

KONTROLA KVALITETE MASLINOVOG ULJA

Akrap, Ana-Maria

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:455164>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VELEUČILIŠTE U KARLOVCU

**STRUČNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ
PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA
PRERADA MLIJEKA**

ANA-MARIA AKRAP

KONTROLA KVALITETE MASLINOVOG ULJA

ZAVRŠNI RAD

KARLOVAC, 2023.

Veleučilište u Karlovcu

Stručni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Prerada mlijeka

Ana-Maria Akrap

Kontrola kvalitete maslinovog ulja

Završni rad

Mentor: dr.sc. Ines Cindrić, prof. struč. stud

Broj indeksa studentice: 0314614003

Karlovac, studeni 2023.

IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, Ana-Maria Akrap, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom „Kontrola kvalitete maslinovog ulja“ rezultat vlastitog rada i istraživanja te se oslanja na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovog rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava.

Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenog i nakon obrane uređenog rada.

Karlovac, studeni 2023.

Ana-Maria Akrap

Veleučilište u Karlovcu
Odjel prehrambene tehnologije
Stručni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

KONTROLA KVALITETE MALSINOVOG ULJA

Ana-Maria Akrap

Rad je izrađen: Nastavni zavod za javno zdravstvo, Odjel za zaštitu okoliša i zdravstvenu tehnologiju - ispitivanje namirnica i predmeta opće uporabe, Rijeka

Mentor: dr.sc. Ines Cindrić, prof. struč. stud

Sažetak: Kemijski sastav maslinovog ulja ovisi o sorti masline, nadmorskoj visini uzgoja ali i vremenu berbe te postupku ekstrakcije. Sastoji se uglavnom od oleinske kiseline (do 83%) te ostalih masnih kiselina uključujući linolnu kiselinu (do 21%) i palmitinsku kiselinu (do 20%). Ekstra djevičansko maslinovo ulje ne smije imati više od 0,8% slobodnih masnih kiselina i mora imati povoljna svojstva okusa. Maslinovo ulje proizvodi se mljevenjem ploda masline i ekstrakcijom ulja mehaničkim ili kemijskim putem. Pravilnikom o uljima ploda i komine masline propisan je način svrstavanja, odnosno kategoriziranja maslinovog ulja u sljedeće kategorije: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje, ulje lampante. Glavni pokazatelji kvalitete maslinovog ulja su: slobodne masne kiseline, peroksidni brojevi i K-brojevi. Cilj završnog rada je provjeriti ispravnost kategorizacije za četiri uzorka maslinovog ulja.

Broj stranica: 34

Broj slika: 10

Broj tablica: 7

Broj literaturnih navoda: 15

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: ekstrakcija, kategorizacija, maslinovo ulje, proizvodnja

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Dr.sc. Marijana Blažić, prof. struč. stud. – Predsjednik ispitnog povjerenstva
2. Elizabeta Zandona, pred. – član (zamjenik predsjednika)
3. Dr.sc. Ines Cindrić, prof. struč. stud. – član mentor
4. Dr.sc. Bojan Matijević, prof. struč. stud. – zamjena

Karlovac University of Applied Sciences
Department of Food Technology
Professional undergraduate study of Food Technology

Final paper

Scientific Area: Biotechnical sciences
Scientific Field: Food Technology

QUALITY CONTROL OF OLIVE OIL

Ana-Maria Akrap

Final paper performed at: Institute of public health, Department for environmental protection and health technology - examination of food and items of general use, Rijeka

Supervisor: Ines Cindrić, PhD

Abstract: The chemical composition of olive oil depends on type of olive, geographical height, harvest time and extraction procedures. It consists mainly of oleic acid (up to 83%) and other fatty acids including linoleic acid (up to 21%) and palmitic acid (up to 20%). Extra virgin olive oil should not have more than 0,8% of free fatty acids and must have favourable flavour properties. Olive oil is manufactured by grinding the olive fruit and extracting the oil either mechanically or chemically. International olive council uses strict rules to categorize and grade olive oil into the following categories: extra virgin olive oil, virgin olive oil and lampante oil. Main olive oil categorization parameters are free fatty acids, peroxide value and K-numbers. Main goal of my final paper was to check categorization validity of four different olive oil samples.

Number of pages: 34

Number of figures: 10

Number of tables: 7

Number of references: 15

Original in: Croatian

Key words: categorization, extraction, manufacture, olive oil

Date of the final paper defense:

Reviewers:

1. *Ph.D.* Marijana Blažić, college prof.
2. Elizabeta Zandona, *lecturer*
3. *Ph.D.* Ines Cindrić, college prof.
4. *Ph.D.* Bojan Matijević, college prof. (substitute)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Sorte maslina.....	2
2.2. Tehnološki proces proizvodnje maslinovog ulja.....	3
2.3. Vrste maslinovih ulja.....	5
2.4. Metode analiza fizikalno-kemijskih svojstava ulja.....	8
2.4.1 Kiselinski broj.....	8
2.4.2 K-brojevi.....	9
2.4.3 Peroksidni broj.....	10
2.5. Kemijski sastav maslinovog ulja.....	10
2.6. Kakvoća maslinovog ulja.....	11
2.6.1. Hidroliza triacilglicerola.....	11
2.6.2. Oksidacijsko kvarenje.....	12
2.6.3. Senzorska svojstva djevičnaskih maslinovih ulja.....	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. Materijali.....	15
3.2. Metode analize maslinovog ulja.....	16
3.2.1. Određivanje slobodnih masnih kiselina u uzorcima maslinovog ulja.....	17
3.2.2. Određivanje peroksidnog broja u uzorcima maslinovog ulja.....	18
3.2.3. Određivanje saponifikacijskog broja u uzorcima maslinovog ulja.....	19
3.2.4. Određivanje jodnog broja u uzorcima maslinovog ulja.....	20
3.2.5. Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području (K-brojevi).....	21
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	23
5. ZAKLJUČAK.....	31
6. LITERATURA.....	33

1. UVOD

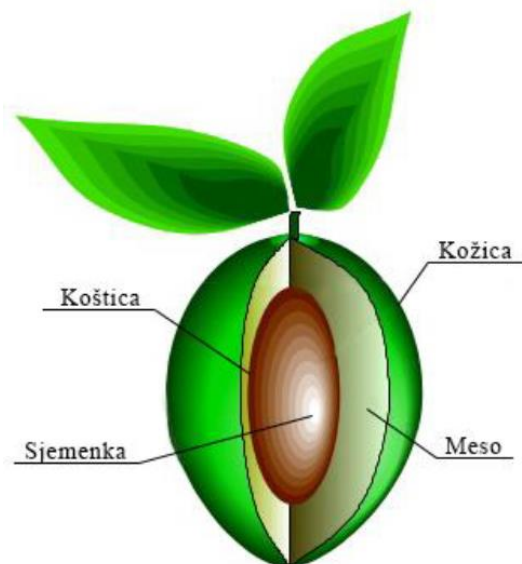
Maslina, *Olea europea* L., zimzelena je biljka rasprostranjena diljem Sredozemlja. Kvalitetna sirovina, odnosno neoštećen, svjež i dozrio plod masline osnovni je preduvjet kako bismo dobili kvalitetno djevičansko maslinovo ulje. Također, na kvalitetu maslinovog ulja utjecaj imaju i drugi faktori kao što su temperatura skladištenja, način skladištenja te okolišni faktori. Ukoliko dođe do promjene navedenih faktora, postoji rizik od promjene i fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava. Kako bi se provjerile potencijalne promjene u maslinovom ulju, uzorke je potrebno podvrgnuti prije svega fizikalno-kemijskim analizama kojima se određuju slobodne masne kiseline izražene kao oleinska kiselina, peroksidni broj te K-brojevi. Rezultati dobiveni navedenim analizama osnovni su pokazatelji kakvoće maslinovog ulja. Na osnovi utvrđenih parametra maslinovo ulje dijeli se u tri osnovne kategorije: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje i maslinovo ulje lampante. Maslinovo ulje iznimno je vrijedna namirnica što potvrđuju spoznaje o njegovoj biološkoj vrijednosti i blagotvornom utjecaju na zdravlje. Bogato vitaminima, antioksidansima te hranjivim tvarima, maslinovo ulje ima mnoga ljekovita svojstva i pozitivan utjecaj na ljudski organizam. Pozitivno utječe na probavni sustav, moždano tkivo i kožu, krvožilni sustav te štiti od pojave karcinoma zbog čega se preporučuje konzumiranje maslinovog ulja u svakodnevnoj prehrani. Specifičan sastav masnih kiselina u maslinovom ulju, to jest visoki udjel jednostruko nezasićene oleinske kiseline, koja je manje podložna peroksidaciji u odnosu na višestruko nezasićene masne kiseline te visoki sadržaj vitamina E zaslužni su za povoljan, to jest pozitivan utjecaj. Antioksidativni učinak ulja rezultat je djelovanja biofenola. Ekstra djevičansko maslinovo ulje sadrži značajnu koncentraciju fenolnih spojeva koji imaju snažan antioksidacijski potencijal.

Cilj završnog rada je odrediti kategorizaciju maslinovog ulja na prikupljenim uzorcima na osnovi provedenih fizikalno-kemijska analiza.

2. OPĆI DIO

2.1. Sorte maslina

Odabirom sorte maslina možemo utjecati na kakvoću ekstrahiranog ulja. Sortne karakteristike ulja proizlaze iz različitosti genskih informacija. Najvažniji pokazatelji određeni genetičkim kodom su enzimska aktivnost, prilikom čega dolazi do stvaranja poželjnih hlapljivih tvari, te koncentracija fenolnih tvari. Također, ostali faktori kao što je naprimjer stupanj zrelosti, oštećenje ploda, uvjeti prerade, uvjeti čuvanja ulja i drugo, moraju biti zadovoljeni kako bismo dobili kvalitetno ekstrahirano maslinovo ulje. Navedeni pokazatelji bitno utječu na otpornost ulja prema oksidaciji, ali i na okusno-mirisna svojstva ulja (Koprivnjak, 2006.). Genetičkim kodom također je određena i masa ploda masline. Sam plod masline ima sličnu građu plodovima koštičavog voća, a sastoji se od kožice (epikarp), pulpe (mezokarp) i koštice (endokarp) u kojoj se nalazi sjemenka (endosperm) (Koprivnjak, 2006.). Na slici 1. prikazani su dijelovi ploda masline.



Slika 1. Dijelovi ploda masline

Danas se na području Hrvatske uzgaja više od 60 domaćih i introduciranih sorti maslina, a neke od najpoznatijih i najznačajnijih navedene su u tablici 1. te su opisana njihova najznačajnija obilježja (Medved, 2021.).

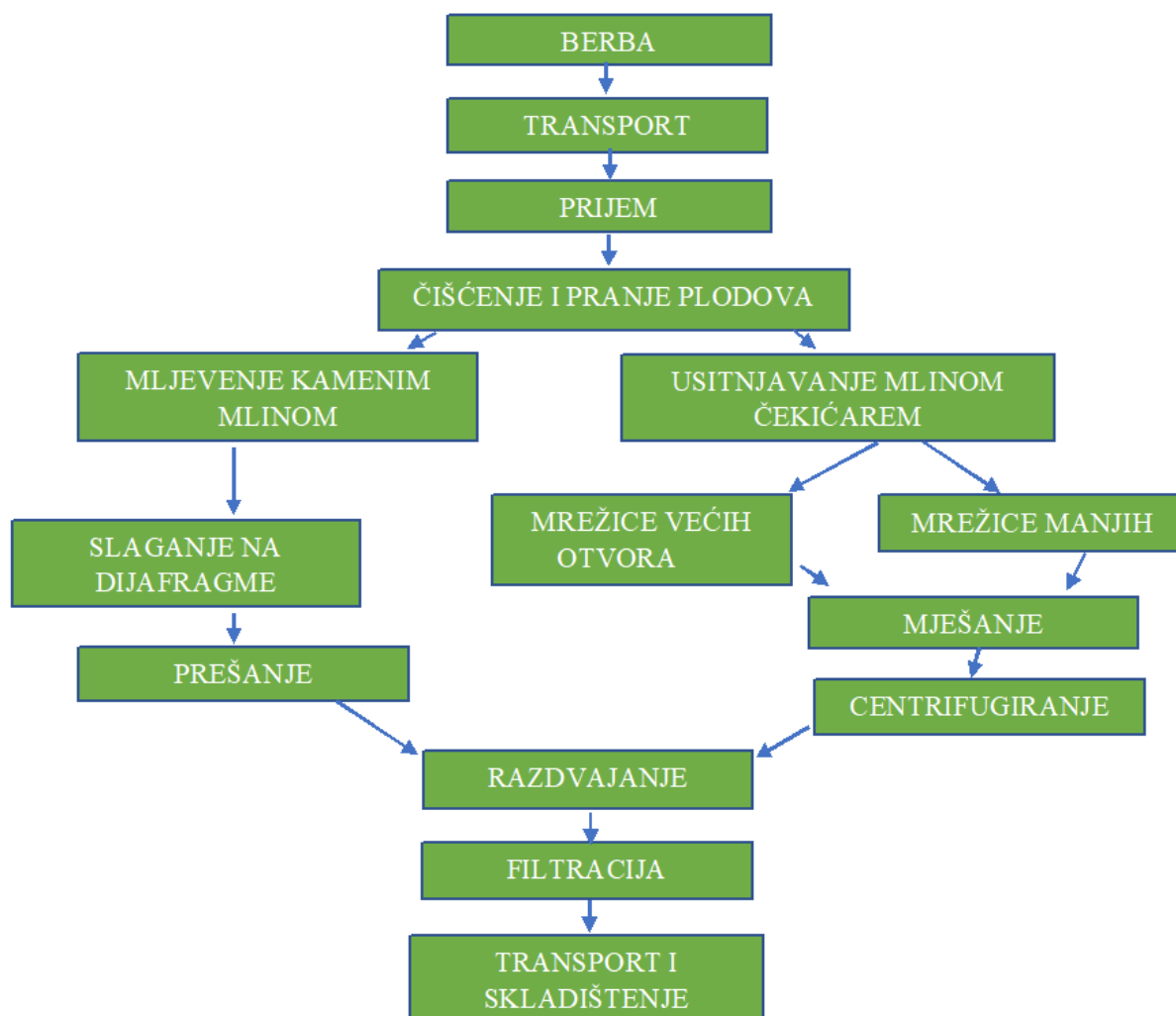
Tablica 1. Sorte maslina i njihova najznačajnija obilježja (Bičak, i sur., 2008.)

SORTA MASLINE	NAJZNAČAJNIJA OBILJEŽJA
Oblica	Ulje visoke kakvoće, plod pogodan za konzerviranje
Lastovka	Ulje gorkastog okusa zbog visokog sadržaja polifenola
Drobnica	Redovito rađa, daje vrhunsko ulje
Levantinka	Prosječna težina 4 grama, redovito i dobro rađa
Buža	Daje ulje odlične kakvoće
Istarska bjelica	Plodovi srednje veličine, daje visok randman ulja (24%)
Plominka	Plod elipsastog oblika s izraženim vrhom na obje strane
Dužica	Ulje slabije kvalitete, pogodno za konzerviranje

2.2. Tehnološki proces proizvodnje maslinovog ulja

Maslinovo ulje dobiva se cijedenjem zdravih i zrelih plodova masline. Riječ je o jednom od najvažnijih čimbenika tehnološkog procesa koji ima bitan utjecaj na kakvoću dobivenog maslinovog ulja. Oštećenje ploda masline te duži vremenski period protekao od berbe do trenutka izdvajanja ulja mogu bitno utjecati na samu kvalitetu maslinovog ulja. Sukladno navedenim čimbenicima bitnim za kvalitetu ulja, osnovni preduvjet je neoštećen, svjež i zreo plod masline (Koprivnjak, 2006.). Prilikom dobivanja maslinovog ulja, pravilan i kontinuiran proces proizvodnje također su bitni segmenti.

Za proizvodnju maslinovog ulja koriste se plodovi stabla masline koji se podvrgavaju isključivo mehaničkim ili drugim fizikalnim postupcima u uvjetima koji ne dovode do promjena sastojaka ulja te bez dodataka pomoćnih sredstava kemijskog ili biokemijskog djelovanja. Maslinovo ulje može se podvrgnuti isključivo postupcima pranja, centrifugiranja, dekantacije i/ili filtracije (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009). Masline na samom početku prilikom proizvodnje prolaze čišćenje, koje uključuje odvajanje lišća, grančica te plodova nepoželjnih za proizvodnju i pranje. Oprane masline se usitnjavaju na kamenim mlinovima, mlinovima s valjcima, noževima, zupčastim diskovima ili mlinovima čekićarima kako bi se dobilo tijesto koje se potom mijesi radi dobivanja što većih kapljica ulja (Koprivnjak, 2006.). Odvajanje ulja iz tijesta vrši se prešanjem, centrifugiranjem ili procjeđivanjem. Dobiveni uljni mošt sadrži vodu i sitne čestice tkiva te se bistri taloženjem ili filtriranjem pomoću celuloznih kartonskih filtara, filtarskih preša, gravitacijskih uređaja, filtara s dijatomejskom zemljom ili vrećama za filtraciju od polimernih vlakana (Koprivnjak, i sur., 2010.). Tako dobiveno ulje potrebno je skladištiti u spremnike od plastike ili nehrđajućeg čelika kako bi se izbjegli negativni utjecaji koji mogu dovesti do promjena u maslinovom ulju, a koje utječu na njegovu kvalitetu (Petrić, 2021.). Na slici 2. kronološki je prikazana tehnologija proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja.



Slika 2. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja (Koprivnjak, i sur., 2010.)

2.3. Vrste maslinovih ulja

Danas na tržištu postoje različite vrste maslinovog ulja čija razlika proizlazi prvenstveno u ovisnosti od tehnološkog procesa koji se koristi prilikom ekstrakcije ulja, ali i o razini slobodne masne kiseline izražene kao oleinska kiselina te o peroksidnom broju i K-brojevima.

Navedeni čimbenici su bitni kako bi se ulje moglo podijeliti u sljedeće kategorije propisane prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina:

1. *Ekstra djevičansko maslinovo ulje* je ulje dobiveno izravno iz ploda masline isključivo mehaničkim postupcima, koje sadrži najviše 0,8 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
2. *Djevičansko maslinovo ulje* je ulje dobiveno izravno iz ploda masline isključivo mehaničkim postupcima, koje sadrži najviše 2 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
3. *Maslinovo ulje lampante* je djevičansko maslinovo ulje neprihvatljivih senzorskih svojstava, koje sadrži više od 2 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
4. *Rafinirano maslinovo ulje* je ulje dobiveno rafinacijom djevičanskog maslinovog ulja, koje ne sadrži više od 0,3 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
5. *Maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja* je ulje dobiveno miješanjem rafiniranog maslinovog ulja i djevičanskih maslinovih ulja osim maslinovog ulja lampante, koji ne sadrži više od 1 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
6. *Sirovo ulje komine maslina* je ulje dobiveno preradom komine maslina mehaničkim postupcima i/ili ekstrakcijom komine maslina organskim otapalima, bez rafinacije i reesterifikacije te bez miješanja s uljima druge vrste.
7. *Rafinirano ulje komine maslina* je ulje dobiveno rafinacijom sirovog ulja komine maslina, koji ne sadrži više od 0,3 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.
8. *Ulje komine maslina* je ulje dobiveno miješanjem rafiniranog ulja komine maslina i djevičanskih maslinovih ulja osim maslinovog ulja lampante, koje ne sadrži više od 1 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja.

Svojstva maslinovog ulja koja moraju odgovarati Pravilnikom o uljima od ploda i komine masline prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Granične vrijednosti svojstva pojedinih kategorija maslinovog ulja prema Pravilniku o uljima od ploda i komine masline (NN 7/2009.)

Kategorija	1. Ekstra djevičansko maslinovo ulje	2. Djevičansko maslinovo ulje	3. Maslinovo ulje lampante	4. Rafinirano maslinovo ulje	5. Maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranog maslinovog ulja i djevičanskih maslinovih ulja	6. Sirovo ulje komine maslina	7. Rafinirano ulje komine maslina	8. Ulje komine maslina
Slobodne masne kiseline (%) (*)	≤ 0,8	≤ 2,0	> 2,0	≤ 0,3	≤ 1,0	—	≤ 0,3	≤ 1,0
Peroksidni broj mmol O ₂ /kg (*)	≤ 10	≤ 10	—	≤ 2,5	≤ 7,5	—	≤ 2,5	≤ 7,5
Voskovi mg/kg (**)	≤ 250	≤ 250	≤ 300 ⁽³⁾	≤ 350	≤ 350	> 350 ⁽⁴⁾	> 350	> 350
2-gliceril mono-palmitat (%)	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14	≤ 1,1 ako je udio palmitinske kiseline % > 14	≤ 0,9 ako je udio palmitinske kiseline % ≤ 14	≤ 1,4	≤ 1,4	≤ 1,2
	≤ 1,0 ako je udio palmitinske kiseline % > 14	≤ 1,0 ako je udio palmitinske kiseline % > 14	≤ 1,1 ako je udio palmitinske kiseline % > 14	≤ 1,1 ako je udio palmitinske kiseline % > 14	≤ 1,0 ako je udio palmitinske kiseline % > 14			
Stigma-stadieni mg/kg ⁽¹⁾	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,50	—	—	—	—	—
Razlika između HPLC ECN42 i teoretskog ECN42	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,6	≤ 0,5	≤ 0,5
K ₂₃₂ (*)	≤ 2,50	≤ 2,60	—	—	—	—	—	—
K ₂₇₀ (*)	≤ 0,22	≤ 0,25	—	≤ 1,10	≤ 0,90	—	≤ 2,00	≤ 1,70
Delta-K (*)	≤ 0,01	≤ 0,01	—	≤ 0,16	≤ 0,15	—	≤ 0,20	≤ 0,18
Senzorska analiza Medijan mana (Mm) (*)	Mm = 0	Mm ≤ 3,5	Mm > 3,5 ⁽²⁾	—	—	—	—	—

Senzorska analiza Medijan voćne arome (Mv) (*)	Mv > 0	Mv > 0	—	—	—	—	—	—
<p>(1) Suma izomera koji se mogu (ali ne moraju) odijeliti kapilarnom kolonom. (2) Ili ako je medijan mana $Mm \leq 3,5$, a medijan voćne arome $Mv = 0$. (3) Ulja s količinom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se maslinovim uljima lampante ako je ukupna količina alifatskih alkohola ≤ 350 mg/kg ili ako je udio eritrodiola i uvaola $\leq 3,5\%$. (4) Ulja s količinom voskova između 300 mg/kg i 350 mg/kg smatraju se sirovim uljima komine maslina ako je ukupna količina alifatskih alkohola > 350 mg/kg i ako je udio eritrodiola i uvaola $> 3,5\%$</p>								

2.4. Metode analiza fizikalno-kemijskih svojstava ulja

Maslinovo ulje podliježe kvalitativnoj analizi koja je vrlo bitna prilikom određivanja parametara kvalitete. Kako bi se ustanovila kvaliteta maslinovog ulja, provode se kemijske analize koje daju informaciju o kvaliteti ulja. Analize se odnose na određivanje kiselinskog broja, K-brojeva i peroksidnog broja (Severec, 2021.). Metode ispitivanja maslinovog ulja provode se na način propisan Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina. Uzorci ulja donose se u čistoj, suhoj, zatamnjenoj boci i hermetički zatvorenoj.

2.4.1 Kiselinski broj

Slobodne masne kiseline se iskazuju u obliku postotka oleinske kiseline, a upućuju na stupanj hidrolitičkog kvarenja. Oleinska kiselina je najzastupljenija jednostruko nezasićena masna kiselina s parnim brojem ugljikovih atoma (18:1, n-9), a predstavlja 55-83% sadržaja svih masnih kiselina u maslinovom ulju. Ima visoku biološku i prehrambenu vrijednost te je lako probavljiva. Prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina određene su granične vrijednosti sadržaja slobodnih masnih kiselina za pojedine kategorije maslinovih ulja, a podaci su iskazani u tablici 3. (Klepo, i sur., 2014.).

Tablica 3. Granične vrijednosti slobodnih masnih kiselina (Klepo, i sur., 2014.)

Kategorija djevičanskih maslinovih ulja	g/100g ulja
EKSTRA DJEVIČANSKO MASLINOVO ULJE	$\leq 0,8$
DJEVIČANSKO MASLINOVO ULJE	$\leq 2,0$

Sadržaj slobodnih masnih kiselina posljedica je postupka degradacije koja se odvija u plodu prilikom djelovanja većeg broja čimbenika, a najučestaliji uzrok je mehaničko oštećenje ploda koje uzrokuje brzu oksidaciju. Povećanje slobodnih masnih kiselina obrnuto je proporcionalno sadržaju drugih bitnih komponenti maslinovog ulja kao što je aromatski spoj, polifenoli, vitamini i drugo. Što je veći sadržaj slobodnih masnih kiselina u maslinovom ulju, njegova prehrambena i zdravstvena vrijednost značajno opada (Klepo, i sur., 2014.).

2.4.2 K-brojevi

K-brojevima, odnosno spektrofotometrijskim ispitivanjem u ultraljubičastom području dobivamo informaciju o samoj kakvoći ulja, njegovoj autentičnosti, stanju očuvanosti, ali i o mogućem patvorenju ulja s uljima koja su rafinirana. Apsorbancija se mjeri pri valnim duljinama od 232 nm (K_{232}) i 270 nm (K_{270}). Apsorbancija u ultraljubičastom području pri valnoj duljini od 232 nm posljedica je nastajanja hiperoksida prilikom čega dolazi do vezanja kisika na dvostruku vezu. Takvu pojavu nazivamo prvim stupnjem oksidacije ulja. Apsorbancija pri valnoj duljini od 270 nm posljedica je prisutnosti karbonilnih spojeva koji nastaju pucanjem lanaca karboksilne kiseline na mjestu vezivanja kisika. Takvu pojavu nazivamo drugim stupnjem oksidacije ulja. Osim navedenih K-brojeva, postoji i broj ΔK koji nam omogućuje razlikovanje između oksidiranog i patvorenog ulja koje sadrži rafinirano ulje. Povećanje ΔK ukazuje na moguću prisutnost rafiniranih ulja u analiziranom uzorku (Silva, i sur., 2020.). Granične K-vrijednosti su iskazane u tablici 4. (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.).

Tablica 4. Granične K-vrijednosti (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.)

Kategorija	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK
Ekstra djevičansko maslinovo ulje	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01
Djevičansko maslinovo ulje	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01
Maslinovo ulje lampante	Obavezna rafinacija	Obavezna rafinacija	Obavezna rafinacija

2.4.3 Peroksidni broj

Peroksidnim brojem izražava se koncentracija nastalog hidroperoksida prilikom procesa fotooksidacije i autooksidacije. Hidroperoksid razvijati će sve dok u ulju i/ili njegovom natprostoru ima raspoloživog kisika (Koprivnjak, 2006.) koji se veže na dvostruku vezu masnih kiselina. Izloženost kisiku jedan je od najčešćih uzroka kvarenja ulja prilikom prerade i skladištenja ulja, stoga je vrlo bitno pravilno tretirati sirovine, kao i njihovo skladištenje (Severec, 2021.). Peroksidni broj iskazuje se u milimolima, odnosno pokazuje nam prisutnost aktivnog kisika na 1kg ulja. Maksimalna dopuštena vrijednost za sve kategorije ulja koje se mogu konzumirati bez rafiniranja je 10 mmol O₂/kg (Klepo, i sur., 2014.).

2.5. Kemijski sastav maslinovog ulja

Maslinovo se ulje najvećim dijelom sastoji od osapunjivog (99%) i neosapunjivog dijela (1%). Triacilgliceroli, slobodne masne kiseline te fosfolipidi dio su osapunjivog dijela maslinovog ulja, a tijekom reakcije sa lužinom stvaraju sapune (Žanetić, 2021.). Neosapunjivi dio sačinjavaju spojevi koji su u pravilu sekundarni produkti metabolizma stabla i ploda masline i imaju odlučujuću ulogu u brojnim fiziološkim i biokemijskim procesima (Žanetić, i sur., 2006.). Najzastupljenija skupina spojeva neosapunjivog dijela maslinovog ulja su steroli koji pripadaju skupini fitosterola, a koriste se u svrhu određivanja podrijetla i čistoće prirodnih maslinovih ulja, s ulogom antioksidansa i inhibitora njihovog kvarenja (Škarica, 1996.).

Nadalje, sastojci kao što su ugljikovodici, tokoferoli, alifatski triterpenski alkoholi, steroli, pigmenti, fenoli i drugo također pripadaju neosapunjivom dijelu maslinovog ulja.

Njihova količina i sastav različito su zastupljeni u pojedinim tipovima maslinovog ulja (Škarica, i sur., 1996.). Ugljikovodici čine oko 60% neosapunjivog dijela maslinovog ulja (Škarica, i sur., 1996.), a u svrhu dokazivanja i autentičnosti maslinovog ulja imaju značajnu ulogu (Žanetić i Gugić, 2006.). U promjenjivim količinama neosapunjivi dio maslinova ulja sadrži i jedine spojeve topive u vodi, fenolne spojeve. Promjena njihove količine u ulju ovisi ponajprije o sorti masline, stupnju zrelosti ploda te načinu prerade i čuvanju samoga ulja. Fenoli su prirodni antioksidansi koji imaju utjecaj na organoleptička svojstva ulja. Po svojoj strukturi razlikuju se od onih koji se nalaze u plodu masline (Žanetić i Gugić, 2006.). Gorčina ploda i maslinovog ulja ovisi o prisutnosti fenolnih spojeva. Njihovom hidrolizom nastaju jednostavniji spojevi poput fenolne kiseline, koja se može pronaći u ulju i vegetabilnoj vodi. Fenolni spojevi pospješuju oksidaciju maslinovog ulja na svjetlosti (Škarica, i sur., 1996.).

2.6. Kakvoća maslinovog ulja

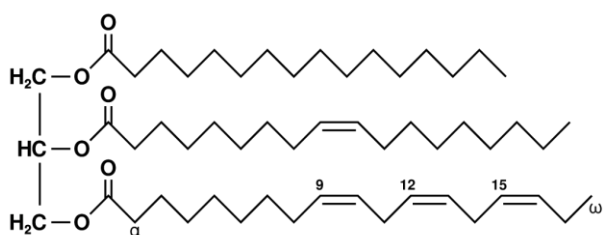
Za kakvoću djevičanskog maslinovog ulja prvenstveno su značajne promjene koje tijekom dozrijevanja, berbe i prerade plodova te čuvanja ulja nastaju na triacilglicerolima i nezasićenim masnim kiselinama te fenolnim i hlapljivim tvarima iz koje proizlaze poželjna ili nepoželjna mirisna i okusna svojstva (Koprivanjak, 2006.). Te promjene odnose se na hidrolitičke i oksidacijske promjene u ulju koje utječu i na senzorska svojstva dobivenog maslinovog ulja.

2.6.1. Hidroliza triacilglicerola

Trigliceridi ili triacilgliceridi su esteri masnih kiselina i trovalentnog alkohola – glicerola. Na slici 3. prikazana je kemijska formula triacilglicerida. Više od 98% djevičanskog maslinovog ulja čine upravo triacilgliceroli. Triacilgliceroli ploda masline nalaze se unutar vakuola koje su obavijene membranama koje ih štite od djelovanja staničnih enzima. Svako razaranje stanične strukture koje može biti uzrokovano udarcem, prezrelošću, nagnječenjem ploda i slično, dovodi enzime u izravan kontakt s triacilglicerolima. Prirodno prisutni enzimi u plodu masline prilikom miješanja razgrađuju stanične stijenke i ovojnice vakuola te time

pridonose lakšem oslobađanju ulja i drugih tvari koje se nalaze u stanici, na staničnim stijenkama ili unutar vakuola.

Enzimi lipaze prilikom procesa miješanja cijepaju estersku vezu između glicerola i masnih kiselina u molekuli triacilglicerida pri čemu masne kiseline postaju slobodne (Koprivnjak, 2006.). Maseni udio slobodnih masnih kiselina u ulju standardni je tržišni indikator hidrolitičke razgradnje. Ukoliko je oštećenje ploda bilo veće te ako je duži vremenski period protekao od oštećenja ploda do ekstrakcije ulja, vrijednost slobodnih masnih kiselina biti će veća. Slobodne masne kiseline nemaju ni okus ni miris te nisu štetne za zdravlje ljudi, ali njihov povišeni udio u ulju je ipak nepoželjan iz razloga jer potiče prelazak iona metala s metalnih strojeva u ulje (Koprivanjak, 2006.). Djevičanskim maslinovim uljima koja se stavljaju na tržište, maksimalna dozvoljena vrijednost slobodnih masnih kiselina je 2%, dok se ulja sa većim vrijednostima ne smatraju se pogodnim za uporabu te ih je nužno rafinirati (Koprivnjak, 2006.)



Slika 3. Kemijska formula triacilglicerida

2.6.2. Oksidacijsko kvarenje

Oksidacijsko kvarenje ulja započinje već prilikom mljevenja ili nekog drugog uzroka oštećenja stanične strukture ploda. Intenzitet ovog kvarenja je zanemariv u odnosu na promjene koje nastaju neodgovarajućim čuvanjem ulja, to jest, izloženosti kisiku iz zraka, svjetlosti, toplini i tvarima s prooksidacijskim djelovanjem. Oksidacija ulja odvija se na nezasićenim masnim kiselinama pa su u djevičanskim maslinovim uljima glavi supstrati jednostruko nezasićena oleinska kiselina te dvostruko nezasićena linolna kiselina, dok trostruko nezasićene linolenske kiseline ima manje od 1% (Koprivnjak, 2006.). Autooksidacija i fotooksidacija su reakcije kojima oksidacijsko kvarenje započinje. Autooksidacija predstavlja se pod utjecajem energije topline, energije vidljivog ili ultraljubičastog zračenja ili uz katalitičko djelovanje iona

metala prilikom čega na metalnim skupinama dolazi do homolitičkog cijepanja. Homolitičko cijepanje je izdvajanje vodika i nastanak alkil radikala masnih kiselina (Koprivnjak, 2006.).

Fotooksidacija je početna faza oksidacijskog kvarenja. Kod fotooksidacije započinje pobuđivanje molekula kisika to jest, prelaskom jednog njegovog elektrona u viši energetske nivo. Ovakav prelazak je moguć u prisutnosti tvari koje imaju sposobnost apsorpcije i prenošenja energije svjetlosti na druge tvari kao što je naprimjer klorofil. Zato je od velike važnosti zaštititi ulje od svjetlosti, a osobito maslinovo ulje koje je intenzivno zelene boje (Koprivnjak, 2006.).

2.6.3. Senzorska svojstva djevičanskih maslinovih ulja

Senzorska analiza definira se kao postupak u kojem se kao detektori koriste ljudska osjetila, a analitički instrument čini panel. Panel je posebno odabrana grupa ljudi (Koprivnjak, 2006.). Provjeru senzorskih svojstava ulja provodi nadležno tijelo za provođenje službene kontrole, ocjenjivača koji su ovlašteni od strane ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.). Maslinovo ulje prvi je poljoprivredno-prehrambeni proizvod za koji senzorna analiza predstavlja parametar za tržišnu kategorizaciju proizvoda (Strikić, i sur., 2007.). Maslinova ulja degustiraju se u posebno dizajniranim plavim čašama čiji oblik i karakteristike propisuje regulativa međunarodnog savjeta za masline.

Osnovna poželjna svojstva maslinovog ulja su (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.):

- Voćno
- Gorko
- Pikantno

Nepoželjna svojstva su (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.):

- Pljesnivo/vlažno
- Vinski-octikavo/kiselost
- Užeglo
- Metalno

- Mazivo
- Sijeno/drvo
- Biljna voda
- Teško/grubo
- Slojnice
- Salamura
- Zemlja
- Upaljne plod/uljni talog
- Kuhano ili prekuhano
- Tijestasto
- Crvljivo
- Krastavac

Ekstra djevičansko maslinovo ulje isključivo se dobije od zdravih maslina ubranih sa stabla. Vrijeme koje protekne od berbe do prerade ne smije biti duže od 24 sata. Klasificiranje uzoraka ulja provodi se komparacijom vrijednosti medijana negativnih svojstava i medijana voćnog mirisa (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.). Rasponi vrijednosti prikazani su u tablici 5.

Tablica 5. Rasponi negativnih svojstava i medijana voćnog mirisa (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina, NN 7/2009.)

	Medijan negativnih svojstava	Medijan voćnog mirisa
Ekstra djevičansko maslinovo ulje	= 0	> 0
Djevičansko maslinovo ulje	> 0 i < 0 ili = 3,5	> 0
Maslinovo ulje lampante	> 3,5, ≤3,5	= 0

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za potrebe fizikalno-kemijske analize i određivanje kakvoće, prikupljeni su uzorci maslinovog ulja od privatnih osoba. Prikupljena su četiri uzorka označeni slovima A, B, C i D. Sorte maslina, a tako ni postupak njihove obrade pri dobivanju maslinovog ulja, nisu poznate. Stoga, svrha ovoga istraživanja je kategorizacija maslinovih ulja koja su prikupljena.

Kemikalije:

- (1) Otopina kalij hidroksida (0,1 mol/L): za pripravu 0,1 M otopine odvaži se 2,81 g kalij hidroksida i otopi u 500 mL etanola. Nakon pripreme otopine i pretakanja u bocu od tamnog stakla, otopina treba odstajati prije upotrebe, a u konačnici mora biti bezbojna ili blijedo žućkasta.
- (2) Otopina fenolftaleina: otopina se pripremi otapanjem 50 mg fenolftaleina u 5 mL etanola.
- (3) Smjesa dietiletera i etanola (1:1, V/V): otopina se priprema miješanjem jednakih volumena otapala, 250 mL 95 % etanola i 250 mL dietil etera. Pripravljenu mješavinu je neposredno prije upotrebe potrebno neutralizirati sa otopinom kalij hidroksida uz dodatak 0,3 mL otopine fenolftaleina na 100 mL mješavine.
- (4) Kloroform
- (5) Ledena octena kiselina
- (6) Zasićena vodena otopina kalij jodida, svježe pripremljena i bez prisutnog joda i jodata
- (7) Otopina natrij tiosulfata koncentracije 0,002 mol/L
- (8) Otopina škroba koncentracije 10 g/L; za pripremu otopine odvaži se 2g škroba i promiješa sa malo destilirane vode. Zatim se smjesi doda još 200 mL kipuće vode i 250 mg salicilne kiseline (kao konzervans) te se otopina prokuha. Ohlađena otopina postojana tijekom 2-3 tjedna, a potrebno ju je čuvati u hladnjaku.
- (9) Otopina kalijeva hidroksida (0,5 mol L⁻¹): za pripravu 0,5 M otopine odvaži se 30 g kalij hidroksida i otopi u 10 mL vode, nakon čega se otopina razrijedi sa 95%-

tnim etanolom do volumena od 500 mL. Nakon pripreme otopina treba odstajati 24 sata, nakon čega se dekantira i filtrira u tamnu bocu.

- (10) Otopina klorovodične kiseline ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$): otpipetira se 21,14 mL 36,5% klorovodične kiseline u odmjernu tikvicu od 500 mL te se nadopuni destiliranom vodom do oznake.
- (11) Otopina natrijevog tiosulfata koncentracije $0,1 \text{ mol/L}$
- (12) Otopina joda
- (13) Otopina kalijevog jodida 10%
- (14) Otopina škroba 1%
- (15) Izooktan (2,2,4 – trimetilpentan), spektrofotometrijske čistoće, koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 60% pri 220 nm te najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na vodu.

Sve upotrijebljene kemikalije su p.a. čistoće ukoliko nije drugačije navedeno.

Oprema i pribor:

- Analitička vaga
- Erlenmayerova tikvica sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Bireta
- Vodena kupelj ili kuhalo sa azbestnom mrežicom
- Povratno hladilo
- Trbušaste pipete volumena 15, 30 i 100 mL
- Propipeta
- Spektrofotometar s mogućnošću mjerenja apsorbancije u području od 220 do 360 nm
- Kvarcne kivete s poklopcem i duljinom prolaza zrake 1 cm. Kivete napunjene vodom ili drugim prikladnim otapalom ne smiju dati razlike u ekstinkciji veće od 0,01 jedinice.
- Odmjerne tikvice od 25 mL

3.2. Metode analize maslinovog ulja

Ispitivanim uzorcima maslinovog ulja provedeni su osnovni parametri kakvoće. Pod tim se podrazumijevaju sljedeće analize:

- Određivanje slobodnih masnih kiselina u maslinovom ulju
- Određivanje perkosidnog broja
- Određivanje saponifikacijskog broja
- Određivanje jodnog broja
- Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području (K-brojevi)

Senzorsku analizu maslinovog ulja nije bilo moguće provesti jer ona uključuje stručne ljude (kušače) koji ju provode i čija ocjena predstavlja relevantnu ocjenu ulja.

3.2.1. Određivanje slobodnih masnih kiselina u uzorcima maslinovog ulja

Princip određivanja:

Slobodne masne kiseline u maslinovom ulju određuju se titracijom sa otopinom kalij hidroksida.

Postupak:

Količina uzorka potrebna za analizu ovisi o pretpostavljenom udjelu slobodnih masnih kiselina u istom. Odabrana količina uzorka se odvažuje u tikvicu volumena 250 mL te se istoj doda 50 mL prethodno neutralizirane smjese dietiletera (3) i etanola (3) te otopina fenolftaleina (2). Pripravljena smjesa se titrira 0,1 M otopinom kalij hidroksida (1) uz miješanje. Titracija se smatra završenom kada dođe do promjene boje indikatora odnosno pojave blijedo-ružičastog obojenja koje treba biti postojano nekoliko sekunda. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost.

Izražavanje rezultata:

Udio slobodnih masnih kiselina (SMK) u maslinovom ulju izračunava se kao postotak oleinske kiseline prema izrazu:

$$\text{Slobodne masne kiseline (SMK) (\%)} = (V \times C \times M) / (10 \times m)$$

Gdje je:

V – utrošak otopine kalij hidroksida za titraciju (mL)

C – koncentracija otopine kalij hidroksida (mol L^{-1})

M – molekulska masa oleinske kiseline (282 g mol^{-1})

m – masa analiziranog ulja (g)

3.2.2. Određivanje peroksidnog broja u uzorcima maslinovog ulja

Princip određivanja:

Uzorak ulja se otapa u mješavini 60 mL octene kiseline i 40 mL kloroforma/izooktana uz dodatak 0,5 mL otopine kalij jodida. Oslobođeni jod se titrira standardiziranom otopinom natrij tiosulfata koncentracije 0,002 mol/L uz škrob kao indikator.

Postupak:

U tikvicu se odvažuje količina uzorka prema pretpostavljenom peroksidnom broju sa točnošću od 0,001 g. Uzorku se dodaje 40 mL kloroforma (4), 60 mL octene kiseline (5) te 0,5 mL otopine kalij jodida (6). Tikvica se potom začepi, dobro protrese i ostavi točno 5 minuta u tami, nakon čega se dodaje 75 mL destilirane vode. Oslobođeni jod se uz miješanje titrira otopinom natrij tiosulfata (7), uz škrob (8) kao indikator, sve do nestanka plave boje.

Uz analizu uzorka potrebno je provesti i slijepu probu. Ukoliko utrošak otopine natrij tiosulfata (7) premaši 0,05 mL potrebno je zamijeniti onečišćena otapala. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost. U tablici 6. prikazano je koliko treba odvagati uzorka s obzirom na očekivani peroksidni broj.

Tablica 6. Količine ulja za analizu ovisno o očekivanom peroksidnom broju (P) (Generalić Mekinić i Grga, 2015.)

Očekivani peroksidni broj (mmol O ₂ /kg)	Količina uzorka (g)
0-6	5,0-2,0
6-10	2,0-1,2
10-15	1,2-0,8
15-25	0,8-0,5
25-45	0,5-0,3

Izražavanje rezultata:

Peroksidni broj (P) se može izraziti u milimolima aktivnog kisika po kilogramu (1), ili u miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu (2), a izračuna se prema izrazima:

$$(1) \text{ Peroksidni broj (P) (mmol O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / 2m$$

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

Gdje je:

V – utrošak otopine natrij tiosulfata za titraciju (mL) korigiran s obzirom na slijepu probu

T – normalitet otopine natrij tiosulfata 0,002

m – masa analiziranog ulja (g)

3.2.3. Određivanje saponifikacijskog broja u uzorcima maslinovog ulja

Princip određivanja:

Saponifikacijski broj je definiran kao količina kalijeveg hidroksida (u miligramima) potrebna da se neutraliziraju slobodne kiseline i saponificiraju esteri prisutni u 1 g uzorka maslinovog ulja.

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu odvažuje se oko 2 g maslinovog ulja te se uzorku doda 25 mL alkoholne otopine kalijeva hidroksida (9). Tikvica se postavi u vodenu kupelj te se na nju postavi povratno hladilo. Postupak saponifikacije se odvija uz lagano ključanje reakcijske smjese tijekom 30 minuta uz povremeno protresanje. Po završetku saponifikacije smjesa je u potpunosti bistra. Pripremljenoj smjesi doda se par kapi fenolftaleina (2) i dok je još vruća se titrira sa otopinom klorovodične kiseline (10). Isti postupak se radi i za slijepu probu (bez uzorka ulja) kako bi se odredila količina klorovodične kiseline (10) potrebna za neutralizaciju 25 mL alkoholne otopine lužine. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost.

Izražavanje rezultata:

Saponifikacijski broj (SB) se izračunava prema izrazu:

$$\text{Saponifikacijski broj (SB) (mg KOH/1g)} = (a-b) \times f \times 28,052 / m$$

Gdje je:

a – utrošak otopine klorovodične kiseline za titraciju slijepa probe (mL)

b – utrošak otopine klorovodične kiseline za titraciju uzorka (mL)

f – faktor klorovodične kiseline

m – odvaga ulja (g)

28,052 – mg KOH koje sadrži 1 mL otopine lužine, $c(\text{KOH})=0,5 \text{ mol L}^{-1}$

3.2.4. Određivanje jodnog broja u uzorcima maslinovog ulja

Princip određivanja:

Metoda za određivanje jodnog broja maslinovog ulja temelji se na tretiranju uzorka ulja otopinom halogena u suvišku, pri čemu se u konačnici neadirana količina halogena odredi titracijom s otopinom natrijeva tiosulfata uz škrob kao indikator.

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu se odvaže 0,20-0,30 grama maslinovog ulja pri čemu se odvagana masa uzorka zabilježi. Uzorku se doda 15 mL kloroforma (4) te 30 mL otopine joda (12). Ukoliko se otopina nakon miješanja obezboji, potrebno je dodati još otopine joda (12). Količina dodanog joda mora biti tolika da je i nakon 2 sata uzorak intenzivno smeđe obojen. Pripravljena smjesa se ostavi 2 sata pri sobnoj temperaturi u tami da odstoji, što se smatra dovoljnim periodom da se reakcija adicije završi. Uzorku se potom doda 15 mL kalijevog jodida (13) i 100 mL destilirane vode, nakon čega se izlučeni jod titrira otopinom natrijevog tiosulfata (11) uz škrob (14) kao indikator. Paralelno s analizom uzorka radi se i slijepa proba (ponovljeni postupak bez uzorka ulja). Iz razlike utroška otopine natrijevog tiosulfata (11) za slijepu probu i utroška za uzorak izračuna se količina adiranog joda na odvaganoj količini ulja.

Izražavanje rezultata:

Jodni broj maslinovog ulja računa se preko izraza:

$$\text{Jodni broj (g I}_2\text{/100 g ulja)} = [(a - b) / m] \times 1,269$$

Gdje je:

a – utrošak otopine natrijevog tiosulfata za titraciju slijepa probe (mL)

b - utrošak otopine natrijevog tiosulfata za titraciju uzorka (mL)

m – odvaga ulja (g)

3.2.5. Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području (K-brojevi)

Postupak:

Uzorak treba biti u potpunosti homogen i bez nečistoća u suspenziji. U slučaju potrebe, ulja treba rafinirati preko filter papira pri temperaturi od oko 30°C. Od pripremljenog uzorka točno se odvaže oko 0,25 g u odmjernu tikvicu od 25 mL te se nadopuni do oznake sa otapalom (izooktan ili cikloheksan) (15) i dobro promućka. Dobivena otopina treba biti savršeno bistra.

Kvarcna kiveta napuni se sa pripremljenom otopinom te se mjere apsorbancije pri određenim valnim duljinama od 232 i 270 nm. Očitane vrijednosti apsorbancija trebaju se nalaziti unutar intervala od 0,1 do 0,8. U suprotnom treba ponoviti mjerenja radeći prema potrebi sa koncentriranijim ili razrijeđenijim otopinama.

Izražavanje rezultata:

Koeficijenti ekstinkcije pri raznim valnim duljinama računaju se prema slijedećem izrazu:

$$K\lambda = E\lambda / (c \times s)$$

Gdje je:

$K\lambda$ – specifična apsorbancija pri valnoj duljini λ

$E\lambda$ – izmjerena apsorbancija pri valnoj duljini λ

c – koncentracija otopine u g/100 ml

s – duljina puta zrake u cm

Spektrofotometrijsko ispitivanje maslinova ulja prema službenoj metodi EEC propisuje određivanje ekstinkcije otopine ulja u izooktanu pri 232 i 270 nm. Izračunavanje vrijednosti ΔK provodi se prema slijedećem izrazu:

$$\Delta K = K_m - [(K_{m-4} + K_{m+4}) / 2]$$

K_m – specifična apsorbancija maksimuma pri valnoj duljini od oko 270 nm (najčešće se uzima raspon od +/- 2 nm).

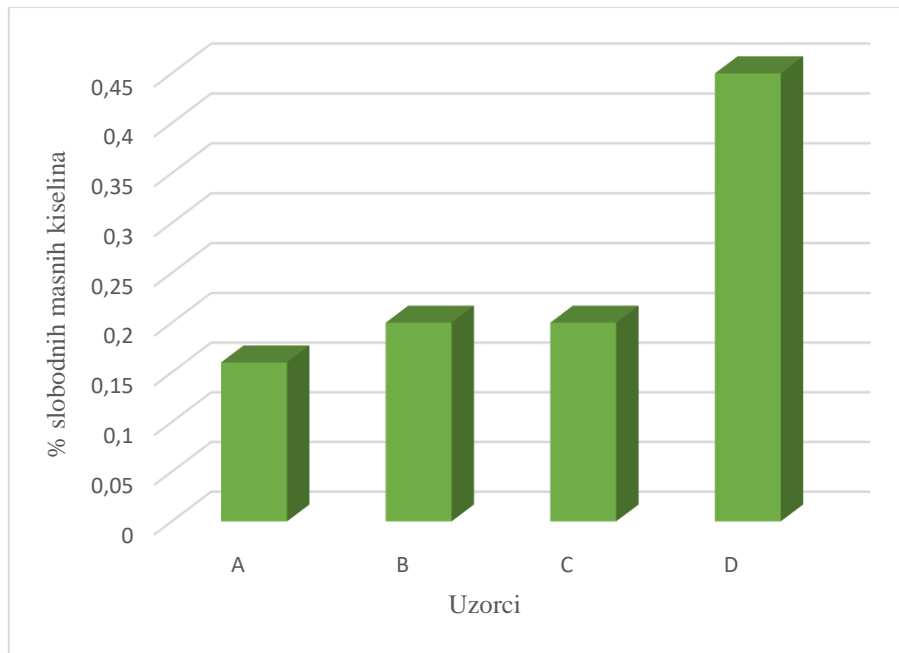
4. REZULTATI I RASPRAVA

Za potrebe ovoga rada prikupljena su četiri uzorka maslinovog ulja koji su na tržište stavljeni pod kategorizacijom ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Prikupljeni uzorci označeni su slovima A, B, C i D te su im određivani temeljni parametri kakvoće radi utvrđivanja ispravnosti njihove kategorije.

U tablici 7. su prikazani rezultati koji predstavljaju prosječnu vrijednosti, to jest, aritmetičku sredinu prilikom određivanja parametara kakvoće maslinovog ulja kod dva uzorka. Određivao se postotak slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, saponifikacijski broj, jodni broj te specifični koeficijenti apsorbancije K_{232} , K_{270} i ΔK .

Tablica 7. Prosječne vrijednosti parametara analiziranih uzoraka maslinovog ulja

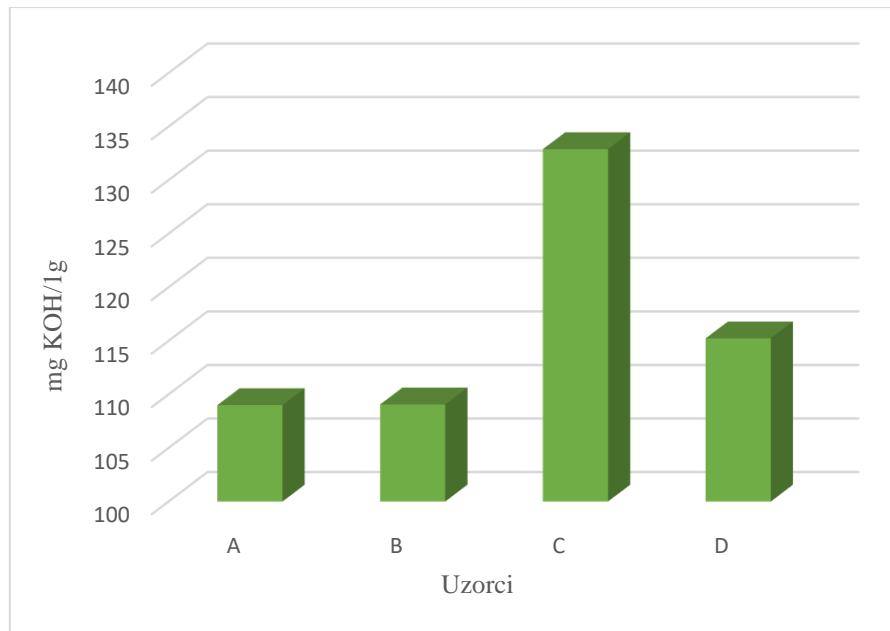
Uzorak	SMK %	P mmol O₂/kg	P mekv O₂/kg	SB mg KOH/1g	JB g I₂/100 g	K₂₃₂	K₂₇₀	ΔK
A	0,16	5,46	10,94	109	86,17	1,6535	0,1099	0,0029
B	0,20	12,08	24,17	109,06	81,26	2,0931	0,2690	0,0016
C	0,20	6,76	13,53	132,89	84,42	1,6872	0,0947	0,002
D	0,45	14,02	27,88	115,23	83,2	2,0650	0,2254	0,005



Slika 4. Grafički prikaz % slobodnih masnih kiselina na odabranim uzorcima

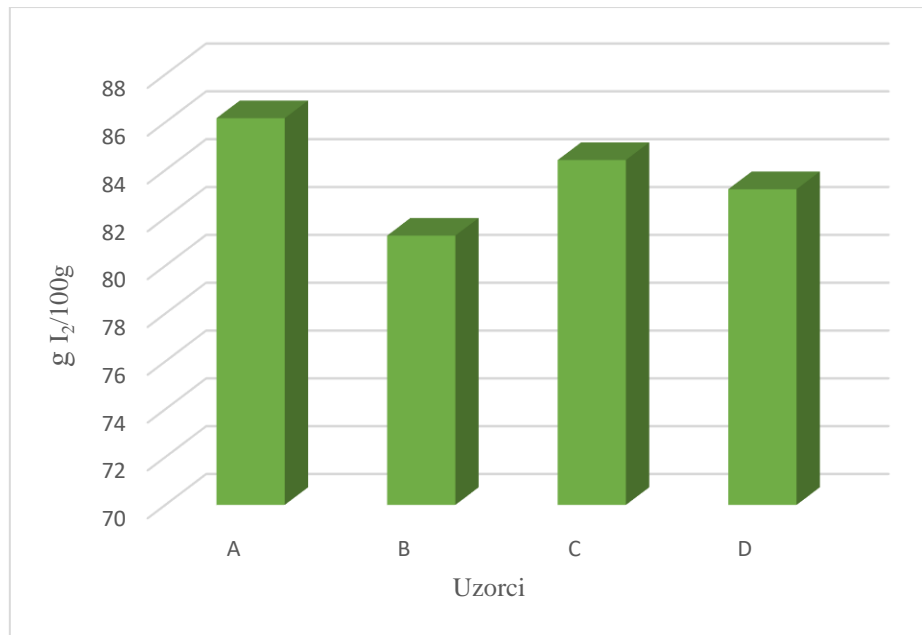
Na slici 4. su prikazani dobiveni rezultati pri određivanju slobodnih masnih kiselina. Dobiveni rezultati svih uzoraka kreću se od 0,16% do 0,20% što ukazuje na dobru kvalitetu maslinovog ulja s obzirom da su dobiveni rezultati u skladu sa Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) te odgovaraju dozvoljenim vrijednostima za kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja kojemu je dozvoljeno sadržavati najviše 0,8 grama slobodnih masnih kiselina iskazanih kao oleinska kiselina na 100 grama ulja ($SMK \leq 0,8\%$).

Slobodne masne kiseline iskazuju se u obliku postotka oleinske kiseline, a upućuju na stupanj hidrolitičkog kvarenja (Klepo, i sur. 2014.). Ako su vrijednosti slobodnih masnih kiselina povećane dolazi do smanjenja kvalitete ulja, kao i njegova roka trajanja (Dobra, 2017.). Prilikom djelovanja enzima lipaza koji su prirodno prisutni u plodovima maslina, nastaju slobodne masne kiseline tako što dolazi do razgradnje ulja te se time povećava kiselinski broj i diacilglicerol (Silva, i sur., 2020.).



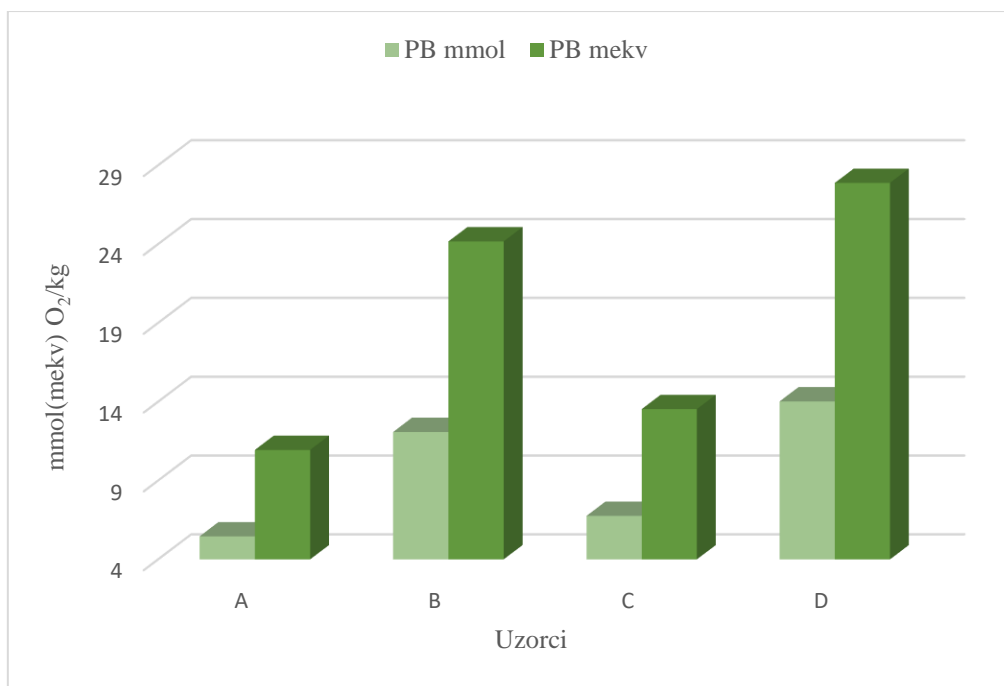
Slika 5. Grafički prikaz određivanja saponifikacijskog broja

Na slici 5. su prikazani rezultati dobiveni prilikom određivanja saponifikacijskog broja. Dobiveni rezultati uzoraka kreću se od 109 do 132,89 mg KOH/1g što ukazuje na dobru kvalitetu maslinovog ulja s obzirom na dobivene rezultate koji su u skladu sa Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) te odgovaraju dozvoljenim vrijednostima za kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja kojima vrijednost mora biti ≤ 250 mg KOH/1g ulja. Vrijednost saponifikacijskog broja povezana je sa prosječnom molekulskom težinom triacilglicerola u uzorku. Ako je prosječna molekulska težina triacilglicerola viša, znači da saponifikacijski broj ima nižu vrijednost (Generalić Mekinić i Grga, 2015.).



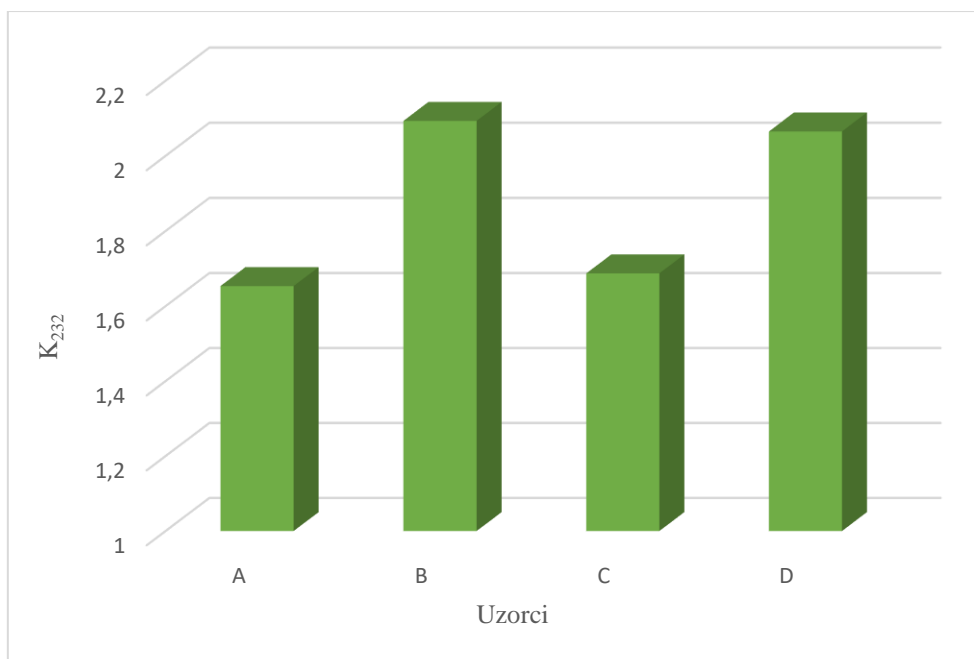
Slika 6. Grafički prikaz određivanja jodnog broja

Na slici 6. su prikazani rezultati dobiveni prilikom određivanja jodnog broja. Rezultati se kreću od rasponu od 81,26 do 86,17 g I₂/100g ulja, što ukazuje na dobru kvalitetu maslinovog ulja s obzirom da su dobiveni rezultati u skladu sa Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) te odgovaraju dozvoljenim vrijednostima za kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja. Jodni broj kod maslinovog ulja je pokazatelj koliku količinu joda ulje, odnosno masna kiselina može vezati adicijom. Jodni broj iskazuje se kao grami joda koje apsorbira 100 grama uzorka ulja. Povećane vrijednosti jodnog broja u maslinovom ulju, upućuju na njegovu osjetljivost prema oksidativnom kvarenju uslijed većeg stupnja nezasićenosti (iznad 75-95) (Generalić Mekinić i Grga, 2015.).



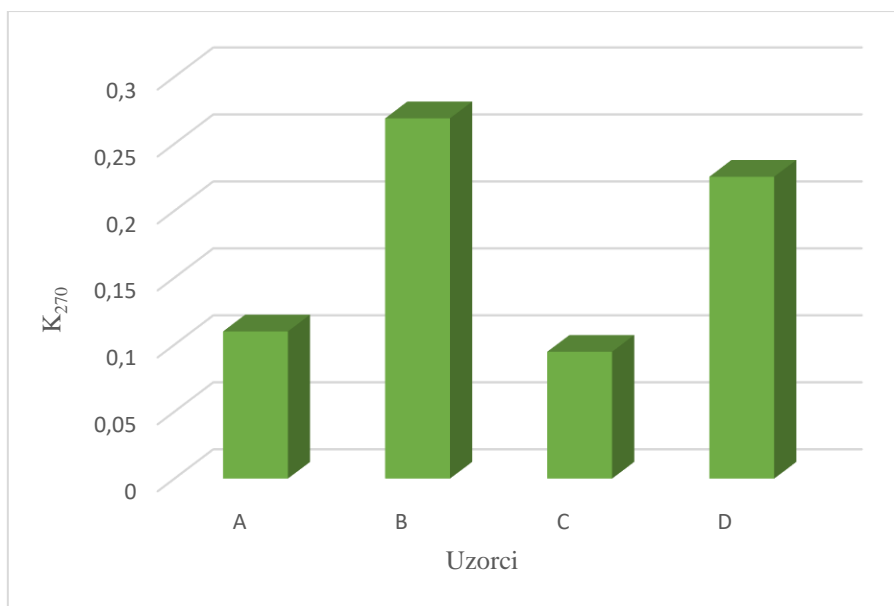
Slika 7. Grafički prikaz određivanja peroksidnog broja

Na slici 7. su prikazani rezultati analiziranih uzoraka maslinovog ulja u svrhu određivanja peroksidnog broja. Dobiveni rezultati kreću se u rasponu od 5,46 do 14,02 mmol O₂/kg što ne odgovara kategoriji propisanoj za ekstra djevičanska maslinova ulja propisanoj Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009). Uzorak maslinova ulja označen slovom A, čija vrijednost iznosi 5,46 mmol O₂/kg i uzorak označen slovom C, čija vrijednost iznosi 6,76 mmol O₂/kg, pripadaju skupini ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Prema Pravilniku maksimalna dozvoljena vrijednost peroksidnog broja iznosi ≤10 mmol O₂/kg. Uzorak označen slovom B vrijednosti 12,08 mmol O₂/kg i uzorak označen slovom D čija vrijednost iznosi 14,02 mmol O₂/kg ne pripadaju kategoriji za ekstra djevičanska maslinova ulja. Dokle god ima raspoloživog kisika u ulju i/ili njegovom natprostoru, nastajati će hidroperoksid čija se koncentracija iskazuje peroksidnim brojem. Nastali hidroperoksidi nestabilne su molekule koje se relativno brzo razgrađuju u tvari koje su manje molekulske mase, odnosno u sekundarne produkte oksidacije. Sekundarni produkti oksidacije su nezasićeni alkoholi, ketoni, aldehidi, kiseline i drugo. Iako je peroksidni broj standardni pokazatelj kvalitete, a s obzirom na nestabilnost nastalih hidroperoksida, može se smatrati vjerodostojnim indikatorom samo početne faze oksidacijskog kvarenja. Ulja kojima se vrijednosti peroksidnog broja kreću u rasponu od 1 do 3 mmol O₂/kg smatraju se svježim i kvalitetnim uljima, dok ulja kojima je vrijednost peroksidnog broja ≤10 mmol O₂/kg smatraju se prikladnim za ljudsku konzumaciju (Koprivnjak, 2006.).



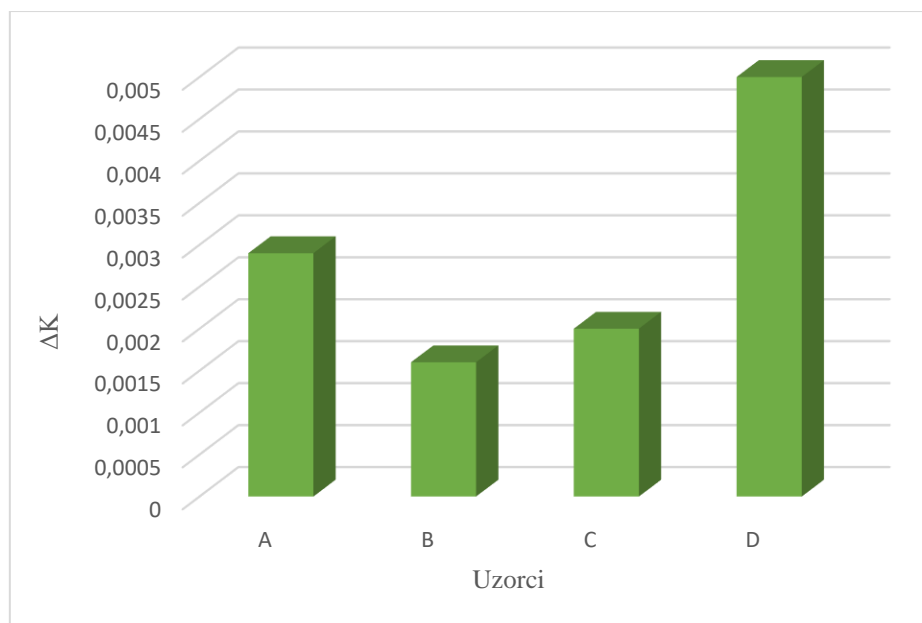
Slika 8. Grafički prikaz spektrofotometrijske analize maslinovog ulja

Na slici 8. su prikazani rezultati dobiveni spektrofotometrijskom analizom maslinovog ulja. Dobiveni rezultati koeficijenta ekstinkcije pri valnoj duljini od 232 nm, kreću se u rasponu od 1,6535 do 2,0931 nm te odgovaraju vrijednostima koje su propisane Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009). Sukladno Pravilniku koji propisuje maksimalnu dozvoljenu vrijednost parametra $K_{232} \leq 2,50$, analizirani uzorci pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Provođenjem spektrofotometrijske analize u uzorcima maslinovog ulja dobivamo podatke o kakvoći ulja s obzirom na moguće oksidacijske promjene, koje mogu biti enzimatske ili kemijske te o promjenama prilikom tehnološkog procesa. Spektrofotometrijskom analizom određuje se zastupljenost konjugiranih diena i triena, kao specifične apsorbancije 1%-tne otopine ulja u izooktanu koja se označava s koeficijentom apsorbancije K. Specifične apsorbancije određuju se u 1 %-tnim otopinama ulja u izooktanu pri valnim duljinama od 232 do oko 270 nm (Žanetić i Gugić, 2005.).



Slika 9. Grafički prikaz spektrofotometrijske analize maslinovog ulja

Na slici 9. su prikazani rezultati dobiveni spektrofotometrijskom analizom uzoraka maslinovog ulja. Dobiveni rezultati koeficijenta ekstinkcije pri valnoj duljini od 270 nm, kreću se u rasponu od 0,0947 do 0,2690 nm. Uzorak maslinovog ulja označen slovom A, vrijednosti 0,1099 nm i uzorak označen slovom C, vrijednosti 0,0947 nm, zadovoljavaju maksimalne vrijednosti parametra $K_{270} \leq 0,22$ nm propisane Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) te pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Uzorak označen slovom B vrijednosti od 0,2690 nm i uzorak označen slovom D vrijednosti 0,2254 nm, s obzirom na dobivene rezultate, ne odgovaraju Pravilniku za koje vrijedi $K_{270} \leq 0,22$ nm te zbog toga ne pripadaju u kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja. Uzorak B pripada kategoriji za maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranog maslinovog ulja i djevičanskih maslinovih ulja, dok uzorak D pripada kategoriji djevičanskih maslinovih ulja propisanih Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009).



Slika 10. Grafički prikaz određivanja vrijednosti ΔK

Na slici 10. su prikazane izračunate vrijednosti ΔK . Prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) propisana je maksimalna vrijednost ΔK koja iznosi $\leq 0,01$. Na temelju dobivenih rezultata, koji se kreću u rasponu od 0,0016 do 0,005, svi uzorci pripadaju kategoriji ekstra djevičanskih maslinovih ulja.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedene analize na uzorcima maslinovih ulja može se zaključiti sljedeće:

- Dobiveni rezultati svih parametara kod analiziranog uzorka označenog slovom A upućuju na vrhunsku kvalitetu ulju, drugim riječima, analizirani uzorak odgovara Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) za kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja. S obzirom na takve dobivene rezultate može se zaključiti kako je sam proces, počevši od branja maslina pa sve do proizvodnje i na kraju skladištenja ulja, bio zadovoljavajući.
- Analizirani uzorak označen slovom B prilikom određivanja slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, saponifikacijskog broja, jodnog broja, K_{232} te ΔK pripada kategoriji za ekstra djevičanska maslinova ulja, no međutim prilikom određivanja peroksidnog broja te K_{270} , dobiveni rezultati veći su od propisanih za kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja koju propisuje Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009). Razlog takvom povećanju vrijednosti za oba parametra je izlaganje ulja višim temperaturama. S obzirom na takve dobivene rezultate, prema Pravilniku, ulja kojima najmanje jedno od parametara ne zadovoljava graničnu vrijednost, svrstava se u drugu kategoriju ili u kategoriju smanjene kakvoće. Prema tome, uzorak ulja pripada kategoriji za maslinovo ulje lampante.
- Dobiveni rezultati svih parametara kod analiziranog uzorka označenog slovom C ukazuju na vrhunsku kvalitetu ulju, to jest, analizirani uzorak odgovara Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009) za kategoriju ekstra djevičanskih maslinovih ulja. S obzirom na takve dobivene rezultate može se zaključiti kako je sam proces, počevši od branja maslina pa sve do proizvodnje i na kraju skladištenja ulja, bio zadovoljavajući.

- Analizirani uzorak označen slovom D prilikom određivanja slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina, saponifikacijskog broja, jodnog broja, K_{232} te ΔK pripada kategoriji za ekstra djevičanska maslinova ulja, no određivanjem peroksidnog broja te K_{270} , dobiveni rezultati veći su, odnosno, nisu bili u granicama za kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja koju propisuje Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/2009). Takvi rezultati za oba parametra upućuju na to kako je ulje bilo izloženo višim temperaturama. S obzirom na takve dobivene rezultate, prema Pravilniku, ulja kojima najmanje jedno od parametara ne zadovoljava graničnu vrijednost, kategorizira se ili u drugu kategoriju ili u kategoriju smanjene kakvoće. Sukladno tome, uzorak ulja pripada kategoriji za djevičansko maslinovo ulje.

6. LITERATURA

1. Bićak, L., Car, M., Kotlar, A., Šimunović, V. (2008.): Tehnološke smjernice za integriranu proizvodnju maslina, Hrvatski zavod za poljoprivrednu službu, Zagreb, 9-13 <https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/2019/01/TehnoskeSmjerniceIntegriranaMaslina.pdf> (15.05.2023.)
2. Dobra, M. (2017.): Laboratorijska analiza maslinovog ulja, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split https://www.bib.irb.hr/896344/download/896344.M_Dobra_diplomski_rad.pdf (14.05.2023.)
3. Dragun, D. (2011.): Mjerila kvalitete i oznaka maslinovog ulja, Agroklub <https://www.agroklub.com/vocarstvo/mjerila-kvalitete-i-oznake-maslinova-ulja/4361/> (15.05.2023.)
4. Generalić Mekić, I., Grga, M. (2015.): Prerada maslina, Zavod za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Sveučilište u Splitu, Split, 3-35, <https://www.ktf.unist.hr/index.php/nastavni-materijali-zptbt/nastavni-materijali/category/136-procesi-u-prehrambenoj-industriji?download=3633:prerada-maslina-skripta-za-studente> (17.05.2023.)
5. Klepo, T., Benčić, Đ. (2014.): Utjecaj genotipa na kemijski sastav maslinovog ulja, Glasnik zaštite bilja, No. 58, 44-51 <https://hrcak.srce.hr/file/239732> (22.05.2023)
6. Koprivnjak, O. (2006.): Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, MIH d.o.o., Poreč, 14-92
7. Koprivnjak, O., Červar, A. (2010.): Proizvodne karakteristike maslinarsko-uljarske djelatnosti, Agronomski glasnik, Vol. 72, No. 2-3, 137
8. Medved, I. (2021.): Sorte maslina, Agroportal <https://www.agroportal.hr/maslinarstvo/1924> (04.07.2023.)
9. Narodne novine (2009.): Pravilnik o uljima od ploda i komine masline, Zagreb: Narodne novine d.d., 46/07, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_01_7_173.html (15.05.2023.)
10. Petrić, M. (2021.): Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

<https://repozitorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf%3A3921/datastream/PDF/view>
(10.10.2023.)

11. Silva, P., Mandić, M., Krković, J., Raljević, J., Pierbon, A. (2020.): Istraživanje utjecaja temperature na promjenu kvalitete maslinovog ulja, J. appl. health sci., Vol. 6, No. 2, 249-25 <https://hrcak.srce.hr/file/355413> (22.05.2023.)
12. Škarica, A., Žužić, I., Bonifačić, M. (1996): Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, Tipograf d.d., Rijeka, 19-33
13. Wikipedia: Trigliceridi
https://hr.wikipedia.org/wiki/Trigliceridi#/media/Datoteka:Fat_triglyceride_shorthand_formula.PNG (04.07.2023.)
14. Žanetić M., Gugić M., (2006): Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja, Pomologia Croatica, Vol 12 (2): 159-173 <https://hrcak.srce.hr/file/7374> (17.05.2023.)
15. Žanetić, K. (2021.): Utjecaj endogenih enzima ploda na kemijski sastav djevičanskog maslinovog ulja, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb <https://zir.nsk.hr/islandora/object/pbf:4002/datastream/PDF/view> (05.07.2023.)
16. Severec, M. (2021.): Fizikalne i kemijske metode u praćenju oksidacije maslinovog ulja, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb <https://repozitorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:4048/datastream/PDF/view>
(10.10.2023.)