samo prehranbenim aspektima, već se također trebaju uzeti u obzir socio-kulturni faktori.

2.4.8. Klasifikacija maslinovog ulja

Kontrola podrijetla, čistoće i raspoređivanje prirodnih maslinovih ulja prema stupnju kakvoće obavljaju se sukladno međunarodnim normama. Te norme su službeno prihvaćene od Međunarodnog savjeta za maslinovo ulje, Europske unije i ostalih njegovih članica pa tako su te norme prihvaćene i u našem zakonu, kao i metode njihovog određivanja.

U ovom poglavlju sukladno tim normama definirano je što je maslinovo ulje te njegova klasifikacija po stupnju kakvoće. Ulja se dobivaju od ploda masline (*Olea europea* subsp. *sativa* Hoffm. i Link) ili krutog ostatka masline (komine) pri proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja odgovarajućim tehnološkim postupcima, s ili bez uporabe organskih otapala, bez primjene kemijskog postupka reesterifikacije i bez miješanja s bilo kojim drugim vrstama ulja ili masti, a namijenjena su neposrednoj ljudskoj uporabi.

Kontrola podrijetla, čistoće i raspoređivanje prirodnih maslinovih ulja prema stupnju kakvoće obavljaju se sukladno međunarodnim normama. Te norme su službeno prihvaćene od Međunarodnog savjeta za maslinovo ulje, Evropske unije i ostalih njegovih članica pa tako su te norme prihvaćene i u našem zakonu, kao i metode njihovog određivanja.

U ovom poglavlju sukladno tim normama definirano je što je maslinovo ulje te njegova klasifikacija po stupnju kakvoće. Ulja se dobivaju od ploda masline (*Olea europaea sativa* Hoffm. i Link) ili krutog ostatka masline (komine) pri proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja odgovarajućim tehnološkim postupcima, s ili bez uporabe organskih otapala, bez primjene kemijskog postupka reesterifikacije i bez miješanja s bilo kojim drugim vrstama ulja ili masti, a namijenjena su neposrednoj ljudskoj uporabi.

Najbolja maslinova ulja su ona koja nisu bila podvrgavana toplinskim ni kemijskim postupcima. Široko gledano kakvoća ulja je određena njihovom **kiselošću** (udjelom slobodnih odnosno ne esterificiranih masnih kiselina) i njihovim **stupnjem oksidacije** (tzv. peroksidnim brojem). Ulja najviše kakvoće moraju imati kiselost 0.8% (još nedavno 1.0%) ili manju.

Djevičansko maslinovo ulje ekstra podrazumijeva maslinovo ulje nedvojbeno dobrog svojstvenog okusa i mirisa propisanim za to ulje, a koje sadrži najviše 0.8% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, te s organoleptičkom ocjenom 6.5 ili više bodova.

Djevičansko maslinovo ulje podrazumijeva maslinovo ulje dobrog svojstvenog okusa i mirisa propisanim za to ulje, a koje sadrži najviše 2% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, te s organoleptičkom ocjenom 5.5 ili više bodova.

Djevičansko maslinovo ulje obično podrazumijeva maslinovo ulje prihvatljivog okusa i mirisa propisanim za to ulje, a koje sadrži najviše 3.3% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, te s organoleptičkom ocjenom 3.5 ili više bodova.

Ekstra djevičanska ulja i djevičanska ulja imaju izuzetnu aromu koju poznavatelji vrlo cijene, dok, za razliku od njih, rafiniranim maslinovim

uljima (neutralizacijom s lužinama, dekolorizirana sa zemljom za izbjeljivanje, te deodorizirana pomoću pare) nedostaje i boje i arome, pa nikako ne mogu biti vrhunski proizvodi. Samo ekstra djevičanska i djevičanska maslinova ulja sadrže sve lipofilne sastojke u nepromijenjenom stanju, koje je prirodno sadržavao i plod masline. Na sadašnjoj razini tehnologije (bilo uzgoja, bilo prerade), nije moguće postići da sva ulja budu ekstra djevičanska ili djevičanska. Do sada se, barem u europskim zemljama, 50 do 60% maslinovog ulja proizvedenog za ljudsku uporabu može smatrati izvornim; ostalo maslinovo ulje podvrgnuto je procesima rafinacije (Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Di Loreto, G., Iannucci, E., Lucera, L., i Rissi, F., 2002).

Ulja koja sadrže više od 3% "slobodnih" masnih kiselina uključena su u slijedeće gradacije slabije kakvoće.

Djevičansko maslinovo ulje lampante podrazumijeva maslinovo ulje neprihvatljivog okusa i mirisa propisanim za to ulje, a koje sadrži više od 3.3% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, te s organoleptičkom ocjenom nižom od 3.5 bodova. Ovo ulje nije namijenjeno za neposrednu potrošnju već je namijenjeno za industriju rafiniranja i za tehničku upotrebu.

Rafinirano maslinovo ulje podrazumijeva maslinovo ulje dobiveno postupkom rafinacije maslinovog djevičanskog ulja lampante pri čemu ne dolazi do promjene osnovne strukture glicerida. Sadržaj slobodnih masnih kiselina u tom ulju iznosi 0.5% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina.

Maslinovo ulje je mješavina rafiniranog i djevičanskih maslinovih ulja, osim maslinovog djevičanskog ulja lampante, a koje sadrži najviše 1.5% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina.

Ulje komine maslina rafinirano podrazumijeva sirovo ulje dobiveno iz komine maslina (ostale nakon prešanja) ekstrakcijom pomoću otapala, pri čemu ne dolazi do promjene osnovne strukture triacilglicerola, a sadrži najviše 0.5% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina. Može se kupazirati s djevičanskim maslinovim uljem.

Ulje komine maslina podrazumijeva mješavinu ulja komine maslina rafinirano i djevičanskih maslinovih ulja osim djevičanskog maslinovog ulja lampante, a sadrži najviše 1.5% slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina.

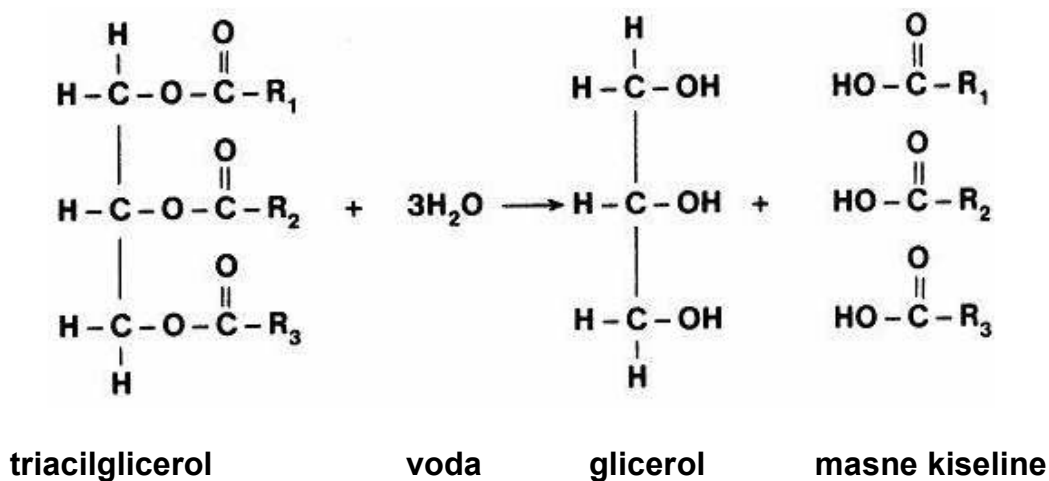
Ulje komine maslina sirovo je ulje dobiveno iz krutog ostatka u proizvodnji djevičanskog maslinova ulja tj. Komine maslina, uporabom organskih otapala.

2.4.9. Razgradnja maslinovog ulja

Hidroliza i **oksidacija** su najznačajniji uzročnici kvarenja maslinova ulja. Hidroliza, poznata još kao **lipoliza** obično se počinje događati još dok je ulje u plodu masline, dok se oksidacija odvija nakon što je odvojeno ulje iz plodova masline i tijekom čuvanja ulja. Oksidacija je proces koji se događa u mraku (autooksidacija), i na svjetlu (fotooksidacija) u prisutnosti zraka.

2.4.9.1. Hidroliza (lipoliza)

Hidrolitička razgradnja je proces oslobađanja masnih kiselina iz molekule glicerida, u prisutnosti vode i enzima lipaze (**Slika 10**). Ova razgradnja nastaje prvenstveno u ulju unutar ploda masline, ali i u izlučenom ulju, ako je u dodiru s vodom i ako se čuva u neprikladnim uvjetima. Posljedica je povećanje slobodnih masnih kiselina u ulju i nastajanje novih proizvoda razgradnje (mono- i digliceridi, glicerol).



Slika 10. Hidrolitička razgradnja triacilglicerola

Čimbenici koji utječu na hidrolizu su vlaga, temperatura, enzimi i mikroorganizmi.

Mikrobiološka hidroliza je uzrokovana mikroorganizmima prisutnim u plodovima masline, te oni oslobađaju enzim lipazu. Mnoge bakterije, gljivice i plijesni izolirane iz ploda masline pokazuju visoku lipolitičku aktivnost. Ovi mikroorganizmi uzrokuju hidrolizu triacilglicerola u periodu između mljevenja i odvajanja tekuće i krute faze. Neprimjereno čuvanje

plodova prije prerade potpomaže stvaranje mikroorganizama i hidrolizu ulja.

Enzimatska hidroliza je uzrokovana endogenim i mikrobiološkim enzimima lipazama prisutnim u ulju. Endogene lipaze ne pokazuju aktivnost sve dok plod ne počne mijenjati boju u ljubičastu. Optimalna temperatura za aktivnost lipaza je 45 °C te uz pH 8.3. Nagnječeni ili plod oštećen insektom očituju višu lipolitičku aktivnost nego neoštećeni plodovi. Nadalje na hidrolizu ima utjecaj berba tj. Ako se plodovi skupljaju s tla nakon prirodnog opadanja plodova rezultat će uljima visoke koncentracije masnih kiselina. Utjecaj skladištenja prije prerade pogotovo ako je ono nepovoljno (plodovi masline na velikim hrpama u kojima se povisuje temperatura usljed disanja plodova), u takvim uvjetima kombinirani je rad endogenih i lipaza mikroorganizama te rezultira povišenim kiselinama i lošom kvalitetom ulja.

Plod masline je živi organizam koji diše. Teanspiracijom se oslobađa toplina koja povisuje temperaturu i aktivnost lipolitičkih enzima. Prisutnost vode omogućava lipolizu. Voda otapa i oslobađa enzime i potpomaže razvoj mikroorganizama, te uzrokuje nepoželjne senzoričke promjene maslinovog ulja. Stupanj hidrolitičke razgradnje sukladno i kvaliteta ulja mjeri se određivanjem slobodnih masnih kiselina.

Kiselost ulja je odlučujući faktor koji utječe na njegovu kakvoću. Bilo bi vrlo poželjno imati na raspolaganju takav postupak kojim bi se udio slobodnih masnih kiselina u ulju mogao reducirati bez primjene kemijskih sredstava. Čini se da je otkiseljavanje (deacidifikacija) ulja s relativno visokim udjelom slobodnih masnih kiselina moguće tretiranjem ulja sa ugljičnim dioksidom pod visokim tlakom. Takav se postupak počeo razvijati zajedničkim naporima radnih timova 'Istraživačke stanice za industriju ulja i masti' u Milanu, 'Instituta za agrikulturnu kemiju', 'Instituta za fizikalnu kemiju i elektrokemiju' milanskog sveučilišta i 'Instituta za primijenjenu kemiju' Sveučilišta u Trstu

Na 'sobnoj' temperaturi i atmosferskom tlaku CO₂ je u plinovitom stanju, ali snižavanjem temperature ili povećavanjem tlaka ili, najbolji, oboje, može se kondenzirati u tekuće ili čak kruto agregatno stanje. Iznad tzv. "kritične točke", to jest, na temperaturi od 31.5 °C i višoj, te tlaku od 72.9 atm i većem, CO₂ postaje svojevrsna tekućina (engl. "*supercritical fluid*"). Iako pretežno plinovite prirode, tako dobiveni tekući ugljični dioksid pokazuje mnoga svojstva tekućine. U takvom stanju ima gustoću sličnu onoj u tekućem stanju, može se stapati s mnogim tvarima kao što su organska otapala poput heksana, te pokazuje neka prijelazna svojstva koja graniče plinovitom i tekućem stanju.

Ugljični dioksid je dostupan u neograničenim količinama, nije skup, nije otrovan i nije zapaljiv, te se jednostavno uklanja i reciklira. Tekući i "supercritical" ugljični dioksid koriste se u prehrambenoj industriji za uklanjanje kofeina iz kave, u preradi hmelja, za ekstrakciju začina kao i u

industriji nekih nesvakidašnjih ulja i masti. Čak je pokušana i ekstrakcija maslinovog ulja pomoću gustog CO₂, ali je malo vjerojatno da će taj postupak doživjeti primjenu u industrijskom opsegu zbog visokog udjela vode u plodovima maslina.

Otkiseljavanje maslinovih ulja ipak se čini prilično obećavajućim. Industrijska primjena tog postupka zahtijeva relativno velika ulaganja, ali su troškovi rada i održavanja prilično maleni (Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Di Loreto, G., Iannucci, E., Lucera, L., i Rissi, F., 2002).

2.4.9.2. Oksidacija

Masnoće i ulja kao što je maslinovo ulje oksidiraju kad su u kontaktu s kisikom. Kisik se može naći iznad ulja u spremniku u kojem se čuva ulje i otopljen u ulju. Količina kisika otopljenog u ulju varira ovisno o načinu prerade, čuvanju i uvjetima pakiranja. Pakiranje ulja u vakumu ili pod inertnim plinom je vrlo efikasno u sprječavanju oksidacije ulja. Što je veći kontakt s kisikom veća je oksidacija.

Produkti oksidacije imaju neugodan okus i miris, te može negativno utjecati na hranjivu vrijednost ulja. Esencijalne masne kiseline kao što su linolna i linolenska se razgrađuju i vitamini topivi u uljima nestaju.

Maslinovo ulje je otporno na oksidaciju (autooksidaciju) zbog niskog sadržaja više nezasićenih masnih kiselina i što sadrži prirodne antioksidanse, međutim veoma je osjetljivo na fotooksidaciju (Kiritsakis, A. K., 1998).

Autooksidacija ulja nastaje djelovanjem kisika iz zraka na nezasićene masne kiseline. Ulja s većom količinom višenezasićenih masnih kiselina podložnija su autooksidacijskim promjenama.

Mehanizam autooksidacije ogleda se u lančanoj reakciji stvaranja slobodnih radikala koja se odvijaju u više faza. Na početku reakcije labilni atom vodika odvaja se od molekule masne kiseline i ona se transformira u slobodni radikal. Započeti se proces autooksidacije ne može zaustaviti, ali se može ubrzati ili usporiti. Ubrzavaju ga povišene temperature, svjetlo i tragovi metala, a usporavaju antioksidanti. Ova početna faza odvija se usporeno.

U drugoj fazi se iz slobodnih radikala stvaraju hidroperoksidi i radikali peroksida, vezivanjem kisika na slobodne radikale masnih kiselina. Hidroperoksidi su labilni spojevi, pa se dalje razgrađuju na slobodne radikale i sekundarne proizvode oksidacije kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi i dr. Neki razgradni proizvodi nastaju izravno razgradnjom hidroperoksida, a drugi naknadnim reakcijama. Najveći dio razgradnih proizvoda daju ulju neugodan miris i okus po užglosti, što umanjuje kakvoću ulja.

Reakcija oksidacije lančano se nastavlja, sve dok slobodni radikali ne reagiraju međusobno, stvarajući neaktivne i stabilne polimere.

Sprečavanje autooksidacije

Oksidacija lipida može se spriječiti dodavanjem antioksidanasa koji reagira sa slobodnim radikalima, blokirajući lančanu reakciju. Najbrojniji su antioksidansi fenolnih spojeva, jer oni imaju aktivni atom vodika. Maslinovo ulje sadrži dovoljne količine antioksidanata. Njihova je zadaća da suzbiju početak reakcije, blokiraju proces stvaranja slobodnih radikala i da stabiliziraju hidroperokside.

U svijetu se provode ispitivanja antioksidativnog svojstva maslinovog ulja i njegovih supstanci. Izdvojeni su pojedini neosapunjivi sastojci maslinovog ulja i utvrđeno je da, steroli ne djeluju antioksidativno, skvalen ima neznatno antioksidativno djelovanje dok α -tokoferol ima jako antioksidativno djelovanje.

Povećanjem postotka skvalena u smjesi s α -tokoferolom i β -sitosterolom te smanjenjem postotka α -tokoferola i β -sitosterola i postizanjem omjera sličnog onom u kojem su ove supstance zastupljene u mnogim maslinovim uljima ekstra kakvoće, značajno se pojačava antioksidativno djelovanje mješavine.

3. Materijali i metode

3.1. Materijali

Kao materijali poslužili su mi uzorci ulja prikupljeni na području Istre u sklopu znanstvenog projekta "Utjecaj agroekoloških čimbenika na sadržaj fenola u uljima istarskih maslinika" u kojem je glavni istraživač doc. dr. sc. Đani Benčić. U istraživanje sam uzela četiri različite sorte maslina koje su rasle u različitim agroekološkim uvjetima. Tri su domaće sorte: Bjelica (još i Istarska Bjelica), Buža i Žižolera. Sorta Leccino je vodeća talijanska sorta, a uzeta je u istraživanje radi komparacije sa spomenutim domaćim sortama.

Iz središnje Istre (nadmorska visina oko 250 m) bile su slijedeće sorte: Bjelica bilo je 5 uzoraka (Sovinjak), Buža 4 uzorka (Sovinjak), Leccino 5 (Veli Mlun) i 4 (Sovinjak). Iz južne Istre, na nadmorskoj visini do 50 m bile su slijedeće sorte: Bjelica 5 uzoraka (Agroprodukt, Barbariga), Buža 5 + 10 uzoraka (Vodnjan i okolica), Žižolera 4 uzorka (Vodnjan), Leccino na generativnoj podlozi 5 (Agroprodukt, Barbariga) i Leccino na generativnoj podlozi (Agroprodukt, Barbariga).

Berba svih sorti maslina obavljena je u optimalnom roku, tj. kad je prosjek zrelosti svih plodova određene sorte na nekoj lokaciji blizu optimalnom procijenjenom.

Masline su bile prerađivane odmah po berbi ili najkasnije unutar 24 sata nakon berbe, korištenjem mini linije za preradu «Olio mio, Baby» proizvođača Enologia Toscana, Mori. Nakon mljevenja maslina komina je miješana 30 minuta, a ulje je izdvajano vodoravno postavljenom centrifugom (dekanterom) koja je radila na 3000 okretaja u minuti.

Neposredno dobiveno ulje bilo je više ili manje zamučeno, te ga je trebalo ostaviti stajati neko vrijeme (15 do 30 dana) da bi se istaložilo; nakon slijeganja nečistoća i zaostale vode, ulje je bilo natočeno do vrha u tamne staklene bočice, hermetički začepljeno i pospremljeno u tamni prostor na odgovarajućoj temperaturi.

3.2. Metode

Osnovne analize maslinovog ulja po kojima se klasificiraju maslinova ulja za promet na tržištu svode se na organoleptičke i kemijske analize.

Kemijskim analizama određuje se sadržaj slobodnih masnih kiselina (izražene kao oleinska u %), peroksidni broj (meq O₂/kg), kojim se izražava količina hidroperoksida – primarnih proizvoda autooksidacije u

ulju, spektrofotometrijska apsorbancija u ultraljubičastom području, utvrđuje se stupanj oksidacije ulja (primarni proizvodi oksidacije pokazuju najvišu apsorpciju na valnoj dužini 232 nm, dok sekundarni proizvodi oksidacije imaju najvišu apsorpciju na 270 nm).

Senzorsko (organoleptičko) ocjenjivanje djevičanskog maslinovog ulja zasniva se na tehnici "panel testa" pošto ono ima izražena specifična svojstva okusa i mirisa. Da bi se organoleptičko ocjenjivanje maslinovog ulja korektno provelo, potrebno je sakupiti dovoljan broj stručnih ljudi – kušača, čija prosječna ocjena predstavlja relevantnu ocjenu ulja. To nije bilo moguće, pa je senzorska analiza ispitivanih uzoraka ulja izostala.

Ovdje prenosim danas važeće protokole koji se koriste u Europskoj Uniji, ali i kod nas, za određivanje slobodnih masnih kiselina, peroksidnog broja, te primarnih i sekundarnih produkata oksidacije.

3.2.1. Određivanje slobodnih masnih kiselina

(Izvor: Službeni list EZ L 248/6 od 05.09.1991. – Prilog II ili ISO 660:1996)

PRINCIP

Uzorak ulja koji se analizira otapa se u smjesi otapala a slobodne masne kiseline titriraju se etanolnom otopinom kalij hidroksida.

REAGENSI

Sve kemikalije trebaju biti p.a. (pro analysi) čistoće osim ako nije drukčije određeno. Voda treba biti destilirana ili ekvivalentne čistoće.

- Smjesa otapala (v/v) **etil eter / etanol (95%-ni)**, u omjeru **1:1**.

U slučaju nedostatka **etil etera** može se pripremiti otopina etanola i **toulena**. **Etanol** pak može biti zamijenjen s **2-propanolom**. **Smjesu otapala** treba neutralizirati neposredno prije upotrebe sa otopinom kalij hidroksida (KOH) (vidi 2.2.) uz dodatak 0.3 ml otopine fenolftaleina (vidi 2.3.) na 100 ml **smjese**.

Napomena: etil eter je izuzetno zapaljiv i može stvarati eksplozivne peroksidge, pa se pri radu potrebno pridržavati odgovarajućih mjera opreza.

- **Etanolna otopina kalij hidroksida**, približno $0.1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ili, ako je potrebno, $0.5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Točnu koncentraciju otopine kalij hidroksida treba odrediti neposredno prije upotrebe!

Nakon pripreme i pretakanja u bocu od tamnog stakla sa gumenim čepom, otopina treba odstajati barem 5 dana prije upotrebe. Otopina mora biti bezbojna ili blijedo žućkasta.

Napomena: stabilna bezbojna otopina kalij hidroksida može se pripremiti dodatkom 4.0 ml aluminij butilata na 1000 ml etanola nakon čega se otopina ostavi mirovati nekoliko dana. Gornji sloj otopine treba dekantirati (odvojiti) i u njoj otopiti potrebnu količinu kalij hidroksida.

- **Etanolna otopina fenolftaleina** koncentracije 10 g/l ili etanolna otopina alkalno plavog koncentracije 20 g/l (u slučaju intenzivno obojenih ulja).

POTREBNA OPREMA

- Analitička vaga
- Erlenmeyer tikvica volumena 250 ml
- Bireta od 10 ml s podjelom od 0.05 ml

POSTUPAK

Priprema uzorka za analizu

U slučaju da je zbroj vlage i nečistoća u uzorku ulja veći od 1%, uzorak je potrebno filtrirati. Količina uzorka potrebna za analizu ovisi o pretpostavljenom udjelu slobodnih masnih kiselina, a određuje se prema **Tablici 1**.

Titracija

Odabrana količina uzorka odvaže se u Erlenmeyer tikvici volumena 250 ml, te se otopi u 50 do 150 ml neutralizirane smjese otapala etil eter / etanol. Titrira se uz miješanje sa 0.1 mol·dm⁻³ otopinom kalij hidroksida do promjene boje indikatora pri čemu se ružičasto obojenje fenolftaleina treba zadržati barem 10 sekundi.

Za svaki uzorak potrebno je načiniti barem dva određivanja, a konačni rezultat je njihova prosječna vrijednost.

IZRAŽAVANJE REZULTATA

Udio slobodnih masnih kiselina (SMK ili *engl.* free fatty acids – FFA) izražava se kao maseni postotak **oleinske kiseline** u ulju, a izračunava se prema slijedećem izrazu:

$$\text{SMK, kao oleinska kiselina (\%)} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

gdje je:

V = volumen (u ml) otopine kalij hidroksida potrošen za titraciju

c = točna koncentracija otopine kalij hidroksida

M = molekulska masa kiseline prema kojoj se izražava rezultat analize; za maslinovo ulje je to oleinska kiselina molekulske mase 282

m = težina analiziranog ulja u gramima

Tablica 7. Količine ulja potrebne za analizu ovisno o očekivanom %-ku slobodnih masnih kiselina

Očekivani % SMK	Količina uzorka (g)	Točnost odvage (g)
< 1	20	0.05
1 – 4	10	0.02
4 – 15	2.5	0.01
15 – 75	0.5	0.001
> 75	0.1	0.0002

3.2.2. Određivanje peroksidnog broja

PRINCIP

Ulje podvrgnuto analizi otapa se u smjesi otapala octene kiseline i kloroforma uz dodatak otopine kalij jodida. Oslobođeni jod titrira se sa standardiziranom otopinom natrij tiosulfata uz škrob kao indikator.

Peroksidni broj je po definiciji količina tvari u uzorku koje oksidiraju kalij jodid u opisanim uvjetima, izražena u miliekvivalentima aktivnog kisika po kg ulja. Cilj metode je ocjena stanja oksidiranosti ulja.

OPREMA

- Tikvica po Erlenmeyeru s brušenim grlom i čepom od 250 ml, prethodno osušena
- Bireta od 25 ili 50 ml, s podjelom od 0.1 ml
- Magnetska miješalica
- Vaga

Sva oprema treba biti bez prisutnih reducirajućih ili oksidirajućih tvari. Brušene staklene površine ne smije se premazivati laboratorijskom mašću.

REAGENSI

- Smjesa otapala ledene octene kiseline i kloroforma u omjeru 3:2
- Otopina kalijevog jodida. Pripremiti zasićenu (prezasićenu) otopinu otapanjem KI u suvišku u svježe prokuhanoj redestiliranoj vodi. Čuvati u mraku. Testirati

prije korištenja dodavanjem 0.5 ml u 30 ml otopine octene kiseline i kloroforma; zatim dodati 2 kapi 1% otopine škroba. Ako nastane plava boja koja da bi se obezbojila zahtijeva više od 1 kapi 0.1 N otopine natrijevog tiosulfata, treba pripremiti svježu otopinu KI.

- Natrij-tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)
- Vodena otopina škroba 1%, svježe pripremljena

POSTUPAK

Odvagati 5 grama maslinovog ulja u koničnu Erlenmeyer tikvicu sa staklenim čepom volumena 250 ml. Dodati 25 ml otopine ledene octene kiseline i kloroforma i 1 ml zasićenog KI (ova količina KI treba biti točno odmjerena, pa je najbolje se poslužiti mikropipetom ili Mohr-ovom pipetom). Tresti tikvicu sve dok se uzorak ne otopi u otopini. Staviti otopinu da stoji u mraku točno 1 minutu, a zatim dodati 75 ml destilirane vode. Ovako pripremljeni uzorak odmah titrirati postepenim dodavanjem 0.1 N natrij-tiosulfata, uz snažno miješanje na magnetskoj mješalici. Nastaviti titraciju sve dok žuta boja nije gotovo iščezla. Dodati oko 2 ml indikatorske škrobne otopine, te nastaviti titraciju, uz povremeno snažno protresanje tikvice da se oslobodi sav jod iz kloroformskog sloja. Dodavati tiosulfat kap po kap točno do nestanka plave boje. Ako je utrošeno manje od 0.5 ml 0.1 N natrij-tiosulfata, potrebno je ponoviti titraciju koristeći 0.01 N natrij-tiosulfat. Slijepu probu potrebno je načiniti svaki dan. Vrijednosti titracije slijepe probe ne smiju premašiti 0.1 ml tiosulfata, te moraju biti oduzete od vrijednosti uzorka.

$$P_{br} = ((S-B) \cdot (N) \cdot (1000)) / \text{masa uzorka (g)}$$

Gdje su S i B titracijske vrijednosti za uzorak i slijepu probu, a N označava normalitet tiosulfata.

Peroksidni broj izražava se u miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu ulja, a rezultat predstavlja aritmetičku sredinu dvaju određivanja.

3.2.3. Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području

MEĐUNARODNI SAVJET ZA MASLINOVO ULJE (engl. – INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL)
COI/T20/Doc. No. 19/Rev.1 2001

PREDGOVOR

Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području daje informacije o kakvoći masnoća, o stanju očuvanosti, te o promjenama u uljima uzrokovanim tehnološkim postupcima.

Apsorbancije na danim valnim duljinama javljaju se zbog prisutnosti konjugiranih dienskih i trienskih sustava. Vrijednosti tih apsorbancija izražene su kao specifična ekstinkcija $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (ekstinkcija 1%-tne otopine w/v ulja u predviđenom otapalu, debljine sloja 1 cm) koje se dogovorno označavaju sa K (ili “koeficijent ekstinkcije”).

SVRHA

Ovam metodom opisan je postupak za izvođenje spektrofotometrijske analize u ultraljubičastom području.

PRINCIP

Ispitivano ulje otopi se u predviđenom otapalu, te se izmjeri ekstinkcija otopine na određenim valnim duljinama u odnosu na čisto otapalo. Iz spektrofotometrijskih očitavanja računaju se specifične ekstinkcije.

OPREMA

- Spektrofotometar za mjerenje ekstinkcije u ultraljubičastom području u području između 220 i 360 nm, s mogućnošću očitavanja pojedinačnih vrijednosti u nanometrima.
- Četverokutne kvarcne kivete, s poklopcem i duljinom prolaza zrake (optičkom duljinom; engl. *optical length*) od 1 cm. Kad se takva kiveta napuni vodom ili drugim prikladnim otapalom, između praznih i tako napunjenih kiveta ne smiju se pokazivati razlike u ekstinkciji veće od 0.01 jedinice.
- Odmjerne tikvice (engl. *graduated flask*) od 25 ml.
- Staklena kromatografska kolona duljine 45 cm i promjera 3.5 cm s izlaznom cijevi (engl. *discharge tube*) promjera oko 10 mm.

REAGENSI

- **Izooktan** = 2,2,4-trimetilpentan (engl. *iso-octane* = *2,2,4-trimethylpentane*) spektrofotometrijske čistoće, koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 60% pri 220 nm i najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu, ili

cikloheksan (engl. *cyclohexane*) spektrofotometrijske čistoće koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 40% pri 220 nm i najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu, ili

neko drugo pogodno otapalo, a kojim je moguće postići potpuno otapanje ulja (npr. heksan, etilni alkohol – etanol ili ricinusovo ulje – engl. *castor oil*).

- **Aluminij oksid** (engl. *basic alumina*, Al_2O_3) za kromatografiju na stupcu pripremljen na slijedeći način:

Aluminij oksid osuši se u peći na temperaturi između 380 i 400 °C. Nakon toga stavlja se na dodatno sušenje kroz tri sata u hermetički zatvoren eksikator. Nakon toga aluminij oksid se prebaci u tikvicu sa čepom, izvaže, te mu se doda destilirana voda; 5 ml na 100 g aluminijevog oksida. Tikvica se odmah hermetički začepi, sadržaj se protresuje oko 15 minuta, te nakon toga ostavi stajati najmanje 12 sati prije upotrebe.

Provjeravanje aktivnosti tako pripremljenog aluminijevog oksida:

Pripremi se kromatografski stupac s 30 grama aluminijevog oksida. Postupa se kao što je opisano u paragrafu 5.4. s tim da se kroz kromatografsku kolonu propušta smjesa sastavljena od:

- 95% djevičanskog ulja specifične ekstinkcije manje od 0.18 pri 268 nm,
- 5% kikirikijevog ulja koje je u procesu rafiniranja bilo tretirano zemljom, te ima specifičnu ekstinkciju ne manju od 4 pri 268 nm.

Ako smjesa ulja nakon prolaska kroz kolonu ima specifičnu ekstinkciju veću od 0.11 pri 268, pripremljeni aluminijev oksid je prihvatljiv; ako nije tako mora se povisiti stupanj dehidracije aluminijevog oksida.

- **n-heksan** kromatografske čistoće

POSTUPAK

- Ispitivani uzorak treba biti u potpunosti homogen i bez suspenziranih nečistoća. Ako je potrebno, ulje koje je na sobnoj temperaturu tekuće treba filtrirati kroz filter papir na temperaturi od oko 30 °C; krute masti trebaju biti homogenizirane i filtrirane također kroz filter papir na temperaturi ne većoj od 10 °C od njihove točke topljenja.

- Precizno odvagati 0.25 g tako pripremljenog uzorka u odmjernu tikvicu od 25 ml, te ju s otapalom nadopuniti do oznake i homogenizirati. Nastala otopina treba biti savršeno bistra. Ako se primjećuje opalescencija ili zamućenost otopinu je potrebno brzo profiltrirati kroz filter papir.

- Dobivenom otopinom napuniti kivetu i izmjeriti ekstinkciju na prikladnoj valnoj duljini između 232 i 276 nm, koristeći **otapalo kao referentnu otopinu**.

Očitane vrijednosti ekstinkcija moraju biti u području između 0.1 i 0.8. Ako nije tako, mjerenja moraju biti ponavljana koristeći koncentriranije ili razrjeđenije otopine (uzorka).

- Ako je za određivanje specifične ekstinkcije nužno propuštanje ulja kroz aluminij oksid, treba postupiti na slijedeći način. Napuniti kromatografsku kolonu suspenzijom pripremljenom od 30 g aluminijevog oksida u heksanu. Nakon što se adsorbens slegnuo ukloniti višak heksana do otprilike 1 cm iznad vrha alumine.

Otopiti 10 g ulja (ili masti, ako se radi o mastima), homogeniziranog i filtriranog kao što je opisano u 5.1., u 100 ml heksana, te prenijeti otopinu u kolonu. Skupiti eluat i evaporirati otapalo u vakumu pri temperaturi ispod 25 °C.

IZRAŽAVANJE REZULTATA

Zabilježiti **specifične ekstinkcije** (ekstinkcijske koeficijente, **koeficijente ekstinkcije**) na različitim valnim duljinama **izračunate na slijedeći način**:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \cdot s}$$

gdje je:

K_{λ} = specifična ekstinkcija na valnoj duljini λ ;

E_{λ} = ekstinkcija izmjerena na valnoj duljini λ ;

c = koncentracija otopine u g/100 ml;

s = debljina kivete u cm (= duljina puta zrake u cm).

(opaska: obično je koncentracija otopine 1 g/100 ml, a debljina kivete 1 cm, pa je $c \cdot s = 1$, odnosno $K_{\lambda} = E_{\lambda}$)

Rezultati trebaju biti izraženi na dvije decimale.

Spektrofotometrijska analiza maslinovog ulja u skladu sa službenom metodom u pravilima EEC uključuju određivanje specifične ekstinkcije u otopini **izo-oktana** na valnim duljinama od 232 i 270 nm, te određivanje odstupanja (varijacije) specifične ekstinkcije (ΔK) koje se računa prema slijedećem izrazu:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

gdje je K_m specifična ekstinkcija na valnoj duljini m , to jest na onoj valnoj duljini oko 270 nm (± 2 nm) pri kojoj je maksimalna apsorpcija (treba ju pronaći!).

DODATAK

Kalibracija spektrofotometra

D.1. Oprema se mora provjeravati u određenim intervalima (najviše svakih šest mjeseci) na djelovanje valne duljine i na točnost tog djelovanja.

D.2. Valne duljine moraju se provjeravati korištenjem živine lampe ili pomoću odgovarajućih filtera.

D.3. Da bi se provjerili osjetljivosti fotoćelije i fotomultiplikatora treba postupiti na slijedeći način: odvagati 0.2000 g čistog natrijevog kromata (Na_2CrO_4) za spektrofotometriju, te ga otopiti u $0.05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ otopini NaOH u odmjerneji tikvici od 1000 ml, te nadopuniti do oznake. Precizno odmjeriti 25 ml dobivene otopine, prenijeti u odmjernu tikvicu od 500 ml i razrijediti do oznake s istom otopinom NaOH.

Mjeriti ekstinkciju tako dobivene otopine na 275 nm, koristeći otopinu NaOH kao referentnu. Izmjerena ekstinkcija dobivena korištenjem kivete debljine 1 cm treba biti 0.200 ± 0.005 .

4. Rezultati i rasprava

Parametri kakvoće ulja spomenuti u ciljevima istraživanja određivani su nakon što se ulje istaložilo i izbistrilo, odnosno 30.01.2004., te nakon 6 mjeseci čuvanja u mraku, ali na temperaturi od oko 20 °C (što bi otprilike odgovaralo držanju ulja u prosječnoj uporabi u domaćinstvu), odnosno 02.08.2004. Svi uzorci bili su u posve napunjenim bočicama da se maksimalno smanji pristup kisiku iz zraka.

Kako je ulje brano, prerađivano i čuvano po svim pravilima struke, osim što nismo raspolagali s mogućnošću filtriranja ulja, nego smo ga morali ostaviti da se prirodno istaloži, dobivene izmjere svih parametara ukazuju da su svi uzorci ulja, barem što se njihovog kemizma tiče, bili izuzetne kakvoće, odnosno da su odgovarali propisanim uvjetima za ekstra djevičanska ulja. Čak i nakon čuvanja od 6 mjeseci većina uzoraka zadržala je ta svojstva, osim što su neki uzorci imali nešto viši peroksidni broj nego što je propisano za ulja ekstra kvalitete.

Na ovako prikupljenim uzorcima imalo je smisla provesti analizu varijance po potpuno slučajnom rasporedu (CRD), a prosječne vrijednosti pojedinih svojstava i osnovni statistički parametri prikazani su u **Tablici 8**.

Tablica 8. Prosječne vrijednosti parametara ispitivanih ulja po sortama i položajima na kojima su uzgajane

sorta i lokacija	datum	parametri kemijske kakvoće ulja				
		SMK	PV	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK
Leccino (V. Mlun)	1	0.1008	2.180	1.1452	0.0960	0.0000
	2	0.1232	7.882	1.5351	0.1367	0.0033
Leccino (Sovinjak)	1	0.1125	1.955	1.2368	0.1235	0.0008
	2	0.1375	6.550	1.8636	0.1616	0.0029
Leccino generativno (Barbariga)	1	0.0968	1.838	1.2922	0.1398	0.0005
	2	0.1136	7.240	1.9140	0.1699	0.0011
Leccino vegetativno (Barbariga)	1	0.0946	1.153	1.1760	0.1088	0.0001
	2	0.1072	4.764	1.6078	0.1655	0.0012
Bjelica (Barbariga)	1	0.1316	2.940	1.3148	0.1690	0.0011
	2	0.1562	10.092	1.8072	0.1652	0.0020
Bjelica (Sovinjak)	1	0.1152	2.220	1.4340	0.1060	0.0009
	2	0.1380	7.932	1.8089	0.1232	0.0032
Buža (Sovinjak)	1	0.1005	3.823	1.6003	0.1418	0.0008
	2	0.1330	11.056	2.5942	0.2060	0.0025
Buža 1 (Vodnjan)	1	0.1338	4.920	1.4932	0.1360	0.0001
	2	0.2255	11.498	2.0689	0.1414	0.0006
Buža 2 (Vodnjan)	1	0.1085	5.465	1.4295	0.1188	0.0006
	2	0.1570	8.738	2.1377	0.1395	0.0018
Žižolera (Vodnjan)	1	0.1428	4.263	1.5553	0.1713	0.0010
	2	0.2268	5.658	1.5815	0.1750	0.0030

Provedene analize varijance za svako svojstvo posebno u svom roku (datumu) pokazale su značajne razlike po istraživanim kemijskim parametarima ulja na razini značajnosti $P=0.05$, osim za ΔK nakon stajanja ulja od šest mjeseci što znači da se ta vrijednost staranjem ovih ulja ujednačuje. Naravno, ne razlikuju se značajno sve sorte po pojedinim lokacijama, ali mislim da je prikazivanje tih podataka suvišno.

5. Zaključci

Na temelju ovih podataka može se zaključiti da istraživana ulja, ako su plodovi ubrani u optimalnom stupnju zrelosti, te pravovremeno prerađeni i čuvani na odgovarajući (ispravan način), imaju, ali i zadržavaju svoju visoku vrijednost kroz duže vrijeme.

Kako smo čuvali ulja 6 mjeseci u na temperaturi od oko $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a ona su i dalje gotovo sva zadržala ekstra kakvoću, možemo zaključiti da ulja koja se čuvaju u većim količinama i u inoks tankovima na nižim temperaturama (što bi trebala biti praksa kod veće proizvodnje maslinovog ulja) od oko $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ mogu očuvati svoju izvornost od predviđenih godinu dana, kao što navode podaci iz literature temeljeni na dosadašnjim iskustvima.

6. Literatura

1. Bartolini G., and Petruccelli R.; **Classification, origin, diffusion and history of the olive**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 2002.
2. INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL COI/T20/Doc. No. 19/Rev.1 2001
3. Ivančič Anton; **Hibridizacija pomembnejših rastlinskih vrst**. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo, 2002.
4. Kiritsakis K. Apostolos, Lenart B. Elizabeth, Hernandez J. Ruben, Willet C. Walter: **Olive Oil From the Tree to the Table**, Second Edition (August 1, 1998). ISBN: 0917678427. Food & Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut 06611 USA.
5. Mangold H. K. and Fedeli E.: *Olives, olive oils and the Mediterranean diet*. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse – Vol. LXXIV, Agosto 1997.
6. Ortega-Nieto, J. M. *La Poda del Olivo*, Ministerio de Agricultura, Madrid, 1962.
7. Ranalli, A., Pollastri, L., Contento, S., Di Loreto, G., Iannucci, E., Lucera., L. i Russi, F. *Acylglycerol and Fatty Acid Components of Pulp, Seed, and Whole Olive Fruit Oils. Their Use to Characterize Fruit Variety by Chemometrics*. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3775-3779.
8. Sanchez, J.: *Lipid photosynthesis in olive fruit*. *Prog. Lipid Res.* Vol 33, No 1/2, pp. 97-104, 1994.
9. Škarica B., Žužić I., Bonifačić M. (1996): **Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj**. Tipograf d.d., Rijeka, 1996.