

Utjecaj lipoksigenaze na senzorsku kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja

Orašćanin, Adna

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:492658>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Adna Oraščanin

7538/PT

**UTJECAJ LIPOKSIGENAZE NA SENZORSKU KVALITETU
DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom "Utjecaj inovativnih tehnologija na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost djevčanskih maslinovih ulja iz hrvatskih autohtonih sorti maslina" (IP-2020-02-7553)

Mentor: Doc. dr. sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za Prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj lipoksigenaze na senzorsku kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja

Adna Oraščanin, 0058212626

Sažetak: Djevičansko maslinovo ulje ima iznimnu nutritivnu vrijednost i specifična senzorska svojstva. Neki od spojeva koji na to utječu su fenoli i hlapljive tvari. Nastajanje hlapljivih tvari posljedica je djelovanja endogenih enzima ploda masline na koje utječu vanjski čimbenici (poput temperature, klime, sorte, skladištenja, prerade). Ovaj pregledni rad opisuje endogene enzime ploda masline, prvenstveno lipoksigenazu, utjecaj raznih faktora na njihovu aktivnost te na sastav hlapljivih komponenti u ulju, čija količina i sastav izravno utječu na senzorska svojstva ulja. Najveći utjecaj na aktivnost lipoksigenaze ima sorta masline. Najaktivnija je u fazi intenzivnog tamnjenja ploda, a uvjeti skladištenja ploda nakon berbe također značajno utječu na taj enzim. Prilikom prerade potrebno je obratiti najveću pozornost na miješenje i njegove parametre, primjerice temperaturu. Pokazalo se da je za maksimalnu aktivnost lipoksigenaze najpogodnija temperatura miješenja u rasponu od 25 do 30°C.

Ključne riječi: djevičansko maslinovo ulje, enzimi ploda masline, hlapljive tvari, lipoksigenaza, senzorska svojstva

Rad sadrži: 22 stranice, 4 slike, 2 tablice, 34 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Doc. dr. sc. Klara Kraljić

Datum obrane: rujan, 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Effect of lipoxygenase on sensory quality of virgin olive oil

Adna Oraščanin, 0058212626

Abstract: Virgin olive oil has exceptional nutritional value and specific sensory properties. Some of the compounds that affect that are phenols and volatile compounds. Volatile substances are the result of the action of endogenous enzymes of the olive fruit which are influenced by external factors (such as temperature, climate, variety, storage, processing). This bachelor thesis describes the endogenous enzymes of the olive fruit, primarily lipoxygenase, the influence of various factors on their activity and on the composition of volatile components in the oil, *ie* on the sensory properties of the oil. The olive variety has the greatest influence on lipoxygenase activity. It is the most active in the phase of intensive tanning of the fruit and the storage conditions of the fruit after harvest also significantly affect this enzyme. During processing, it is necessary to pay the greatest attention to malaxation and its parameters, such as temperature. Malaxation temperatures in the range of 25 to 30 ° C have been shown to be the most suitable for maximum lipoxygenase activity.

Keywords: enzymes of olive fruit, lipoxygenase, virgin olive oil, volatile compounds, sensory properties

Thesis contains: 22 pages, 4 figures, 2 tables, 34 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Klara Kraljić, Assistant Professor

Defence date: September, 2021.

Sadržaj	
1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO	2
2.1 Plod masline	2
2.2 Proizvodnja maslinovog ulja	3
2.3 Djevičansko maslinovo ulje – sastav i specifičnosti	4
2.3.1 Masne kiseline	4
2.3.2 Fenoli.....	5
2.3.3 Hlapljive tvari.....	7
2.4. Enzimi masline	8
2.4.1 Lipoksigenaza (LOX) i LOX put.....	9
2.5. Utjecaji na aktivnost enzima i hlapljive komponente	12
2.5.1 Utjecaj sorte maslina.....	12
2.5.2 Utjecaj stupnja zrelosti ploda	13
2.5.3 Utjecaj uvjeta skladištenja.....	14
2.5.4 Utjecaj prerade	15
3. ZAKLJUČAK	18
4. LITERATURA	19

1. UVOD

Maslina je zimzelena biljka koja najbolje uspijeva u području mediteranske klime, a najveći uzgajivači masline su Španjolska i Italija, zemlje u kojima prevladava upravo ta klima. Masline se koriste za proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja, konzerviranje, pripremu tinktura ali i u proizvodnji raznih kozmetičkih proizvoda. Međutim, njezina najvažnija uloga je uloga uljarice. Prilikom proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja plod masline prvo se pere i čisti od raznih nečistoća, zatim se melje, a potom slijede miješenje, izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta te odvajanje ulja od biljne vode.

Brojne dobrobiti, kao i povoljan utjecaj djevičanskog maslinovog ulja na ljudsko zdravlje odavno su široko poznati, a djevičansko maslinovo ulje svoj specifičan okus i antioksidativna svojstva duguje hlapljivim sastojcima i fenolima. Stvaranje hlapljivih spojeva je, između ostalog, posljedica djelovanja nekih enzima. Među najpoznatijim enzimima masline je enzim lipoksigenaza i njezin put (eng. LOX pathway). Lipoksigenaza je membranski enzim koji se nalazi u plodu masline. Ona koristi linolnu i linolensku kiselinu kao supstrate za reakciju u kojoj nastaju hlapljive tvari poželjnih mirisnih svojstava, a koje daju djevičanskom maslinovom ulju senzorska svojstva.

Razni čimbenici imaju utjecaj na aktivnost enzima, a samim time i na sastav hlapljivih sastojaka ulja. Ovaj pregledni završni rad opisuje endogene enzime ploda masline, prvenstveno lipoksigenazu, utjecaj raznih faktora na njihovu aktivnost te na sastav hlapljivih komponenti u ulju, odnosno na senzorska svojstva ulja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Plod masline

Maslina (lat. *Olea europaea*) suptropska je zimzelena biljka iz porodice maslinovki (lat. *Oleaceae*). Ima nepravilno kvrgavo i razgranato stablo koje naraste u visinu od oko 10 m (slika 1). Plodovi se koriste za proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja te za jelo (najčešće kao stolne konzervirane masline). Budući da je maslina suptropska biljka, ne odgovaraju joj niske temperature, nego temperature između 15 i 20°C te općenito blaži klimatski uvjeti (bez jakog vjetra i prevelikog sušnog razdoblja) pa se stoga najviše uzgaja u zemljama oko Sredozemnog mora (Španjolska, Italija, Portugal). U Hrvatskoj se uzgaja na otocima i na uskom kopnenom dijelu duž cijele Jadranske obale. Cvatnja se odvija od svibnja do polovice lipnja. Plod masline namijenjen konzerviranju ili proizvodnji ulja bere se u jesen, ovisno o stupnju zrelosti. Zreo plod ovalnog je oblika i tamnoplave do crne boje, bogat uljem (15-30%) (Hrvatska enciklopedija, 2021).



Slika 1. *Olea europaea* (Anonymous 1, 2021.)

2.2 Proizvodnja maslinovog ulja

Maslina je druga najvažnija uljarica među uljaricama čiji plod raste na drvetu (ispred nje jedino je palma uljarica). Djevičansko maslinovo ulje ima iznimnu nutritivnu vrijednost, a njegovi povoljni učinci široko su poznati. Prilikom proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja plod masline prolazi kroz faze pranja i uklanjanja nečistoća, mljevenja, miješenja, izdvajanja ulja iz maslinovog tijesta te odvajanja ulja od biljne vode. Budući da je djevičansko maslinovo ulje nerafinirano i ne postoji mogućnost naknadnog uklanjanja kontaminanata, vrlo je važna faza pranja. Nečistoće se uklanjaju vodom i to tako da se plodovi moče, a potom ispiru mlazovima vode. Nadalje, kako bi se ulje moglo izdvojiti iz ploda, potrebno je narušiti staničnu strukturu stanica u kojima ono nalazi, a to se postiže mljevenjem. Cilj mljevenja je provesti ga tako da se iz pulpe oslobodi što više ulja, a da se ulje što manje rasprši u sitne kapljice kako ne bi došlo do pojave emulzije. Mljevenje se provodi na posebnim izvedbama mlinova, a danas se najčešće koriste metalni mlinovi.

Sljedeća faza proizvodnje je miješenje. To je zapravo proces u kojem se samljevena smjesa miješa kako bi se postiglo bolje odvajanje uljne od vodene faze. Miješenje se odvija u koritima od inoksa s metalnim mješačima i plaštem kroz koji struji voda, kako bi se regulirala temperatura tijesta o kojoj ovisi kvaliteta djevičanskog maslinovog ulja. Konačno, nakon miješenja slijedi izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta. To se može provoditi prešanjem (na hidrauličkim prešama otvorenog tipa), kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom i procjeđivanjem (rijetko se koristi). Princip dobivanja ulja prešanjem temelji se na Pascalovom zakonu (pomoću malih sila mogu se dobiti veliki pritisci) i ono se smatra tradicionalnim postupkom izdvajanja ulja. Separacija kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom iz tijesta masline temelji se na razlici u gustoći ulja, vegetabilne vode i komine. Postoje izvedbe u dvije i tri faze. Procjeđivanje se temelji na razlici u površinskoj napetosti i svojstvima adhezije ulja i vegetabilne vode (Škevin, 2016).

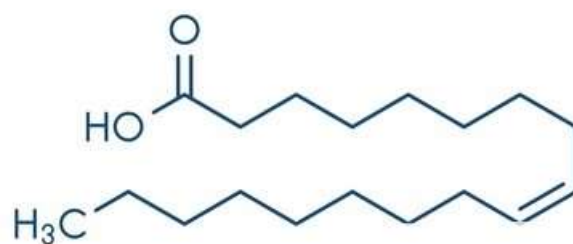
Nakon izdvajanja ulja slijedi njegovo bistrenje, pakiranje te distribucija.

2.3 Djevičansko maslinovo ulje – sastav i specifičnosti

Ulje se nalazi u pulpi masline, točnije nakupljeno je u vakuolama stanica pulpe u obliku uljnih mjehurića s membranama koje ih odvajaju od drugog tekućeg sadržaja citoplazme. U zreom plodu masline takve vakuole čine preko 80% stanica. Osim u pulpi, ulje se nalazi i u sjemenki masline i može ga sadržavati čak 35-40%, no s obzirom na relativno mali udio sjemenke u ukupnom plodu, to ulje predstavlja 5-7% od ukupne količine ulja dobivenog iz masline. Ulje u sjemenki većinom je citoplazmatsko, tj. raspršeno je u obliku manjih kapljica pa ga je stoga teže i izdvojiti (Koprivnjak, 2006). Djevičansko maslinovo ulje zadržava većinu komponenti prisutnih u maslinama, kao što su na primjer masne kiseline, polifenoli i fenoli, karotenoidi, klorofili, skvalen, terpeni te hlapljive tvari.

2.3.1 Masne kiseline

Od zasićenih masnih kiselina zastupljene su laurinska, miristinska, arahidonska, behenska, lignocerska te stearinska masna kiselina, dok su od nezasićenih zastupljene oleinska (najzastupljenija), palmitoleinska i gadoleinska masna kiselina. Među navedenim masnim kiselinama, oleinska ima najveći značaj jer ima veliku nutritivnu vrijednost i lako je probavljiva, a zbog njezine visoke koncentracije prisutne u djevičanskom maslinovom ulju, mnogi smatraju djevičansko maslinovo ulje predstavnikom ove masne kiseline. Određeni čimbenici, poput područja uzgoja, nadmorske visine, klime, sorte i stupnja zrelosti, značajno utječu na sastav masnih kiselina u maslinama i, posljedično, u djevičanskom maslinovom ulju (Šarolić i sur., 2014). Primjerice, Beltran i suradnici (2004) u svom radu navode da se sadržaj palmitinske, stearinske i linolenske kiseline te zasićenih masnih kiselina smanjuje tijekom zrenja masline, dok se sadržaj oleinske i linolne kiseline povećava. Također, količina palmitinske i stearinske kiseline te linolne i linolenske kiseline ovisila je o vremenu berbe, dok je količina oleinske kiseline varirala s godinom usjeva.



Slika 2. Oleinska masna kiselina (Anonymous 2, 2021.)

2.3.2 Fenoli

Glavni fenoli prisutni u djevičanskom maslinovom ulju su hidrofilni fenoli, među kojima prevladavaju fenolni alkoholi, fenolne kiseline, flavonoidi, lignani i sekoiridoidi. Oni pokazuju antioksidativno djelovanje, a smatra se da su upravo antioksidansi odgovorni za brojne biološke aktivnosti djevičanskog maslinovog ulja. Njihova biološka djelovanja prikazana su u Tablici 1. Sekoiridoidi, uključujući i aglikonske derivate oleuropeina i hidroksitirozol glavni su antioksidansi djevičanskog maslinovog ulja (Servili i Montedoro, 2002), a oni su ujedno i karakteristični spojevi za porodicu *Oleaceae*, u koju, kako je već spomenuto ranije, spada i maslina (Bendini i sur., 2007). Uz hidrofilne fenole, u djevičanskom maslinovom ulju prisutni su i lipofilni fenoli, među kojima je najpoznatiji tokoferol. Također, smatra se da fenolni spojevi doprinose i zdravstvenim učincima djevičanskog maslinovog ulja (Visioli i sur., 2019). Osim na biološka svojstva, fenolni spojevi utječu i na senzorska svojstva djevičanskog maslinovog ulja. Osjećaj pikantnosti i okus gorčine dolaze upravo od fenolnih spojeva (Bendini i sur., 2007). Najveći utjecaj na senzorske karakteristike djevičanskog maslinovog ulja imaju derivati oleuropein aglikona, izomeri ligstrozid aglikona, i tirozol (Koprivnjak, 2006). Također, istraživanja su pokazala da je hidroksitirozol prisutan u uljima dobre kvalitete, dok se tirozol i neke fenolne kiseline nalaze u uljima slabije kvalitete (Kiritsakis, 1998).

Udio fenolnih spojeva u maslinovom ulju iznosi od 40 do 1000 mg/kg (Servilli i Montedoro, 2002). 2-(3,4-dihidroksifenil) etanol i 2-(*p*-hidroksifenil) etanol najzastupljeniji su fenolni alkoholi u plodu masline. Od flavonoida prisutni su luteolin-7-glukozid, luteolin-5-glukozid te apigenin-7-glukozid, kao i antocijani, cijanidin i delphinidin glukozidi. Nadalje, prisutne su brojne

fenolne kiseline, a *p*-hidroksibenzojeva, kavaska, klorogenska, vanilinska i ferulna samo su neke od njih.

Djevičansko maslinovo ulje razlikuje se od ostalih biljnih ulja zbog posebnog fenolnog sastava, koji mu uz pravilno skladištenje, omogućava i dulji rok trajanja (zbog prisutnosti fenola s kateholnom skupinom, primjerice hidroksitirosola, i njihovih sekoiridoidnih derivata) (Servilli i Montedoro, 2002). Kao i kod masnih kiselina, fenolni sastav u maslinama i djevičanskom maslinovom ulju ovisi o čimbenicima poput stupnja zrelosti, nadmorske visine, temperature. Kiritisakis u svom istraživanju (1998) navodi da je najveća koncentracija polifenolnih spojeva u razdoblju između polucrne i potpuno crne boje masline. Nadalje, navodi da niža nadmorska visina rezultira s većom količinom fenola. Također, navodi i da vrijeme skladištenja utječe na fenolni sastav maslina i to tako da se s povećanjem vremena skladištenja smanjuje količina fenola.

Tablica 1. Biološko djelovanje i potencijalne dobrobiti za zdravlje povezane s fenolima u djevičanskom maslinovom ulju i plodu masline (Šarolić i sur., 2014)

Biološko djelovanje	Potencijalna klinička slika
antioksidativno djelovanje	kardiovaskularne i degenerativne bolesti
antiupalno djelovanje	inhibicija protuupalnih enzima
antimikrobno djelovanje	infekcijske bolesti
antiaterogeno djelovanje	koronarna bolest srca, moždani
antitumorsko djelovanje	razni tumori
antiagregacija trombocita	koronarna bolest srca, moždani
antihipertenzijsko djelovanje	hipertenzija
povećana aktivnost vitamina A i β -karotena	starenje kože
povećana imuna aktivnost	infekcijske bolesti, razni tumori
smanjenje razine plazma kolesterola i oksidiranog LDL-a	koronarna bolest srca

2.3.3 Hlapljive tvari

Hlapljive tvari su spojevi male molekulske mase (manje od 300 Da) koje lako isparavaju na sobnoj temperaturi (Kalua i sur., 2007). Jedinstvena aroma, miris, kao i brojna senzorska svojstva djevičanskog maslinovog ulja pripisuju se hlapljivim tvarima. Među hlapljivim tvarima detektiranim u djevičanskom maslinovom ulju nalaze se razni alkoholi, aldehidi, ketoni, eteri, esteri, furani i njihovi derivati te aromatski ugljikovodici (Kiritisakis, 1998). Ipak, 60-80% hlapljivih spojeva čine C6 esteri (*Z*-3-heksenil acetat i heksil acetat), C6 alkoholi (*Z*-3-heksenol, heksanol i *E*-2-heksenol) te C6 aldehidi (*E*-2-heksenal, *Z*-3-heksenal i heksanal). To su hlapljive tvari koje doprinose poželjnim mirisnim svojstvima ulja. Osim njih, u djevičanskom maslinovom ulju mogu se javiti i hlapljive tvari koje doprinose nepoželjnim mirisnim svojstvima. One najčešće nastaju zbog grešaka u skladištenju ploda, ponekad i zbog teškoća usklađivanja vremena berbe s vremenom prerade, ali i zbog grešaka u skladištenju djevičanskog maslinovog ulja. Takvi spojevi su primjerice butanska kiselina, propionska kiselina, nonanal i oktanal (Koprivnjak, 2006). Zbog svega navedenog, hlapljive komponente mogu se koristiti za provjeru kakvoće ulja, mogućeg patvorenja i užeglosti ili za otkrivanje sorte masline korištene u proizvodnji ulja (Kesen i sur., 2013).

Sastav hlapljivih tvari posljedica je klimatskih uvjeta, zemljopisnog područja, zrelosti ploda, sorte, uvjeta skladištenja te metoda i parametara prerade. Naime, prema Kiritsakisu (1998) najveća koncentracija hlapljivih tvari pojavljuje se u fazi optimalne zrelosti ploda, a tijekom skladištenja ploda masline koncentracija hlapljivih komponenti okusa, poput aldehida i estera, se smanjuje. Također, primijećene su male razlike u komponentama okusa kod istih sorti uzgajanih na različitim područjima. Od proizvodnih parametara, posebno je važno miješenje. Postupak miješenja tijekom prerade ploda masline uzrokuje povećanje lipofilnih komponenata (aldehidi, esteri) i smanjenje hidrofilnih komponenata (alkohola).

Stvaranje hlapljivih tvari počinje u trenutku razbijanja stanica i narušavanja njihove strukture tijekom mljevenja maslina, a nastavlja se tijekom postupka ekstrakcije ulja. Poznavanje i razumijevanje faza u kojima nastaju hlapljivi spojevi može se koristiti za kontrolu sastava hlapljivih tvari djevičanskog maslinovog ulja, omogućujući tako proizvodnju ulja bolje kvalitete. Enzimske reakcije u kojima dolazi do hidrolize i oksidacije igraju ključnu ulogu u njihovom stvaranju (Kesen i sur., 2013).

2.4. Enzimi masline

Maslina sadrži više vrsta endogenih enzima. To su lipaze, glikozidaze, poligalakturonaze, celulaze, pektin-metilesteraze, lipoksigenaze, peroksidaze te polifenoloksidaze. Oni se oslobađaju kada se naruši struktura tkiva ploda, primjerice uslijed mehaničkih oštećenja tijekom berbe, napada mikroorganizama tijekom procesa skladištenja ili uslijed mehaničkih oštećenja tijekom same ekstrakcije (Hbaieb i sur., 2014). Detaljniji pregled endogenih enzima i njihovih djelovanja prikazan je u Tablici 2.

Ostali prisutni enzimi poput celulaza, poligalakturonaza i pektin metilesteraza imaju ulogu prilikom dozrijevanja. Naime, oni sudjeluju u omekšavanju pulpe, a s obzirom i da razgrađuju tvari koloidnog karaktera, pridonose i uspješnijem izdvajanju ulja tijekom proizvodnje (Koprivnjak, 2006).

U daljnjem tekstu bit će nešto više riječi o lipoksigenazi te o hidroperoksid liazi.

Tablica 2. Raspoređenost endogenih enzima u plodu masline te posljedice njihovih djelovanja (Koprivnjak, 2006)

Vrsta enzima	Endogeni enzim	Glavni izvor	Posljedice djelovanja
hidrolaze	lipaze	pulpa i sjemenka	hidroliza triacilglicerola i oslobađanje masnih kiselina
	glikozidaze (GLI)	pulpa	odvajanje šećera iz fenolnih glukozida pri čemu nastaju fenolni aglikoni koji su topljiviji u ulju
	celulaze (CEL) poligalakturonaze (PG) pektin-metilesteraze (PME)	pulpa	razgradnja celuloze, hemiceluloze i pektina; razgradnja stanične stijenke i time olakšavanje izdvajanja kapljica ulja
oksidoreduktaze	polifenoloksidaze (PFO)	pulpa	oksidacija (degradacija) fenolnih tvari
	peroksidaze (PER)	sjemenka	
	lipoksigenaze (LOX)	pulpa i sjemenka	oksidacija slobodnih masnih kiselina - početak niza enzimskih reakcija kojima nastaju poželjne tvari arome ulja

2.4.1 Lipoksigenaza (LOX) i LOX put

Lipoksigenaze su enzimi koji su široko rasprostranjeni u biljkama, gljivama i sisavcima, iako u biljkama u nešto većoj mjeri. Sastoje se od jednog polipeptidnog lanca molekulske mase u rasponu od 94–104 kDa. Proteini imaju *N*-terminalnu domenu koja ima strukturu β -bačve i veću katalitičku domenu koja sadrži jedan atom ne-hem željeza. Enzimi su obično u željeznom (neaktivnom) obliku kada su izolirani (Brash, 1999). Lipoksigenaze spadaju u veliku porodicu proteina koji sadrže ne-hemsko željezo. Supstrati za lipoksigenazu su polinezasićene masne kiseline koje sadrže niz *cis* dvostrukih veza (Liavonchanka i Feussner, 2006). Lipoksigenaze kataliziraju oksidaciju polinezasićenih masnih kiselina koje sadrže bar jednu (1*Z*,4*Z*)-pentadiensku jedinicu, dajući hidroperokside masnih kiselina (Baysal i Demirdoven, 2007). Ovi enzimi u maslini pokazuju visoku regiospecifičnost, tj. preferiraju n-6 položaje u lancu nezasićenih masnih kiselina, a osim te preferencije, pokazuju i veći afinitet prema linolenskoj masnoj kiselini kao supstratu (čak je dvostruko aktivnija), u odnosu na linolnu masnu kiselinu (Koprivnjak, 2006). Lipoksigenaza je također sposobna koristiti relativno širok raspon drugih spojeva kao supstrata, poput karotenoida i polifenola (Peres i sur., 2015).

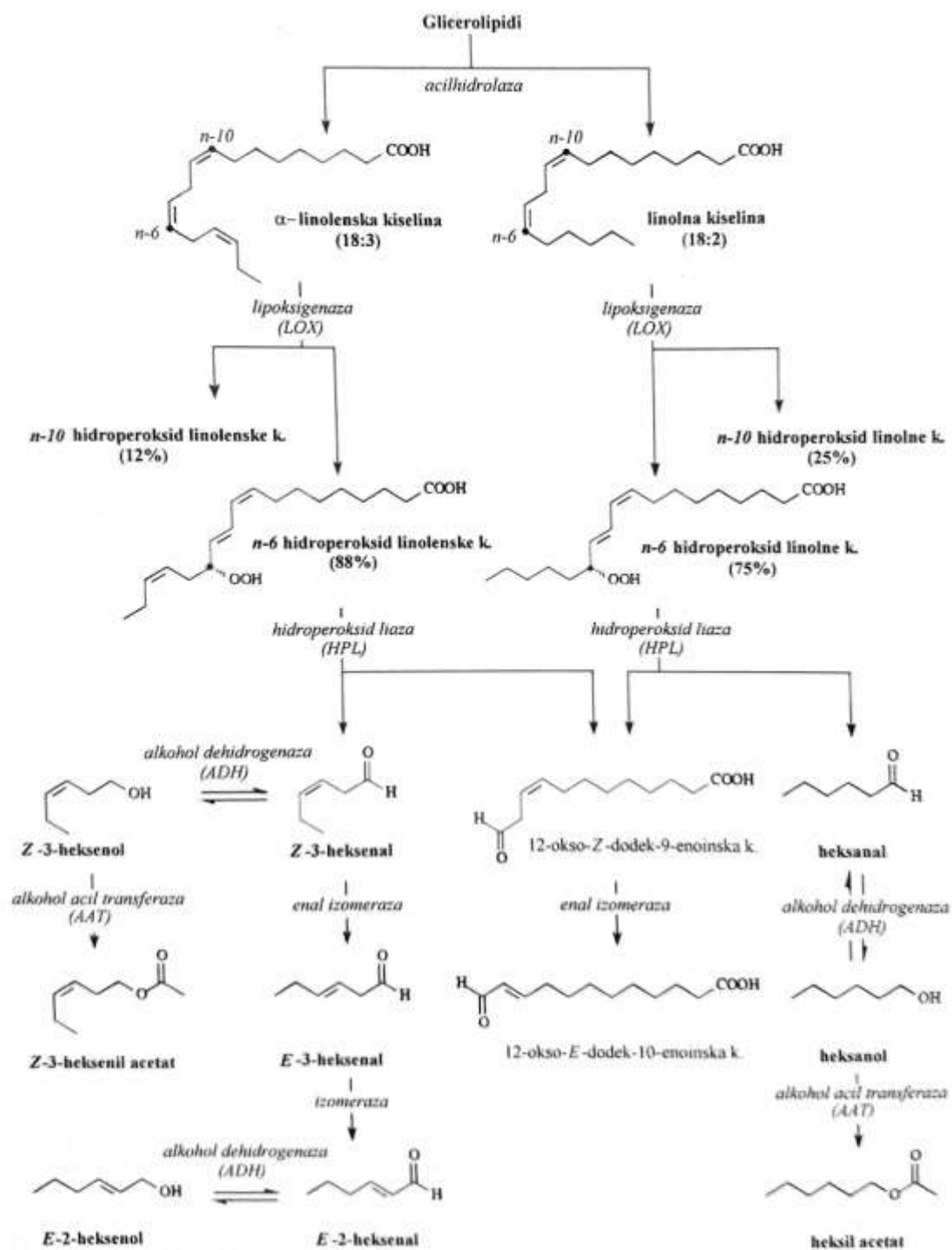
Kao što je već spomenuto u poglavlju 2.3.3, enzimi igraju važnu ulogu u stvaranju hlapljivih tvari. Jedan od tih enzima je i lipoksigenaza koja preko LOX puta sudjeluje u tvorbi arome maslinovog ulja. LOX put započinje oslobađanjem enzima kada se poremeti struktura tkiva ploda masline. Reakcijski put uključuje niz enzima koji oksidiraju (lipoksigenaza) i cijepaju (hidroperoksid liaza) polinezasićene masne kiseline dajući aldehide. Oni se potom reduciraju u alkohole (alkohol dehidrogenazom) i esterificiraju kako bi se dobili esteri (alkohol aciltransferaza) (Kalua i sur., 2007). Koprivnjak u knjizi (2006) navodi da lipoksigenaza u aerobnim uvjetima djeluje na supstrat, prvenstveno linolnu i linolensku masnu kiselinu, i ugrađuje -OOH skupinu u položaje n-6 (oko 80% produkata) ili n-10 (oko 20% produkata). Ugradnjom -OOH skupine, tj. oksidacijom masne kiseline, dolazi i do premještanja dvostruke veze iz izoliranog (*Z*-konfiguracija, odnosno *cis*) u konjugirani položaj (*E*-konfiguracija, odnosno *trans*). Nastali produkti, tj. gotovo isključivo n-6 hidroperoksidi, supstrat su za enzim hidroperoksid liazu. Ona cijepa lanac oksidirane masne kiseline između atoma ugljika s vezanom -OOH skupinom i njemu susjedne *trans* dvostruke veze. Na taj način iz n-6 hidroperoksida linolne kiseline nastaje heksanal, a iz n-6 hidroperoksida linolenske kiseline nastaje *Z*-3-heksenal. *Z*-3-heksenal je vrlo nestabilan i brzo izomerizira u *E*-2-heksenal (najzastupljenija hlapljiva komponenta među hlapljivim tvarima djevičanskih maslinovih ulja visoke kvalitete). Potom alkohol dehidrogenaza reducira C6 aldehide (*E*-2-heksenal, *Z*-3-

heksenal i heksanal) i prevodi ih u alkohole, a alkohol acil transferaza sudjeluje u njihovom povezivanju s kiselinama u estere. LOX put prikazan je na slici 3.

Lipoksigenaza masline membranski je enzim. Optimalni pH joj je između 5,0 i 5,5, a optimalna temperatura 25°C. Visoke temperature (iznad 35°C), kao i visoke koncentracije fenola hidrofilnog karaktera mogu je inhibirati.

Osim 'glavnog' djelovanja, tj. samog LOX puta, lipoksigenaza može i cijepati nastale hidroperokside, stvarajući tako alkoksi radikale te tako pokrenuti niz reakcija u kojima su produkti C5 komponente arome (npr. 1-penten-3-ol (samostalno pridonosi poželjnoj aromi ulja), E-2-penten-1-ol, Z-2-penten-1-ol, 1-penten-3-on, E-2-pentenal) (Koprivnjak, 2006).

Uz lipoksigenazu, još jedan važan enzim koji sudjeluje u LOX putu i stvaranju arome djevičanskog maslinovog ulja, a kako je prethodno i spomenuto, je hidroperoksid liaza. Hidroperoksid liaze kataliziraju cijepanje masnih kiselina na vezi smještenoj između atoma ugljika koji nosi -OOH skupinu i susjedne trans dvostruke veze i pri tome, kako je već ranije spomenuto, daju oksokiseline i aldehide (Salas i Sanchez, 1999a). Nastali produkti važne su komponente arome maslinovog ulja, ali igraju i važnu ulogu u karakteristikama voća, povrća i zelenog lišća. Istraživanjima je utvrđeno da hidroperoksid liaza kod zelenih maslina pokazuje najvišu razinu aktivnosti kada se one uberu u početnim fazama sazrijevanja. Nakon toga razina aktivnosti se malo smanjuje, no i dalje se održava visoka razina tijekom daljnjeg procesa sazrijevanja (Salas i Sanchez, 1999a). Optimalni pH ovog enzima je 5,7, optimalna temperatura 15°C, a povećanje temperature iznad 25°C dovodi do naglog smanjenja njegove aktivnosti. Kao i lipoksigenaza, hidroperoksid liaza pokazuje veći afinitet prema linolenskoj masnoj kiselini kao supstratu, u odnosu na linolnu kiselinu. U slučaju s linolenskom masnom kiselinom pokazuje čak 2,5 puta veću aktivnost (Koprivnjak, 2006).



Slika 3. LOX put nastanka hlapljivih tvari s poželjnim mirisnim svojstvima (Koprivnjak, 2006)

2.5. Utjecaji na aktivnost enzima i hlapljive komponente

Kako bi se procijenila potreba za korištenjem procesnih pomagala u industriji hlapljivih tvari, ali i općenito zbog same kvalitete i sastava ulja, važno je znanje o tome kako djeluju endogeni enzimi ploda masline tijekom sazrijevanja, tijekom procesa prerade te kako razni parametri utječu na njihovu aktivnost (Peres i sur., 2015). U prethodnim poglavljima već je spomenuto da čimbenici poput sorte, stupnja zrelosti, klime imaju utjecaj na sastav hlapljivih tvari u djevičanskom maslinovom ulju. Budući da je prisutnost hlapljivih tvari posljedica djelovanja nekih enzima i njihove koncentracije (npr. lipoksigenaza), ti čimbenici imaju utjecaja i na njihovu aktivnost.

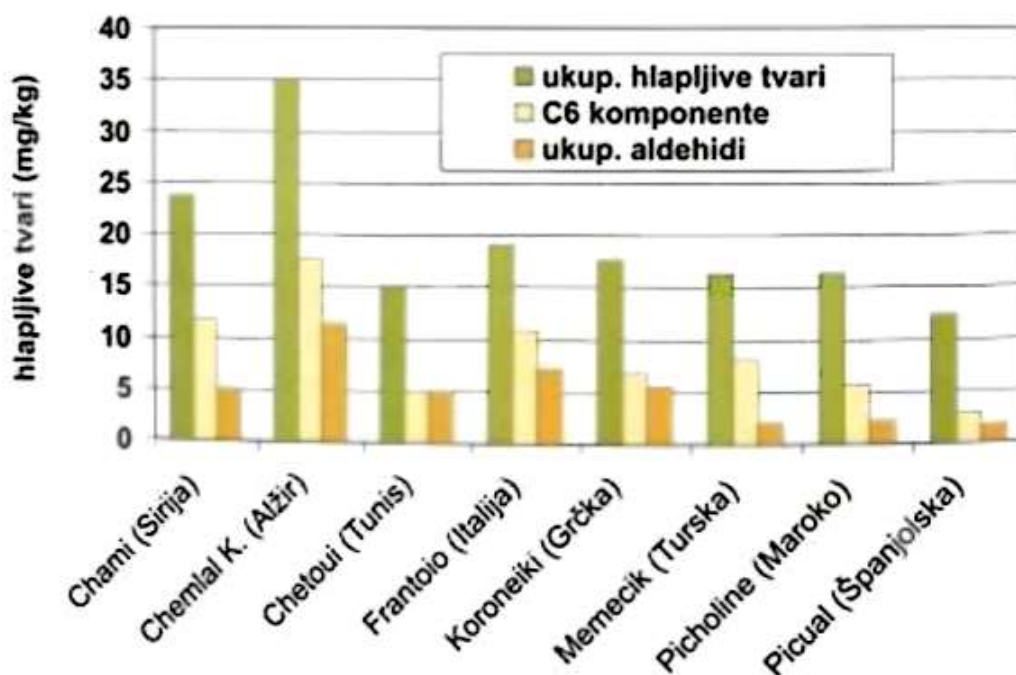
U ovom poglavlju bit će riječ o utjecaju roka berbe, sorte, načina prerade, uvjeta skladištenja te samog ploda na aktivnost enzima i, posljedično, na sastav hlapljivih tvari.

2.5.1 Utjecaj sorte maslina

Da bi se moglo govoriti o utjecaju sorte maslina na aktivnost enzima, potrebno je osigurati da su sorte uzgojene u istim ili približno sličnim uvjetima, da su plodovi ubrani u istom ili podjednakom stupnju zrelosti te da su prerađeni na isti način. U istraživanju (Patui i sur., 2010) provedenom na lokalnim sortama *Ghiacciolo* i *Nostrana di Brisighella* u sjevernoj talijanskoj regiji Emilia-Romagna uočena je razlika u enzimskoj aktivnosti lipoksigenaze i hidroperoksid liaze. Naime, lipoksigenaza je pokazala svoj maksimum aktivnosti pri pH 5,5 kod obje sorte, no veća enzimska aktivnost zabilježena je kod sorte *Ghiacciolo*, dok je hidroperoksid liaza pokazala svoj maksimum aktivnosti pri pH 7,5 i veću aktivnost u sorti *Nostrana di Brisighella*, što je potvrđeno i većom količinom heksanala. Također, pokazalo se i da je sorta *Nostrana di Brisighella* bogatija aldehydima. Iz navedenih rezultata zaključeno je da je aktivnost enzima specifičnost svake sorte, dok na sastav hlapljivih spojeva najveći utjecaj ima sorta, a manji temperatura i sama klima, tj. da je različit sastav hlapljivih spojeva posljedica genetskih, a ne okolišnih čimbenika. Soldo (2016) u svojoj doktorskoj disertaciji također navodi da je lipoksigenazna aktivnost specifično svojstvo pojedine sorte, s obzirom da je u plodovima Oblice i Levantinke, autohtonim hrvatskim sortama, izmjerena približno jednaka specifična aktivnost, dok je, nasuprot tome, u plodovima Lastovke, također hrvatske autohtone sorte, izmjerena znatno niža specifična aktivnost enzima. Nadalje, slično kao i Patui i sur. (2010), navodi da su hlapljive tvari svojstvo sorte, budući da su djevičanska maslinova ulja istraživanih autohtonih

dalmatinskih sorti pokazala različite profile hlapljivih tvari, a najviše su se razlikovala u sastavu aldehida, alkohola i estera.

Na slici 4 grafički je prikazano koliko sastav hlapljivih tvari varira od sorte do sorte.



Slika 4. Utjecaj sorte maslina na udio hlapljivih tvari u ulju (Koprivnjak, 2006)

2.5.2 Utjecaj stupnja zrelosti ploda

Rast i razvoj ploda masline dug je proces koji traje 6 do 8 mjeseci, ovisno o sorti i drugim čimbenicima. Akumulacija ulja u pulpi započinje 12–13 tjedana nakon sinteze i nastavlja se 20-ak tjedana do sazrijevanja plodova. Općenito, tijekom sazrijevanja u maslinama se odvija nekoliko metaboličkih procesa koji imaju utjecaj na kemijsku strukturu i koncentraciju nekih spojeva. Te se promjene očituju u senzorskim svojstvima, oksidacijskoj stabilnosti i hranjivoj vrijednosti ulja. Osim na navedeno, istraživanjima (Salas i sur., 1999b) je utvrđeno da dozrijevanje i stupanj zrelosti imaju utjecaj i na enzimsku aktivnost. Aktivnost lipoksigenaze mjerena je u maslinama ubranim u različitim razvojnim fazama od 13 do 34 tjedna nakon sinteze, čime je obuhvaćeno cijelo razdoblje sinteze i akumulacije ulja. Lipoksigenaza je pokazala visoku aktivnost u ranim fazama razvoja, a potom je došlo do smanjenja nakon 14 tjedana tijekom ispitivanog razdoblja. Stalni pad aktivnosti lipoksigenaze primijećen je u naprednijim stadijima sazrijevanja, od 25 do 35 tjedana nakon sinteze, a to je razdoblje kada

se plodovi obično beru zbog ekstrakcije ulja. S druge strane, Criado i sur. (2007) izvijestili su o suprotnim rezultatima dobivenim u njihovom istraživanju provedenom na četiri sorte: *Leccino* (Italija), *Arbequina* (Španjolska), *Sabina* (Korzika) te *Germaine* (Korzika). Lipoksigenaza je pokazala različitu aktivnost u navedenim sortama (utjecaj sorte) te je maksimalna enzimska aktivnost postignuta u različito vrijeme, no zajedničko svim sortama je da su bilježile najveći porast enzimске aktivnosti u onoj fazi zrenja kada se boja ploda mijenja iz zeleno-žute u crveno-ljubičastu. U prilog rezultatima da se aktivnost enzima povećava sa stupnjem zrelosti ploda idu i rezultati koje je dobila Soldo (2016) na primjerima hrvatskih autohtonih sorti Oblice, Levantinke i Lastovke. Naime, specifična aktivnost lipoksigenaze povećavala se sa stupnjem zrelosti plodova, a najveći skok u aktivnosti uočen je u periodu intenzivnog tamnjenja ploda.

Što se sastava hlapljivih tvari tiče, u istraživanju provedenom na sorti *Oueslati* (Tunis) (Ouni i sur., 2016) pokazalo se da stupanj zrelosti ima utjecaja na njihov sastav te da se oni mogu koristiti kao pouzdani pokazatelji dozrijevanja. Pokazalo se da se dozrijevanjem udio aldehida i alkohola smanjuje, dok se udio estera povećava. Osim toga, na temelju sastava hlapljivih komponenti, maslina ove sorte pokazala se najboljom za preradu pri stupnju zrelosti oko 3.

2.5.3 Utjecaj uvjeta skladištenja

Između berbe i prerade plodova masline ne bi trebalo proći duže od jednog dana jer duže vrijeme skladištenja uz prisutnost vlage može dovesti do hidrolize triacilglicerola pa je stoga poželjno preraditi plodove što je prije moguće (najbolje bi bilo u roku 4-5 sati od berbe) (Mele i sur., 2018). S obzirom da nije uvijek moguće u tako kratkom roku ubrati i preraditi masline, potrebno ih je skladištiti. Tijekom skladištenja najvažnije je usporiti dozrijevanje, odnosno endogene enzimске reakcije u plodu, odvesti višak topline koji se oslobađa tijekom dozrijevanja, spriječiti razvoj mikroorganizama te spriječiti mehaničko oštećenje tkiva ploda. Navedene uvjete najlakše je postići čuvanjem plodova masline u hladnjačama na temperaturama od 5 do 8°C, uz relativnu vlažnost zraka 95%. Međutim, čuvanje u hladnjačama je skupo pa samim time poskupljuje i sam proizvod te se stoga rijetko i koristi. Umjesto toga, masline se češće skladište u prohladnom i prozračnom prostoru (poželjno da temperatura bude ispod 15°C) i to tako da se rasprostru na podu od materijala koji se lako peru ili rasporede u drvene lijeske koje se mogu slagati jedna na drugu (poželjno da razmak bude dovoljan, tako da se omogući oslobađanje topline i vlage u okolni prostor, ali i da se spriječi nagnječenje plodova). Osim navedenih načina skladištenja, danas je još uvijek prisutna praksa čuvanja plodova u mrežastim i plastičnim vrećama, no to nije najbolji način skladištenja,

budući da se pokazalo da je u plodovima skladištenim u mrežastim vrećama ubrzano hidrolitičko kvarenje, a u plodovima skladištenim u plastičnim vrećama došlo je do izrazitog gubitka poželjnih mirisnih tvari. Poznat je i tradicionalni način skladištenja plodova u morskoj ili pitkoj vodi koji usporava hidrolitičko i oksidacijsko kvarenje ulja, no uzrokuje gubitak poželjnih mirisnih tvari do čak 90% te inaktivaciju enzima lipoksigenaze pa stoga značajno smanjuje kvalitetu ulja (Koprivnjak, 2006.).

U istraživanju (Hbaieb i sur., 2016a) provedenom na sortama *Arbequina* i *Chétoui* (Tunis) pokazalo se da temperatura skladištenja ploda i, ponovno, sorta imaju utjecaj na aktivnost enzima i sastav hlapljivih tvari. Masline navedenih sorti skladištene su 4 tjedna na temperaturama 4°C i 25°C, praćena je enzimska aktivnost u njima i uspoređivana je s onom u maslinama koje dozrijevaju. Uočeni su različiti trendovi u aktivnosti enzima. Kod sorte *Chétoui* temperatura nije imala značajan utjecaj na aktivnost enzima peroksidaze tijekom cijelog razdoblja skladištenja, dok je kod sorte *Arbequina* uočen značajan porast aktivnosti tijekom zadnjeg razdoblja skladištenja pri temperaturi od 25°C. Nadalje, aktivnost enzima polifenoloksidaze se smanjila kod obje sorte pri skladištenju na 25°C, iako više kod sorte *Chétoui* (izgubljeno samo 87% početne aktivnosti), nego kod sorte *Arbequina* (izgubljeno 65% početne aktivnosti). Pri skladištenju na temperaturi od 4°C obje sorte pokazuju sličan gubitak enzimске aktivnosti.

Hbaieb i sur. (2016b) proučavali su i utjecaj skladištenja na sastav hlapljivih sastojaka maslinovog ulja u istim sortama, *Chétoui* i *Arbequina*. Otkrili su porast C6 aldehida kada su se masline čuvale na 25°C i smanjenje kada su se čuvale na 4°C, a to je bilo posebno izraženo kod sorte *Arbequina*. Kod heksanala je također uočeno da mu se povećala koncentracija kod maslina čuvanih na 25°C, dok je kod maslina čuvanih na 4°C uočen samo blagi pad u koncentraciji.

2.5.4 Utjecaj prerade

Mlinovi, vrijeme mljevenja, temperatura i koncentracija kisika tijekom prerade pokazali su se kao čimbenici koji imaju utjecaja na aktivnost enzima, s posljedicama i na sastav hlapljivih sastojaka. Mljevenje je prvi korak u pripremi maslinovog tijesta za ekstrakciju ulja. Tijekom mljevenja, prilikom istjecanja ulja iz vakuole uslijed narušavanja stanične strukture aktivira se nekoliko enzima, a njihove aktivnosti rezultiraju aktivacijom LOX puta, a koji ubrzo rezultira

nastankom C6 i C5 spojeva (Campestre i sur., 2017). U današnjoj proizvodnji maslinovog ulja najčešće se koriste mlinovi na diskove, dok se u tradicionalnoj proizvodnji koriste kameni mlinovi koji se obično sastoje od dva do četiri granitna kamena koji rotiraju. Energija (toplina) koja se oslobađa tijekom mljevenja s kamenim mlinovima je mala pa nije dovoljna da bi denaturirala enzime. S druge strane, mlinovi čekićari (metalni mlinovi) pokazuju emulgirajući učinak na tijesto masline te se mljevenjem povećava temperatura tijesta za 13–15°C (Peres i sur., 2015). Porast temperature uzrokuje smanjenje aktivnosti hidroperoksid liaze koja ima jednu od ključnih uloga u stvaranju hlapljivih tvari. Predugo vrijeme mljevenja može pogoršati kvalitetu maslinovog ulja zbog stvaranja peroksida i drugih nepoželjnih sastojaka pa je stoga preporučeno vrijeme mljevenja maslina 20-30 minuta jer se pokazalo da se mljevenjem u tom vremenskom okviru proizvodi manje peroksida (Mele i sur., 2018). Osim toga, pokazalo se i da brzina rotiranja čekića kod mlinova čekićara ima utjecaja na senzorska svojstva. Naime, istraživanje na sorti *Arbosana* (Kalifornija) pokazalo je da se sadržaj gorčine, pikantnosti, klorofila i ukupnih fenola povećava kada je brzina okretaja čekića mlina od 2400 do 3600 okretaja/min (Polari i sur., 2018), dok kada se koriste kameni mlinovi dobivena ulja imaju niži intenzitet gorčine i pikantnosti jer ova metoda mljevenja pomaže u proizvodnji ulja s manjim udjelom fenolnih tvari (Di Giovacchino i sur., 2002). Kameni mlinovi smanjuju koncentraciju fenola u maslinovom tijestu s vremenom mljevenja zbog kontakta sa zrakom tijekom obrade, što onda potiče djelovanje polifenol oksidaze i peroksidaze i njihovu oksidaciju fenola, a dulji kontakt sa zrakom pridonosi i smanjenju udjela hlapljivih tvari koje utječu na gorak i oštar okus ulja.

Kada se govori o sastavu hlapljivih tvari, miješenje je jedan od najvažnijih procesa. Parametri kao što su temperatura, trajanje miješenja i sastav atmosfere s kojom tijesto masline dolazi u doticaj utječu na enzime i sastav hlapljivih tvari. Miješenje dokazano poboljšava iskorištenje ekstrakcije i, općenito, ono raste s porastom vremena miješenja (Clodoveo, 2012). Međutim, predugo miješenje može dovesti do povećanog udjela alkohola i nepoželjnih hlapljivih tvari. Amirante i suradnici (2001) proučavali su utjecaj vremena miješenja pri 3 različite temperature (27, 32 i 35°C) na sastav hlapljivih sastojaka u ulju prilikom ekstrakcije. Pri sve 3 temperature uočeno je da u početnoj fazi miješenja dolazi do povećanog prinosa ulja, ali i povećane koncentracije hlapljivih tvari u njemu zbog djelovanja endogenih enzima (prvenstveno lipoksigenaze). Nakon postizanja maksimalne vrijednosti, došlo je do smanjenja iskorištenja zbog stvaranja emulzije tijekom miješenja te je zaključeno da je optimalno vrijeme miješenja između 45 i 60 minuta. Temperatura je također važan parametar miješenja, a utječe na peroksidazu, polifenol oksidazu i lipoksigenazu, enzime koji su odgovorni za kakvoću hlapljivih spojeva maslinovog ulja (Mele i sur., 2018). Povećanje temperature do 35°C pogoduje njihovoj

aktivnosti, dok previsoke temperature mogu dovesti do pojave nepoželjne arome po 'zagorenom' ulju i dovesti do smanjenja udjela visokokvalitetnih hlapljivih tvari. Nadalje, smanjenje dostupnosti kisika tijekom miješenja može smanjiti aktivnost polifenol oksidaze i peroksidaze, ali i dovesti do smanjenja udjela hlapljivih tvari koje su produkti lipoksigenaznog puta. Glavni učinak miješenja je porast udjela C6 i C5 karbonilnih spojeva, posebno heksanala, što predstavlja važan doprinos aromi maslinovog ulja. Kvaliteta sastava hlapljivih komponenti mogla bi se dodatno poboljšati reguliranjem parametara miješenja i praćenjem kemijskih i biokemijskih promjena u pasti maslina. Upravo zbog toga, u nekim se proizvodnim pogonima ovaj proces kontrolira ručno ili s pojedinačnim upravljačkim petljama koje održavaju parametre pri konstantnim vrijednostima, budući da više faktora utječe na njih (Clodoveo, 2012).

U današnjoj proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja najčešće se koristi kontinuirana centrifugalna ekstrakcija. Tip postrojenja za ekstrakciju ulja (dvije ili tri faze) izrazito utječe na razinu hidrofilnih fenola u ulju, a posljedično onda i na okus gorčine, oštine i trpkosti, kao i na ugljikovodike, zatim na estere koji su produkti fermentacija, derivate keto kiselina i sve skupine koje su dio LOX puta, osim C6 aldehida (Peres i sur., 2015). Kalogeropoulos i suradnici (2014) proučavali su sortu *Koroneiki* (Grčka) i uočili značajne razlike u dobivenim uljima u postupku u dvije faze i u postupku u tri faze. Ulje proizvedeno dvofaznim postupkom sadržavalo je više heksanala, kao i ukupnih fenola, dok je imalo niže vrijednosti peroksida.

3. ZAKLJUČAK

Lipoksigenaza prisutna u plodu masline vrlo je važan enzim pri proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja, s obzirom da je dio LOX puta u kojem nastaju spojevi koji su velikim dijelom odgovorni za aromu ulja. Poznavanje profila hlapljivih tvari, ali i čimbenika koji utječu na aktivnost lipoksigenaze važno je kako bi dobivanje visokokvalitetnog djevičanskog maslinovog ulja bilo što uspješnije. Pokazalo se da utjecaj na aktivnost lipoksigenaze ima sama sorta masline, zatim stupanj zrelosti ploda masline, ali i njihov način skladištenja i prerade. Nadalje, vidljivo je da je utjecaj sorte na aktivnost lipoksigenaze specifično svojstvo svake pojedine sorte, da utjecaj uvjeta skladištenja također varira od sorte do sorte, da je najveća aktivnost lipoksigenaze u fazama intenzivnog tamnjenja ploda te da je prilikom prerade ključna faza miješenja, pri čemu je najveća aktivnost lipoksigenaze na temperaturi od oko 25 do 30°C. Iz svega navedenog može se zaključiti da kako bi se dobilo ulje određenih osjetilnih karakteristika, koje potrošači veoma cijene, potrebno je prilagoditi vrijeme berbe i način prerade svakoj pojedinoj sorti, budući da sve jako ovisi o sortama.

4. POPIS LITERATURE

Amirante R., Cini E., Montel G. L. i Pasqualone A. (2001) Influenza della miscelazione e di estrazione. sulla qualita vergine di oliva. *Grasas y Aceites* **52**: 198-201.

Anonymous 1 (2021) Olea europaea <<http://www.tecnoodgarden.it/home/57-olivo-olea-europea.html>> Pristupljeno 21. lipnja 2021.

Anonymous 2 (2021) Oleic acid <<https://www.shutterstock.com/image-vector/oleic-acid-omega9-cis-fatty-common-715355884>> pristupljeno 14. srpnja 2021.

Baysal T., Demirdoven A. (2007) Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. *Enzyme and Microbial Technology* **40**: 491-496.

Beltran G., Del Rio C., Sanchez S., Martinez L. (2004) Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from cv. Picual. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 3434-3440.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A. Gomez-Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fernandez-Gutierrez A., Lercker G. (2007) Phenolic Molecules in Virgin Olive Oils: a Survey of Their Sensory Properties, Health Effects, Antioxidant Activity and Analytical Methods. An Overview of the Last Decade. *Molecules* **12**: 1679-1719.

Brash A.R. (1999) Lipoxygenases: Occurrence, Functions, Catalysis, and Acquisition of Substrate. *The Journal of Biological Chemistry* **34**: 23679-23682.

Campestre C., Angelini G., Gasbarri C., Angerosa F. (2017) The Compounds Responsible for the Sensory Profile in Monovarietal Virgin Olive Oils. *Molecules* **22**: 1833-1837

Clodoveo M.L. (2012) Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future - An overview. *Trends in Food Science & Technology* **25**: 13-23.

Criado M.N., Romero M.P., Motilva M.J. (2007) Effect of the Technological and Agronomical Factors on Pigment Transfer during Olive Oil Extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 5681–5688.

Di Giovacchino L., Sestili S., Di Vincenzo D. (2002) Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**: 587–601.

Hbaieb R.H. Kotti F. Garcia-Rodriguez R., Gargouri M., Sanz C., Perez A.G. (2014) Monitoring endogenous enzymes during olive fruit ripening and storage: correlation with virgin olive oil phenolic profiles. *Food Chemistry* **174**: 240-247.

Hbaieb, R. H., Kotti F., Cortes-Francisco N., Caixach J., Gargouri M., Vichi S. (2016a) Ripening and storage conditions of Chétoui and Arbequina olives: Part II. Effect on olive endogenous enzymes and virgin olive oil secoiridoid profile determined by high resolution mass spectrometry. *Food Chemistry* **210**: 631-639.

Hbaieb R. H., Kotti F., Gargouri M., Msallem M., Vichi S. (2016b) Ripening and storage conditions of Chétoui and Arbequina olives: Part I. Effect on olive oils volatiles profile. *Food Chemistry* **203**: 548-558.

Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2021.
<<http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=39294> >Pristupljeno 21. lipnja 2021

Kalogeropoulos N., Kaliora A. C., Artemiou A., Giogios I. (2014) Composition, volatile profiles and functional properties of virgin olive oils produced by two-phase vs three-phase centrifugal decanters. *LWT Food Science and Technology* **58**: 272-279.

Kalua C. M., Allen M.S., Bedgood D.R., Bishop A.G., Prenzler P.D., Robards K. (2007) Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry* **100**: 273-286.

Kesen S., Kelebek H., Selli S. (2013) Characterization of the Volatile, Phenolic and Antioxidant Properties of Monovarietal Olive Oil Obtained from cv. Halhali. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **90**: 1685–1696.

Kiritisakis A.K. (1998) Flavor Components of Olive Oil - A Review. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**: 673-681.

Koprivnjak O. (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, 1. izd., MIH, Poreč, str. 33-70.

Liavonchanka A., Feussner I. (2006) Lipoxygenases: Occurrence, functions and catalysis. *Journal of Plant Physiology* **163**: 348-357.

Matsui K. (1998) Properties and Structures of Fatty Acid Hydroperoxide Lyase. *Belgian Journal of Botany* **131**: 50-62.

Mele M.A., Islam M.Z., Kang H., Giuffre A.M. (2018) Pre-and post-harvest factors and their impact on oil composition and quality of olive fruit. *Emirates Journal of Food and Agriculture* **30**: 592-603.

Ouni Y., Flamini G., Zarrouk M. (2016) The Chemical Properties and Volatile Compounds of Virgin Olive Oil from Oueslati Variety: Influence of Maturity Stages in Olives. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **93**: 1265-1273.

Patui S., Braidot E., Peresson C., Tubaro F., Mizzau M., Rabiei Z., Conte L., Macri F., Vianello A. (2010) Lipoxygenase and hydroperoxide lyase activities in two olive varieties from Northern Italy. *European Journal of Lipid Science and Technology* **112**: 780-790.

Peres F., Martins L.L., Ferreira-Dias S. (2015) Influence of enzymes and technology on virgin olive oil composition. *Food Science and Nutrition* **57**: 3104-3126.

Polari J.J., Garci-Aguirre D., Olmo-Garcia L., Carrasco-Pancorbo A., Wang S.C. (2018) Impact of industrial hammer mill rotor speed on extraction efficiency and quality of extra virgin olive oil. *Food Chemistry* **242**: 362-368.

Salas J.J., Sanchez J. (1999a) Hydroperoxide lyase from olive (*Olea europaea*) fruits. *Plant Science* **143**: 19-26.

Salas J.J., Williams M., Harwood J.L., Sanchez J. (1999b) Lipoxygenase activity in olive (*Olea europaea*) fruit. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76**: 1163-1168.

Servilli M., Montedoro G.F. (2002) Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**: 602-613.

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

Šarolić M., Gugić M., Marjanović Z., Šuste M. (2014) Virgin olive oil in nutrition. *Hrana u zdravlju i bolesti*, **3**: 38-43.

Škevin D. (2016) Kemija i tehnologija ulja i masti (interna skripta), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 61-69.

Visioli F., Davalos A., López de las Hazas M.C., Crespo M.C., Tomé-Carneiro J. (2019) An overview of the pharmacology of olive oil and its active ingredients. *British Journal of Pharmacology* **177**: 1316-1330.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Alma Oršćević

ime i prezime studenta

