

Primjena blisko-infracrvene spektroskopije u praćenju kvalitete i patvorenja maslinovog ulja

Klinar, Magdalena

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:139516>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Magdalena Klinar

**PRIMJENA BLISKO-
INFRACRVENE
SPEKTROSKOPIJE U PRAĆENJU
KVALITETE I PATVORENJA
MASLINOVOG ULJA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Jasenke Gajdoš Kljusurić.

ZAHVALA

Želim izraziti iskrenu zahvalnost mentorici, prof. dr. sc. Jasenki Gajdoš Kljusurić, na uloženom trudu, vremenu i strpljenju tijekom izrade ovog rada.

Hvala i Zvijezdi plus d.o.o. na prilici za suradnju, a naročito voditeljici laboratorija kontrole kvalitete mag. ing. techn. aliment. Anamariji Prskalo te tehnologu analitičaru mag. ing. chem. ing. Jurju Tonkoviću na izrazitoj susretljivosti i podršci tijekom istraživanja.

Također, želim zahvaliti suprugu Marijanu na neizmjernej potpori i razumijevanju koje mi je pružio kada mi je bilo najpotrebnije, kao i roditeljima, braći i baki na neprestanoj potpori koju su mi pružali tijekom cijelog studiranja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za procesno inženjerstvo
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Upravljanje sigurnošću hrane

PRIMJENA BLISKO-INFRACRVENE SPEKTROSKOPIJE U PRAĆENJU KVALITETE I PATVORENJA MASLINOVOG ULJA

Magdalena Klinar, univ. bacc. ing. biotechn
0058209489

Sažetak: Cilj ovog rada bio je ispitati potencijal primjene blisko-infracrvene spektroskopije (NIR spektroskopije) kao metode za praćenje kvalitete i patvorenja maslinovog ulja te usporediti dva tipa NIR uređaja. U tu su svrhu maslinovom ulju i njegovim mješavinama sa suncokretovim uljem kolorimetrijski određivani parametri boje, konduktometrijski vodljivost i ukupne otopljene tvari, senzorska svojstva te snimljeni NIR spektri u području valnih duljina od 900 do 1700 nm. Analiza glavnih komponenata (PCA) korištena je kako bi se dobili kvalitativni modeli, dok je za razvoj kvantitativnih modela korištena parcijalna linearna regresija metodom najmanjih kvadrata (PLS regresija). Kvalitativni modeli pokazali su uspješno razdvajanje analiziranih uzoraka prema udjelu suncokretovog ulja i sastavu masnih kiselina. PLS regresijski modeli također su se pokazali vrlo pogodnima za primjenu. S vrijednostima koeficijenta $R^2 \geq 0,85$ pokazali su se modeli za predikciju udjela suncokretovog ulja, senzorskih svojstava i sastava masnih kiselina. Također, prijenosni NIR uređaj pokazao se kao jednako pouzdan kao laboratorijski.

Ključne riječi: NIR spektroskopija, maslinovo ulje, patvorenje, kvaliteta

Rad sadrži: 57 stranica, 34 slika, 5 tablica, 66 literaturnih navoda, 3 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Marina Krpan (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (član)
4. prof. dr. sc. Nada Vahčić (zamjenski član)

Datum obrane: 25. rujna 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Process Engineering
Laboratory for Measurement, Control and Automatisation

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Safety Management

APPLICATION OF NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY IN MONITORING QUALITY AND ADULTERATION OF OLIVE OIL

Magdalena Klinar, univ. bacc. ing. biotechn.
0058209489

Abstract: The main goal of this research was to examine the potential of the application of near-infrared spectroscopy (NIR spectroscopy) as the method for monitoring the quality and adulteration of extra virgin olive oil (EVOO) and to compare two types of NIR spectrometers. For this purpose, colorimetric, conductometric, and sensor analysis was carried out on EVOO and its mixtures with sunflower oil. Their NIR spectra were also recorded in the wavelength range from 900 to 1700 nm. Principal component analysis (PCA) was used to obtain qualitative models, while partial least squares (PLS regression) was used to develop quantitative models. Qualitative models successfully separated the analyzed samples according to the proportion of sunflower oil and the composition of fatty acids. PLS regression models also proved to be very suitable for application. With values of coefficient $R^2 \geq 0.85$, the models for predicting the percentage of added sunflower oil, sensory properties, and composition of fatty acids were confirmed reliable. Also, the portable NIR device proved to be as reliable as the laboratory one.

Keywords: NIR spectroscopy, olive oil, adulteration, quality

Thesis contains: 57 pages, 34 figures, 5 tables, 66 references, 3 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in: The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor

Reviewers:

1. Marina Krpan, PhD, Associate professor (president)
2. Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor (mentor)
3. Ana Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor (member)
4. Nada Vahčić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: September 25th, 2023

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Maslinovo ulje.....	2
2.1.2. Patvorenje ulja	4
2.1.2. Senzorika	7
2.2. Upravljanje sigurnošću hrane	8
2.3. Blisko-infracrvena spektroskopija	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. Materijali	14
3.2. Metode.....	15
3.2.1. Kolorimetrija	15
3.2.2. Vodljivost i ukupne otopljene tvari	15
3.2.3. Senzorska analiza.....	16
3.2.4. NIR spektroskopija	16
3.2.4.1. Laboratorijski NIR uređaj.....	16
3.2.4.2. Prijenosni NIR uređaj	17
3.2.5. Obrada podataka	18
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
4.1. Analiza rezultata boje i vodljivosti uzoraka ulja	20
4.1.1. Rezultati boje	20
4.1.2. Rezultati vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari.....	26
4.2. Senzorske karakteristike maslinovog ulja	28
4.3. Analiza spektara ulja snimanih blisko-infracrvenom spektroskopijom.....	31
4.4. Kemometrijska analiza za promatrane uzorke	33
4.4.1. PCA analiza prema NIR spektrima.....	33
4.4.2. PLS regresijski modeli prema NIR spektrima.....	38
4.4.2.1. NIR i udio suncokretovog ulja	39
4.4.2.2. NIR i boja	40
4.4.2.3. NIR te vodljivost i TDS.....	43
4.4.2.4. NIR i senzorika	44
4.4.2.5. NIR i masne kiseline	47
5. ZAKLJUČCI.....	51
6. LITERATURA	52
7. PRILOZI	

1. UVOD

Maslinovo ulje vrlo je cijenjen prehrambeni proizvod, kako zbog svojih mnogobrojnih pogodnih učinaka na zdravlje ljudi, tako i zbog bogatog okusa koji nadopunjava mnoga jela, naročito ona tipična za mediteransku prehranu. Međutim, zbog velike potražnje i visoke cijene ekstra djevičanskog maslinovog ulja postoji vrlo velik rizik od njegova patvorenja. Patvorenje maslinovog ulja postalo je jedan od najvećih izvora poljoprivrednih prijevara u Europskoj uniji, a odnosi se na nelegalnu praksu miješanja maslinovog ulja s jeftinijim biljnim uljima kako bi se ostvario veći profit, smanjili troškovi ili prikrija loša kvaliteta. Također, patvorenjem se smatra i pogrešno označavanje kvalitete, porijekla ili vrste maslinovog ulja (Petir, 2019).

Osim što patvorenje maslinovog ulja može predstavljati opasnost za pojedine potrošače, ono također dovodi sve potrošače u zabludu jer proizvod kojeg kupuju nema kvalitetu koja je deklarirana. Upravo iz tih razloga je vrlo važno detektirati patvoreno maslinovo ulje. Postoji mnogo različitih metoda detekcije patvorenja i utvrđivanja autentičnosti maslinovog ulja, a one uključuju kemijske, spektroskopske ili senzorske analize. Blisko-infracrvena spektroskopija (engl. *Near-infrared spectroscopy*, *NIR spectroscopy*) pokazala se kao vrlo učinkovita metoda u detekciji patvorenog ulja te je zbog svojih mnogobrojnih prednosti kao što velika brzina analize, neinvazivnost, jednostavnost te mogućnost obrade velikog broja uzoraka postala vrlo popularna. Međutim, ova metoda ima i neke nedostatke, od kojih bi najznačajniji bili ovisnost o drugim referentnim metodama te nužnost obrade podataka multivarijatnim metodama analize zbog mjernog signala koji je nepravilna krivlja (Jednačak i Novak, 2013).

Cilj ovog rada bio je istražiti mogućnost primjene blisko-infracrvene spektroskopije kao metode za praćenje kvalitete i detekcije patvorenja maslinovih ulja. Spektri snimljeni laboratorijskim i prijenosnim NIR spektrometrima obrađeni su multivarijatnim metodama analize te kombinirani s podacima analitičke i senzorske analize kako bi se odredili kalibracijski modeli za predviđanje patvorenja, ali i usporedila dva korištena NIR spektrometra.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASLINOVO ULJE

Maslina (*Olea europea L.*) je jedna od najstarijih uzgajanih biljaka čiji se plod koristi za preradu u ulje ili konzerviranje (Klepo i Benčić, 2014; Aparicio i Hardwood, 2013). Navedeno ulje glavno je jestivo ulje u Mediteranskim zemljama, dok je važna roba u drugim državama kao što su Novi Zeland, Čile te SAD (Aparicio i Harwood, 2013). Njegova proizvodnja važna je svjetska gospodarska grana, a čak 81 % svjetskog maslinovog ulja i 69 % svjetskog stolnog ulja proizvedeno je u mediteranskoj zoni (Coff i sur., 2008).

Između 98 % i 99 % sastava maslinovog ulja čine trigliceridi (triacilgliceroli), međutim, ono također može sadržavati i slobodne masne kiseline čiji je udio varijabilan te ovisi o stupnju hidrolize triglicerida (Barjol, 2013). Sastav i svojstva maslinovih ulja koja se mogu pronaći na tržištu definirani su Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (Pravilnik, 2009) prema kojemu se ulja iz bilo koje definirane kategorije pod člankom 2. (ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje, maslinovo ulje lampante, rafinirano maslinovo ulje, maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja, sirovo ulje komine maslina, rafinirano ulje komine maslina te ulje komine maslina) dobivaju izravno iz ploda masline (*Olea europea L.*) i/ili krutog ostatka (komine) koji ostaje nakon dobivanja ulja izravno iz ploda masline. Također, bitno je i napomenuti da od kategorija ulja definiranih 2. člankom ovog pravilnika na tržište se radi prodaje krajnjem potrošaču smiju stavljati ulja: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje, maslinovo ulje sastavljeno od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja te ulje komine maslina (Pravilnik, 2009).

Sastav masnih kiselina maslinovog ulja varira ovisno o sorti, klimatskim uvjetima te lokaciji proizvodnje (Barjol, 2013). To je vezano uz sam kemijski sastav ploda iz kojeg je dobiveno ulje, a on ovisi o genetskim osnovama te o klimatskim, agrotehničkim i pedološkim čimbenicima uzgojnog područja (Klepo i Benčić, 2014). Kod kultiviranih sorti tako u plodu nalazimo i do 70 % vode, 1,6 % proteina, 22% ulja, 19,1 % ugljikohidrata, 5,8 % celuloze i 1,5 % pepela. Za razliku od kulturnih sorti, kemijski sastav divljih maslina, a posebno sadržaj vode (37 % do 64 %), značajno varira (Espejo, 2005). U ulju prevladavaju mononezasićene masne kiseline (72 %), dok je udio polinezasićenih i zasićenih masnih kiselina jednak te iznosi oko 14 %. Ostali manji kemijski konstituenti ulja, kao što su ugljikovodici (terpeni, tokoferoli, fenolni

spojevi itd.), alkoholi, steroli, voskovi i drugi sastojci, karakteristični su indikatori njegove fizikalno-kemijske autentičnosti te su uzrok njegovih specifičnih senzorskih i bioloških svojstava (Barjol, 2013).

Pravilnikom (Pravilnik, 2009) prethodno definirane vrste ulja po kategorijama tako su raspoređene zbog svojih specifičnosti i razlika u tehnološkim postupcima koji se primjenjuju u proizvodnji. Za proizvodnju ekstra djevičanskih i djevičanskih maslinovih ulja smiju se koristiti isključivo mehanički ili drugi fizikalni postupci nad plodom, pri uvjetima koji ne dovode do promjena sastojaka ulja te bez dodataka pomoćnih sredstava kemijskog ili biokemijskog djelovanja. Ta vrsta ulja smije se podvrgnuti isključivo postupcima pranja, centrifugiranja, dekantacije i/ili filtracije. Kao što sam naziv kaže, rafinirano maslinovo ulje smije se rafinirati, ali ni ono ni prethodno navedena ulja ne smiju se koristiti ako su dobivena upotrebom organskih otapala, reesterifikacijom ili ako su miješana s uljima druge vrste. Ulje se može dobiti i iz komine ploda, ali u tom slučaju takvo ulje treba pravilno i deklarirati. To ulje dobiva se preradom komine maslina mehaničkim postupcima i/ili ekstrakcijom komine maslina organskim otapalima, bez rafinacije i reesterifikacije te bez miješanja s uljima druge vrste (Pravilnik, 2009).

2.1.1. Postupak proizvodnje maslinovog ulja

Nakon ubiranja, plod se u što kraćem vremenu transportira do uljare. Pri tome se mora obratiti pozornost da ne dođe do degradacije kvalitete maslina njihovim međusobnim gnječenjem, što se postiže već navedenim što kraćim vremenom transporta te ravnomjerno raspoređenim slojem maslina u prijenosnoj ambalaži. U slučaju da se plod ne može obraditi odmah nakon ubiranja (ograničen kapacitet uljare i sl.), on se može skladištiti. Vrijeme skladištenja trebalo bi biti što je kraće moguće te na takav način da se očuva kvaliteta ploda (Di Giovacchino, 2013). Drugi dio procesa je čišćenje: uklanjanje lišća, grančica, plodova neprikladnih za proizvodnju te pranje (Di Giovacchino, 2013; Koprivnjak, 2006). Taj dio procesa neophodan je zbog uklanjanja svih vegetativnih i ne-vegetativnih stranih tijela iz maslina koja bi kasnije u procesu mogla naštetiti strojevima ili kontaminirati finalni proizvod. Prethodno je navedeno da se prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina ulje maslina smije dobiti jedino mehaničkim postupcima. Teorija iza mehaničke ekstrakcije ulja iz ploda masline jest da se ono oslobađa iz tkiva na takav način da se oslobođene manje kapljice spajaju u veće, sve dok se ne postigne kontinuirana tekuća faza. Mehanički postupci mogu osloboditi ulje nakupljeno u vakuolama ploda, ali ono se teško ekstrahira jednom kada se dispergira u

citoplazmi i generalno se gubi s kominom ili biljnom vodom. Postoji i opasnost od pojave emulzije u postupcima pripreme tijesta od maslina drobljenjem ploda. Stoga se masline prije same mehaničke ekstrakcije ulja moraju obraditi na način da se maksimizira količina ulja koje se može ekstrahirati uz očuvanje njegove kvalitete te poboljšanje njegovog otpuštanja kada se razdvajaju tekuća od krute faze (Di Giovacchino, 2013). Masline se u tu svrhu mogu usitniti na kamenim mlinovima, mlinovima s valjcima, noževima, zupčastim diskovima ili mlinovima čekićarima te se dobivena smjesa mijesi u tijesto (Koprivnjak, 2006). Samo izdvajanje ulja vrši se prešanjem, centrifugiranjem ili procjeđivanjem (Di Giovacchino, 2013; Koprivnjak i Červar, 2010). Uljni mošt dobiven raznim ekstrakcijskim sustavima je mutan zbog malih količina biljne vode i, u nekim slučajevima, sitnih čestica tkiva. On se zatim može centrifugirati, filtrirati ili drugim tehnikama istaložiti pa dekantirati (Di Giovacchino, 2013; Koprivnjak i Červar, 2010).

2.1.2. Patvorenje ulja

Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina (Pravilnik, 2009) osim što određuje tehnološke postupke koje se primjenjuju u proizvodnji određenog tipa maslinovog ulja uvjetuje kategorije i razlikuje ulja na osnovu osnovnih pokazatelja kakvoće. U samom Pravilniku prema prilogu I uvjetuju se razna svojstva pojedinog definiranog ulja po kategoriji, od kojih su osnovni pokazatelji kakvoće: postotak slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj i K-vrijednost. Tako je osnovna razlika između djevičanskih maslinovih ulja postotak slobodnih masnih kiselina, koji se može izraziti i kao količina oleinske kiseline na 100 grama ulja. Granične vrijednosti postotka slobodnih masnih kiselina tako definiraju u koju će kategoriju djevičanskog maslinovog ulja pojedino ulje ući, naravno uz poštivanje uvjetovanih tehnoloških postupaka koji se primjenjuju u proizvodnji. Granična vrijednost postotka za ekstra djevičanska maslinova ulja jest do 0,8 %, za djevičanska maslinova ulja do 2 %, dok je za maslinovo ulje lampante iznad 2%. Maslinovo ulje lampante je uz navedeni granični postotak takva vrsta maslinovog ulja koja ima neprihvatljiva senzorska svojstva te se ne smije stavljati na tržište (Pravilnik, 2009). Taj podatak je razumljiv ako znamo da je postotak slobodnih masnih kiselina posljedica procesa degradacije koji se odvijaju u plodu te da je njegovo povećanje u obrnutoj proporciji sa sadržajem drugih važnih komponenti maslinovog ulja kao što su aromatski spojevi, vitamini, polifenoli itd. Najčešći uzrok procesa degradacije koji se odvijaju u plodu su mehanička oštećenja ploda koja uzrokuju brzu oksidaciju, ali mogu se odvijati i djelovanjem većeg broja čimbenika. Prehrambena i zdravstvena vrijednost maslinovog ulja značajno se smanjuje povećanjem

sadržaja slobodnih masnih kiselina. Peroksidni broj je mjera iskazivanja stupnja primarne oksidacije (fotooksidacije i autooksidacije) masnih kiselina, odnosno stabilnosti i mogućnosti čuvanja ulja. On se izražava u milimolima aktivnog kisika vezanog na 1 kg ulja, a za djevičansko i ekstra djevičansko maslinovo ulje on mora biti ispod vrijednost od 10. K-vrijednostima izražava se koeficijent apsorpcije pri različitim valnim dužinama ultraljubičastog spektra. On je direktno povezan na stupanj fotooksidacije kojom dolazi do vezanja kisika na lanac višestruko nezasićenih masnih kiselina te premještanje dvostrukih (najveća apsorpcija pri valnoj duljini od 232 nm) i trostrukih veza (najveća apsorpcija pri valnoj duljini od 270 nm). Pri valnoj duljini od 270 nm povećanje apsorpcije mogu uzrokovati i drugi spojevi, sekundarni produkti oksidacije aldehidi i ketoni (Klepo i Benčić, 2014).

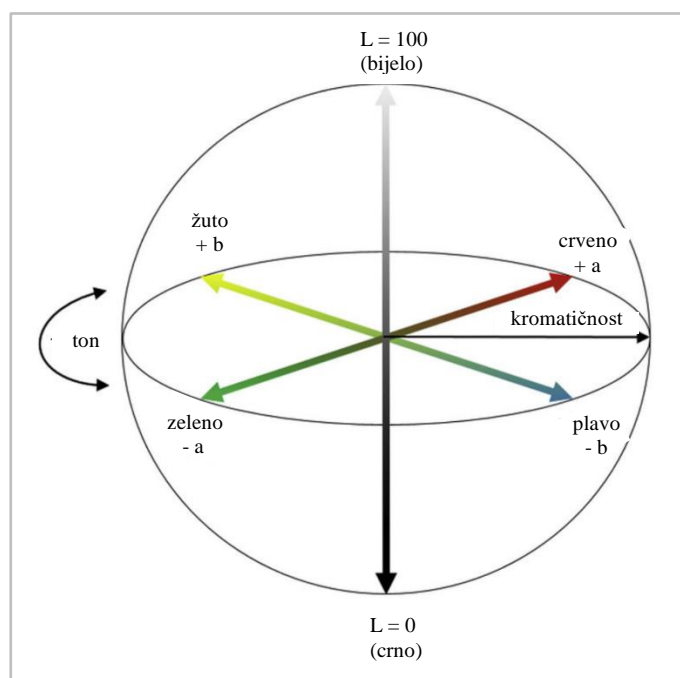
S trgovačke i zdravstvene strane autentičnost proizvoda koji se označavaju kao maslinovo ulje vrlo je važna. Rastu popularnosti korištenja takvih proizvoda zadnjih godina doprinijeli su njihova kvaliteta, potencijalni zdravstveni benefiti te stroga kontrola njihove čistoće i autentičnosti. Međutim, relativno visoka cijena maslinovog ulja u odnosu na druga ulja te njegova reputacija kao zdravog i ukusnog ulja čini ga preferiranom metom za prevarante. Patvorenje ulja tako se može dogoditi ne samo slučajnom kontaminacijom tijekom faza proizvodnje samog ulja, već i namjernim krivim označavanjem manje skupih kategorija ulja u one skuplje te pravljenjem uljnih smjesa koja sadrže maslinovo i manje skupa jestiva ulja, sve u svrhu veće financijske dobiti (Aparicio i sur., 2013). Kemijski gledano, većina ulja i masti su gliceridi tri-hidroksi alkohola, uglavnom glicerola. Pošto su po tome vrlo slični, jednom kada se ulja pomiješaju često je teško detektirati i razlučiti komponente smjese (Christy i sur., 2004). Tako su razni kontaminanti pronađeni u djevičanskim maslinovim uljima: sve od rafiniranog maslinovog ulja, sirovog ulja komine maslina i sintetičke smjese maslinovog ulja i glicerola pa do ulja kao što su kukuruzno, ulja sjemena pamuka, ulja lješnjaka, uljane repice, sojinog te suncokretovog ulja (Aparicio i sur., 2013). Na taj način patvorenje utječe i na kvalitetu hrane čije je maslinovo ulje jedna od komponenti, iako se ono samo provodi zbog ekonomskih razloga. Nadalje, zabrinjavajuće su i zdravstvene poteškoće koje se mogu javiti patvorenjem ulja (Christy i sur., 2004). Slučaj patvorenja ulja iz Španjolske 1981. godine doveo je do definiranja pojma „sindrom toksičnog ulja“ (engl. *toxic oil syndrome*) od strane Svjetske zdravstvene organizacije. Naime, te godine određene tvrtke kupile su denaturirano ulje uljane repice, uklonile denaturirajući agens, takvo ulje miješale s drugim jestivim uljima upitne kvalitete kako bi se promijenila njegova fizikalna svojstva (primarno boja i miris) te zatim to ulje prodavale bez

komercijalne etikete kao maslinovo (Ferragut, 2007).

Navedeni slučaj ukazuje na važnost borbe protiv patvorenja maslinovog ulja u svrhu zaštite potrošača. Standardne metode za utvrđivanje autentičnosti maslinovog ulja definirane su od strane raznih međunarodnih organizacija od kojih je jedna Međunarodno vijeće za maslinu (engl. *International olive council, IOC*) (Aparicio i sur., 2013), dok su na razini Republike Hrvatske one definirane Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (Pravilnik, 2009). Mnoge od tih metoda su skupe i vremenski zahtjevne, tako da je bilo više pokušaja pronalaska bržih i efikasnijih metoda za detektiranje patvorenja maslinovog ulja (Christy i sur., 2004). Metode koje se koriste za utvrđivanje autentičnosti mogu se podijeliti po skupinama prema nekim svojim glavnim karakteristikama. Tako razlikujemo: metode separacije pojedinih sastavnica maslinovog ulja kao što je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, metode koje prepoznaju razne strukturne oblike i uzorke kao što su nuklearna magnetna rezonanca, masena spektrometrija i NIR spektroskopija te metode koje analiziraju elemente u tragovima kao što je atomska apsorpcijska spektrometrija (Aparicio i sur., 2013).

Prvi kontakt koji čovjek ima s hranom sastoji se od zapažanja njenog izgleda i boje. To zapažanje utječe na naše preferencije, a samim time i na naš odabir. Utjecaj može biti takav da čak utječe i na to da subjektivno modificira druge osjete kao što su okus i miris. Iskustveno se zna da ako čovjek ne vidi boju, ima problema s identifikacijom okusa. Od pigmenata koji se nalaze u plodu masline u ulje prelaze jedino oni topivi u njemu, a to su klorofili i karotenoidi. Upravo su oni zaslužni za njegovu karakterističnu boju (Gandul-Rojas i sur., 2013). Klorofili daju ulju njegovu žuto/zelenu boju, dok karotenoidi određuju nijanse između žute i crvene (Angerosa i Campestre, 2013). Tako boja djevičanskih maslinovih ulja može varirati od tamno zelene do zlatne, ovisno o kultivaru i stupnju sazrijevanja ploda (Gandul-Rojas i sur., 2013). Količine samih pigmenata u ulju povezane su s genetskim faktorima, stupnju sazrijevanja ploda te uvjetima koji su primijenjeni za ekstrakciju ulja (Angerosa i Campestre, 2013). Smanjivanje količine pigmenata procesom ekstrakcije više utječe na pigmente klorofila (80 % gubitaka), nego na karotenoide (50 % gubitka). Također, loše procesiranje samog ulja ili loši uvjeti skladištenja mogu dovesti do degradacije ili destrukcije prirodnih tvari koje mu daju boju. U takvom slučaju, proizvođači znaju patvoriti ulje dodatkom umjetnih bojila kako bi se postigla boja koju očekuju potrošači (Gandul-Rojas i sur., 2013). Nažalost, što se legislative tiče, puno se pažnje nije pridodalo boji kada su se postavljali parametri kvalitete za maslinova ulja (Moyano i sur., 2010). Unatoč tome, razvijene su razne metode određivanja tog parametra. Mjerenje transmitancije ili

apsorbancije u vidljivom spektru dopušta nam da kvantificiramo boju na način da se izračunaju koordinate boja uzorka u CIE-1976 prostoru boja kao što je CIELAB (slika 1) (Escolar i sur., 2007).



Slika 1. CIELAB dijagram prostora boja (prema Ly i sur., 2020)

Vertikalna os L^* označava svjetlinu i ona ima vrijednosti od 0 do 100, gdje nula predstavlja crnu, a sto bijelu boju. Za razliku od L^* , osi a^* i b^* su neograničene u rasponu vrijednosti, pri čemu pozitivne vrijednosti a^* osi označavaju crvenu, a negativne vrijednosti zelenu boju. Slično tome, pozitivne vrijednosti b^* označavaju žutu, dok negativne vrijednosti označavaju plavu boju. Kromatičnost ili zasićenost boje (C^*) predstavlja udaljenost od središnje osi, dok kut na osi kromatičnosti predstavlja ton boje (h^*). Jedna od ključnih prednosti kolorimetra je sposobnost izračunavanja ukupne razlike boja (ΔE^*) na temelju promjena u svjetlini, tonu i kromatičnosti (Ly i sur., 2020).

2.1.2. Senzorika

Prihvatljivost i poželjnost hrane generalno su pod utjecajem njene senzorske kvalitete, koja se procjenjuje osjetilnim organima preko kojih razlikujemo boju, okus, miris i taktilni osjet. Oni imaju pravu fiziološku funkciju pošto stimuliraju apetit te efekt gratifikacije i čine hranu prihvatljivom. Proizvod se ponovno može prepoznati stimulacijom osjetilnih organa preko

hlapivih i nehlapivih spojeva u njemu. Oni daju spektar percepcija koje su zapamćene kao karakteristike proizvoda. Kod senzorske procjene kvalitete maslinovih ulja tako su važni boja, miris, okus, osjeti kao što su uljnost i fluidnost te osjeti kao što su npr. trpkost te oštrina okusa i mirisa (Angerosa i Campestre, 2013). U prošlom poglavlju spomenute su analitičke metode koje mogu odrediti te kvantificirati hlapive i nehlapive kemijske spojeve odgovorne za aromu maslinovog ulja. Međutim, činjenica da je ponekad skup spojeva odgovoran za jednu mirisnu notu arome umjesto principa jedan spoj – jedna mirisna nota, otežava analitičko povezivanje kemijskih spojeva i arome (Piggot, 1990). Unatoč tome, prema nekim istraživanjima (Angerosa i sur., 1996; Aparicio i Morales, 1994) bliska veza između hlapivih spojeva i poželjnih i nepoželjnih percepcija osjeta mirisa koristan su alat za opisivanje i kvantificiranje uljne arome. Nadalje, kvantitativno i kvalitativno određivanje hlapivih spojeva ne pruža potpunu informaciju o aromi ulja jer ono ne može prikazati i uračunati sve interakcije koje se događaju u olfaktornom sustavu ili između okusa i mirisa. Zbog kemijske kompleksnosti maslinovog ulja vjerojatno postoji niz interakcija kao što su interakcije između samih hlapivih spojeva, interakcije okusa s mirisom, boje s okusom i aromom te okusa s viskoznošću. Sve te kompleksne interakcije dovode do toga da određene senzacije potaknute nekim spojevima mogu biti potisnute, dok druge mogu biti pojačane. Također, treba napomenuti i da visoke koncentracije hlapivih spojeva nužno ne rezultiraju snažnim mirisom. Zaključno, unatoč napredcima u analitičkom polju, senzorska analiza je još uvijek najučinkovitiji način procjene razlika, kvaliteta i kvantiteta senzorskih stimulansa iz hrane te odluke jesu li oni poželjni i preferirani od strane ispitanika (Angerosa i Campestre, 2013).

Tijelo nadležno za provođenje službene kontrole senzorskih svojstava ovlašteno je od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, a predstavlja ga grupa od 8 do 12 osposobljenih ocjenjivača koja se naziva panel. Način degustacije i ocjenjivanja djevičanskih maslinovih ulja definiran je odredbama Međunarodnog vijeća za maslinu (IOC) (Pravilnik, 2009).

2.2. UPRAVLJANJE SIGURNOŠĆU HRANE

Hrana koja se stavlja na tržište mora biti sigurna za konzumaciju, dobre kvalitete te zdravstveno ispravna stoga je u prehrambenoj industriji uloženo puno napora u osiguravanje sigurnosti hrane i uspješnu implementaciju efikasnog upravljanja rizicima i kvalitetom (Zoroja i sur., 2017; Knežević i sur., 2013). Sigurnost hrane jedna je od najvažnijih stavki za proizvođače

hrane i krajnjeg potrošača u prehrambenom lancu. Međunarodna trgovina prehrambenim proizvodima konstantno se povećava te predstavlja novi izvor potencijalnih rizika u opskrbnom lancu hrane iz čega proizlazi opasnost za sigurnost hrane (Erceg, 2015). Tijekom proteklih nekoliko desetljeća došlo je do promjene u načinu na koji razmišljamo o sigurnosti hrane, pa je tako prevencija zamijenila kontrolu proizvoda na kraju proizvodnog procesa (van Asselt i sur., 2010). To se često karakterizira kao promjena od kontrole proizvoda ka kontroli procesa. Službene institucije i nadzorne inspekcije nisu više same nadležne za sigurnost hrane i kvalitetu proizvoda, već je glavna odgovornost na proizvođačima hrane (Knežević i sur., 2013). Također, problem sigurnosti hrane više se ne može odvojiti od sljedivosti, koja u principu znači praćenje fizičkog kretanja sirovina, međuproizvoda i gotovih proizvoda, uz odgovarajući tok podataka vezanih uz navedeno kretanje. Ti podatci se moraju spremati i pohraniti za kasnije korištenje kako bi se garantiralo podrijetlo ili proizvodne metode navedenog proizvoda kupcima (Zoroja i sur., 2017). Uz rastuću kompetitivnost i kompleksnost prehrambene industrije, povećavaju se i očekivanja kupaca (Bhatt i sur., 2016). Tako su kupci više uključeni u sigurnost i kvalitetu hrane te njihova sposobnost da verificiraju autentičnost, vrijednost, kvalitetu i sigurnost hrane povećava važnost sljedivosti i njezinog korištenja u prehrambenoj industriji (Zoroja i sur., 2017).

Privatni i javni sektor osiguravaju sigurnost hrane na nacionalnoj i međunarodnoj razini (Mensah i Julien, 2011; Traill i Koenig, 2010). Kao pionir u poticanju napretka u osiguranju sigurnosti hrane, privatni sektor ima i snažan utjecaj na sprječavanje kriza izazvanih neispravnom hranom te ublažavanje njihova utjecaja ako se one ipak pojave. Uz njega, u osiguranju sigurne hrane važna je i državna regulacija, odnosno kontrola službenih inspekcija (Knežević i sur., 2013). Što se Republike Hrvatske tiče, središnja državna tijela odgovorna za sigurnost, higijenu i kakvoću hrane i hrane za životinje kao i za organizaciju službenih kontrola te kontakt točka prema Europskoj komisiji temeljem odredbi Zakona o hrani (Zakon, 2023) jesu ministarstvo nadležno za poljoprivredu, ministarstvo nadležno za zdravstvo, Državni inspektorat te Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu.

Postoje dva paralelna sustava osiguravanja kvalitete i sigurnosti hrane u prehrambenim tvrtkama. Jedan je sustav organiziran od strane državnih institucija temeljen na propisima koji određuju načine uspostavljanja sustava kvalitete i obavljanja službenih kontrola. Drugi sustav osiguranja kvalitete je temeljen na normama definiranim i usvojenim od strane stranih međunarodnih udruženja. One su dobrovoljne i potpuno podložne tržišnim pravilima. Glavni ciljevi njihova uvođenja su učinkovito upravljanje kvalitetom i sigurnosti hrane u prehrambenoj

industriji, osiguranje zdrave hrane te rast povjerenja kupaca. To su sve preduvjeti za dugoročni opstanak na tržištu, dok one same pružaju okvir za uniformnost u zahtjevima, postupcima kod auditiranja te uzajamnog prihvaćanja audita kao i uspostavu povjerenja između trgovaca i proizvođača te potvrde sposobnosti i kompetentnosti dobavljača. Nacionalne aktivnosti vezane za normizaciju potiče i razvija Hrvatski zavod za normizaciju (HZN) kao nacionalno tijelo, dok se osiguranje sigurnosti hrane na hrvatskom tržištu sastoji od sljedećih dobrovoljnih dodatnih instrumenata: vodiča dobre praske, ISO normi, zahtjeva sustava upravljanjem kvalitetom, privatnih normi te vjerskih normi (Knežević i sur., 2013).

Što se tiče upravljanja kvalitetom proizvodnje maslinovog ulja, Međunarodno vijeće za maslinu izdalo je vodiče u tu svrhu za tu industriju. Tako je svrha vodiča (IOC, 2006) vezanog uz upravljanje kvalitetom u uljarama specificiranje pravila koje bi proizvođači trebali pratiti, a tiču se higijene, zaštite na radu, zaštite okoliša, identifikacije opasnosti, evaluacije kritičnih kontrolnih točaka, sljedivosti te kontrole kvalitete, postizanje generalne kvalitete u svrhu osiguranja kupčeve i potrošačke sigurnosti proizvedenog djevičanskog maslinovog ulja i osiguranja njegove kvalitete.

2.3. BLISKO-INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA

NIR spektroskopija je tehnika analiziranja uzorka koja se temelji na apsorpciji elektromagnetskog zračenja valne duljine u rasponu od 780 - 2500 nm. To zračenje, kao i sva ostala, ponaša se kao val te kada se njegova frekvencija izjednači s energijom vibrirajuće molekule događa se neto transfer energije. Taj transfer energije vrši se sa zračenja na molekulu te se može mjeriti kao omjer energije i valne duljine koji se naziva spektar. Atomi, koji u kompleksnim molekulama rade velike amplitudne pokrete, obično su limitirani na one sa specifičnom funkcionalnom grupom kao što je hidroksilna ili amino grupa, iako svaka frekvencija vibracija molekule generalno uključuje oscilaciju svih atoma. Iste funkcionalne grupe koje se pojavljuju u različitim molekulama imaju sličnu karakterističnu frekvenciju, a taj koncept karakteristične frekvencije grupe osnova je analize infracrvene spektroskopije kao i NIR spektroskopije. NIR spektar osim toga čine kombinacijske vrpce te overtoni (Osborne, 2006). Zbog preklapajućih vrpca sama informacija dobivena NIR spektroskopijom ne može uhvatiti sinergiju komponenata, kao ni identificirati prisutnost tih komponenata i interferenata. Međutim, primjenom kemometrije, kao diskriminatori mogu se koristiti male varijacije koje se akumuliraju kroz spektar (Folli i sur., 2022).

Za analizu ulja tradicionalno se koriste transmisijski i transfleksijski načini rada i odgovaraju specifičnim dizajnima kod rukovanja uzorcima. Važno je i napomenuti i da kraće NIR valne duljine penetriraju duboko u uzorak te je stoga moguće dobiti spektralne podatke iz uzoraka većeg promjera (npr. 1-5 mm). Uz to, klasični kristalni te kvarcni materijali ne apsorbiraju svjetlost u NIR regiji (García-González i sur., 2013). Za dobivanje spektra tekućina te viskoznih tvari koristi se transmisijska ćelija. Uzorak se smješta između izvora i detektora kako bi se dobilo transmisijsko mjerenje. Prostor u koju se smješta uzorak dizajniran je da ima konstantnu debljinu, a transmisijska ćelija obično se sastoji od dva kristalna prozora odijeljena razmaknicama različitih debljina te kvarcne kivete fiksne debljine (npr. 1-5 mm) ili jednokratnih vijala fiksne širine (Williams, 2001). Kod instrumenata dizajniranih da prikupljaju spektre refleksije (npr. instrumenti kod kojih je izvor i detektor na istoj strani) koriste se transfleksijske ćelije. Klasična izvedba transfleksijske ćelije jest aluminijska čaša prekrivena kliznim staklom (kvarc ili kristal) koja ima zlatnu pločicu kao reflektor. Tako energija zračenja prolazi kroz uzorak jednom, odbija se od zlatnog reflektora te prolazi drugi put kroz uzorak na putu do detektora (García-González i sur., 2013). Što se tiče same izvedbe spektrometara oni mogu biti laboratorijski, procesni analizatori u proizvodnji ili prijenosni (ručni). Visoka osjetljivost te pouzdanost izmjerene vrijednosti zahtjevi su za instrumente koji se koriste u laboratoriju. Kod njih je manje bitan parametar sama brzina, a primjenjuju se za razvoj metoda, kao i u kontroli kvalitete ulaznih sirovina i gotovog proizvoda. Zahtjev za procesne analizatore jest da su brzi, robusni, bez dijelova koji se pokreću i neosjetljivi na vanjske vibracije. Naime, vanjski parametri kao što su temperatura, vlaga i vibracije potrebno je kontrolirati jer izgled spektra ovisi i o njima. Prijenosni NIR instrumenti vrlo malih dimenzija koriste se za brzu identifikaciju sirovina u skladištu ili u svrhu detektiranja krivotvorenih lijekova (Alcalà i sur., 2013; Bondi i sur., 2012).

Brojne prednosti korištenja NIR-a nad drugim metodama kao što su brzina mjerenja, dobro razvijena oprema i uređaji, nedostatak potrebe za pripremom uzorka te simultana analiza više parametara povećavaju njegovo korištenje u industriji biljnih ulja (Casale i Simonetti, 2014). Tako, kada se uspoređi NIR spektroskopija s infracrvenom spektroskopijom (IR), glavna prednost NIR-a je već navedena mala ili nikakva potreba za pripremom uzorka te brza analiza. Apsorbancija u NIR spektru generalno prati Lambert/Beerov zakon, odnosno povećava se linearno s koncentracijom pa je moguće analizirati skupne uzorke bez potrebe za razrjeđenjem ili drugim složenim pripremanjima uzoraka. Kada se to uzme u obzir, NIR spektroskopija daje rezultate koji su reprezentativniji u odnosu na rezultate dobivene drugim analitičkim

metodama. Za razliku od drugih analitičkih metoda, NIR je metoda koja je brza, ne destruktivna, ne koristi kemikalije i ne proizvodi kemijski otpad koji je potrebno zbrinuti. Također, simultano se mogu odrediti više konstituenta ili parametara i sami uređaji mogu se lako transportirati te je na njima moguće analizirati u raznim okruženjima. NIR instrumentima je također jednostavno za upravljati čak i ljudima koji nisu kemijske ili biokemijske struke jer ne sadrži dodatnu opremu koju je potrebno znati koristiti, a i sama metoda ima bolju reproducibilnost od primarne referentne metode (Badr Eldin, 2011). Još jedna pogodnost korištenja NIR instrumenata je da se zbog slabe apsorpcije vode i stakla mogu koristiti za snimanje spektara vodenih otopina u staklenim reaktorima, bez potrebe za korekcijom pozadinskog signala (Jednačak i Novak, 2013). Novija, snažna kompjuterska tehnologija te kemometrijski softveri napravili su NIR spektroskopiju praktičnim izborom za većinu primjena. Tako njena primjena postaje sve popularnija proteklih godina zbog mogućnosti da se brzo dođe do kvantitativne i kvalitativne informacije o mnogim proizvodima, pogotovo sirovinama (Badr Eldin, 2011).

Robusne kalibracije i transfer modela između instrumenata glavni su nedostaci korištenja NIR analize (Casale i Simonetti, 2014). NIR spektroskopija nije tehnologija koja se može koristiti sama neovisno o drugim analitičkim metodama jer joj preciznost ovisi o preciznosti korištene referentne metode. Također, za svaki konstituent ili parametar potrebna je zasebna kalibracija te se dijelovi nepoznatog uzorka moraju periodički analizirati putem referentne metode kako bi se osiguralo da je kalibracija konstantno pouzdana. U početnoj fazi korištenja instrumenta moguće je da bude potrebno ažurirati kalibraciju nekoliko puta kako bi se inkorporirali „vanjski“ uzorci, sve dok sama kalibracija nije prihvatljiva (Badr Eldin, 2011). Također, vrpce u NIR spektrima manje su informativne od onih dobivenih IR spektrima, a u mnogim slučajevima dolazi i do njihova preklapanja, stoga je dobivene podatke potrebno obraditi multivarijantnim metodama analize (Jednačak i Novak, 2013). Što se tiče samog uzorka, za potrebe kalibracije količina analita u njemu mora biti iznad limita detekcije metode te mora imati dovoljnu varijabilnost. Kada govorimo o limitu detekcije, za neke analite, npr. vodu, on se može mjeriti u ppm-ovima, dok za većinu analita on nominalno iznosi 1% i više (Badr Eldin, 2011). Također, većina objavljenih istraživanja o NIR-u provedena je na laboratorijskoj razini izvan samih uljara, dok je svega nekoliko primjena realizirano tijekom same proizvodnje maslinovog ulja. Stoga je potrebna bliska suradnja između istraživačkih skupina i industrije kako bi se NIR spektroskopija primijenila u ovom sektoru (Casale i Simonetti, 2014).

Kod provjere autentičnosti raznih prehrambenih proizvoda bitno je odrediti je li uzorak

izvoran u smislu svojeg opisa koji uključuje i njegovo geografsko podrijetlo. Primjena NIR spektroskopije kod takve provjere bazira se na principu usporedbe spektra uzorka s bazom referenci. Ta baza referenci trebala bi sadržavati primjere poznatih autentičnih te krivotvorenih uzoraka. U najjednostavnijem slučaju pitanje je pripada li testni uzorak određenoj skupini kao autentičan ili ne autentičan. Međutim, često je potrebno uzorak klasificirati unutar serije mogućih razreda, odrediti određenu vrstu krivotvorenja ili kvantificirati krivotvorenje (Osborne, 2006).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Osnovni cilj ovog istraživanja je detekcija patvorenog maslinovog ulja primjenom kolorimetrije, konduktometrije te NIR spektroskopije. U tu svrhu ispitano je devet uzoraka ulja od kojih su šest bila maslinova, jedno suncokretovo te dvije mješavine maslinovog i suncokretovog ulja. Maslinovim uljima dodavalo se do 15 % suncokretovog ulja, a samo za jedan uzorak (uzorak ZE) radila su se i razrjeđenja od 85 % do 99 %. Ukupan broj analiziranih razrijeđenih i nerazrijeđenih uzoraka ulja iznosio je 49, a uzorci su se označavali metodologijom prikazanom u tablici 1.

Tablica 1. Korištene oznake u označavanju uzoraka

OZNAKA	POJAŠNENJE
X, Y, Z, R, O	maslinovo ulje
E	ulje deklarirano kao ekstra djevičansko
S	suncokretovo ulje
M ili m	mješavina ulja
n	nefiltrirano ulje
f	ulje filtrirano kroz filter papir
1, 2, ...	udio dodanog suncokretovog ulja

Tablica 2 predstavlja detaljan nutritivan sastav preuzet s deklaracija ulja. Za ulja označena OEn, OEf i R deklaracija nije bila dostupna.

Tablica 2. Nutritivna deklaracija ispitivanih ulja

NUTRITIVNA VRIJEDNOST NA 100 g								
	XE	YE	ZE	OEn*	OEf*	R*	S	ZM
Energetska vrijednost (kcal/kJ)	899 / 3696	884 / 3695	819 / 3367	/	/	/	828 / 3404	828 / 3404
Masti (g)	99,9	100	91	/	/	/	92	92
od kojih ZMK [#] (g)	15,4	14	14	/	/	/	11	11
Ugljikohidrati (g)	0	0	0	/	/	/	0	0
od kojih šećeri (g)	0	0	0	/	/	/	0	0
Bjelančevine (g)	0	0	0	/	/	/	0	0
Soli (g)	0	0	0	/	/	/	0	0
Vitamin E (mg)	/	/	/	/	/	/	46	37

*ulja bez deklaracije; [#] zasićene masne kiseline

3.2. METODE

3.2.1. Kolorimetrija

Kolorimetrijsko određivanje boje ulja provedeno je korištenjem PCE Instruments kolorimetra. Također, korišten je CIELAB (franc. *Commission Internationale de l'Éclairage LAB*) prostor boje koji je prikazan na slici 1.

Razlike ΔL^* , Δa^* i Δb^* odražavaju koliko se ispitni uzorak razlikuje od standarda, a zatim se na temelju tih vrijednosti izračunava ΔE^* prema sljedećoj formuli:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{\frac{1}{2}}$$

gdje je ΔE^* ukupna razlika boja, ΔL^* razlika u svjetlini između ispitivanog uzorka i standarda, Δa^* i Δb^* razlike u kromatičnosti između ispitivanog uzorka i standarda (Strgar Kurečić, 2013).

Odstupanje između dvije boje može se ocijeniti prema sljedećim kriterijima za vrijednost ΔE^* : $\Delta E^* < 0,2$ razliku između boja nije moguće uočiti, $\Delta E^* = 0,2 - 1$ razlika se primjećuje, $\Delta E^* = 1 - 3$ razlika se vidi, $\Delta E^* = 3 - 6$ razlika se dobro vidi te $\Delta E^* > 6$ odstupanje boja je očigledno (Schläpfer, 1993).

Postupak kolorimetrijskog određivanja parametara boje provodio se tako što su se uzorci ulja ulijevali u kivete nakon čega se jedna po jedna kiveta unosila u tamnu komoru prethodno kalibriranog kolorimetra (kalibracija na crnu boju). Pritiskom na tipku koja se nalazi na kućištu uzorak se snimio te su se na zaslonu prikazale vrijednosti L^* , a^* , b^* , C^* i h^* . Za svaki uzorak radila su se po dva mjerenja čiji su se rezultati zatim bilježili u tablici u Microsoft Excel programu.

3.2.2. Vodljivost i ukupne otopljene tvari

Za mjerenje električne vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari (engl. *Total Dissolved Solids, TDS*) korišten je Mettler Toledo SevenCompact S230 konduktometar. Mjerenja su se provodila tako što se sonda uređaja uronila u kivetu u kojoj se nalazio uzorak ulja te su se zatim očitavali rezultati koji su za električnu vodljivost bili izraženi u $\mu\text{S}/\text{cm}$, a za TDS u mg/L . Za svaki uzorak radila su se tri paralelna mjerenja. Rezultati svih mjerenja bilježeni su u tablicu u Microsoft Excel programu te su se za svaki uzorak izračunale srednja vrijednost i standardna devijacija.

3.2.3. Senzorska analiza

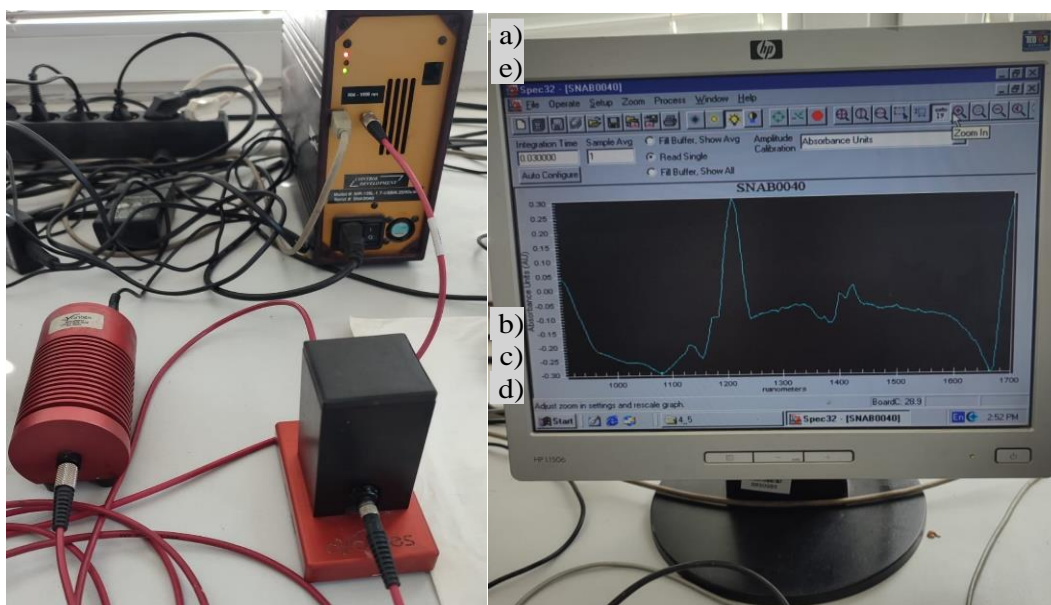
Senzorska analiza analitički je postupak koji koristi ljudska osjetila mirisa i okusa kao detektore za utvrđivanje organoleptičkih svojstava.

U ovom istraživanju proveden je test preferenci gdje su dva korisnika na skali od -5 do 5 ocjenjivali i direktno suprotstavljali čiste uzorke ulja s uzorkom koji je uzet kao standard (uzorak ZE). Uzorku ZE pridružena je vrijednost 0, a ulja su se uspoređivala tako što je negativna vrijednost označavala negativno odstupanje, a pozitivna pozitivno odstupanje od standarda. Također, što je vrijednost veća ili manja od nule, to je razlika između uspoređivanih uzoraka veća. Osim testa preferenci na skali od 0 do 10 ocjenjivana su i svojstva mane, voćnosti, gorčine i pikantnosti, a na skali od 1 do 5 sveukupni dojam o mirisu i okusu. Svaki korisnik bilježio je svoje rezultate u odgovarajuće tablice (prilog 1 i 2), nakon čega su ti podaci uneseni u Microsoft Excel program te prikazani grafički.

3.2.4. NIR spektroskopija

3.2.4.1. Laboratorijski NIR uređaj

Na NIR spektrometru Control Development, Inc., modelu NIR-128-1.7-USB/6.25/50 μ m, koristeći računalo na kojem je instaliran Control Development softver Spec32, snimljeni su NIR spektri svih uzoraka ulja u opsegu valnih duljina od 904 nm do 1699 nm (slika 2). Uzorci su snimani u kivetama, a apsorpcijski spektar za svaki uzorak sniman je u triplikatu. Kivete s uzorcima ulja jedna po jedna smještene su u tamno kućište za snimanje uzoraka te poklopljene kako bi se uzorci zaštitili od okolne svjetlosti. Dobiveni spektri pohranili su se kao datoteke na računalo. Datoteke su zatim prebačene u Microsoft Excel program gdje je za svaki uzorak izračunata srednja vrijednost.

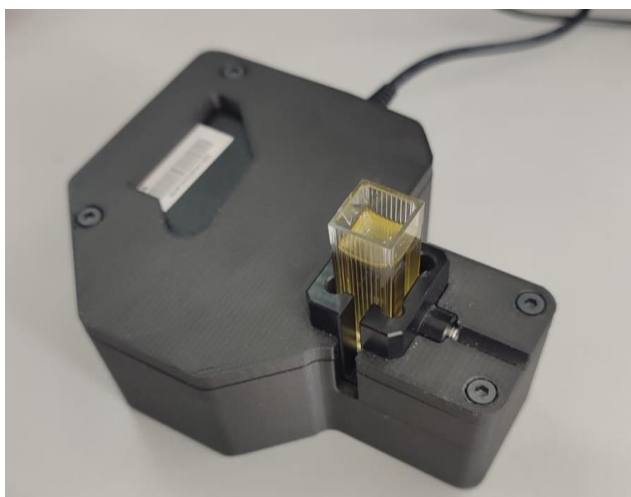


Slika 2. Laboratorijski NIR uređaj povezan s računalom

a) NIR uređaj, b) izvor svjetlosti, c) optički kabel, d) kućište za snimanje uzoraka u kiveti, e) računalno s instaliranim Spec32 softverom (*vlastita fotografija*)

3.2.4.2. Prijenosni NIR uređaj

Uzorci ulja snimani su i prijenosnim NIR spektrometrom (mikro-NIR, NIR-S-T2, InnoSpectra Corporation, Kina) u rasponu valnih duljina od 900 do 1700 nm. Uzorci su se također snimali u kivetama koje su postavljene u prijenosni uređaj (slika 3). Podaci su se prvo pohranili kao datoteke na računalu (u programu ISC-NIRScan, InnoSpectra Corporation, Kina) koje je povezano s NIR uređajem, nakon čega su prebačene u Microsoft Excel program.



Slika 3. Prijenosni NIR uređaj (*vlastita fotografija*)

3.2.5. Obrada podataka

Svi podaci koji su dobiveni eksperimentalno primjenom kolorimetrijske, konduktometrijske, NIR spektroskopske ili senzorske analize obrađeni su korištenjem Microsoft Excel 365. U svim analizama su za sve uzorke za koja su postojala paralelna mjerenja izračunate srednje vrijednosti, a podaci o spektrima dobivenim NIR spektroskopijom obrađeni su XLSTAT programom za MS Excel. Za razvijanje modela korištene su kemometrijske multivarijatne metode analize. Analiza glavnih komponentata (engl. *Principal Components Analysis, PCA*) omogućuje analizu te grupiranje podataka prema sličnostima ili razdvajanje prema različitostima bez postavljenog fizičkog modela. Za NIR spektre su iz cijelog spektra izdvojeni podaci apsorpcije pri valnim duljinama koje su izdvojene kao značajne (VIP u rasponu od 0,8 do 1), primjenom parcijalne diskriminantne analize metodom najmanjeg kvadrata (engl. *Partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA*). Reducirani broj valnih duljina s pripadnim apsorpcijskim vrijednostima pridružen je ostalim podacima mjerenima za ulja i njihove različite smjese te je provedena parcijalna regresijska metodom najmanjeg kvadrata (engl. *Partial least squares regression, PLS*). Pomoću PLS regresije izrađeni su modeli predikcije udjela suncokretovog ulja, parametara boje, električne vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari, senzorskih karakteristika te sastava masnih kiselina. Koeficijentom determinacije (R^2) ocijenjena je reprezentativnost dobivenih modela.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Osnovni cilj ovog istraživanja je primjena blisko-infracrvene spektroskopije u detekciji kvalitete i autentičnosti maslinovog ulja, odnosno izrada kalibracijskih modela koji bi se mogli koristiti za predikciju kvalitete i sastava maslinovog ulja u svrhu detektiranja patvorina. Korišteni su laboratorijski i prijenosni NIR spektrometar, a uz snimanje NIR spektara uzorcima su kolorimetrijski određivani parametri boje, konduktometrijski električna vodljivost i ukupne otopljene tvari te senzorskom analizom karakteristična svojstva gorčine, pikantnosti, voćnosti te ukupan dojam o mirisu i okusu uzoraka ulja. Za detekciju kvalitete uspoređivano je sedam maslinovih, jedno suncokretovo te dvije mješavine maslinovog i suncokretovog ulja, a u svrhu određivanja mogućnosti detekcije patvorina maslinovim uljima se dodavalo suncokretovo u udjelima od 5 %, 10 % i 15 %. Uzorak označen kao ZE razrjeđivan je suncokretovim uljem u svim udjelima od 1 do 10 % i od 88 do 99 % te udjelima od 15 % i 85 %.

Rezultati su podijeljeni u četiri potpoglavlja. U prvom potpoglavlju nalaze se rezultati boje i vodljivosti gdje se tablica br. 3 te slike od 4 do 8 odnose na rezultate boje, a tablica br. 4 te slike 9 i 10 na rezultate električne vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari (TDS). Sljedeće potpoglavlje odnosi se na analizu senzorskih karakteristika ulja i tu su rezultati prikazani kroz tri grafa (slika 11, 12 i 13) te jednom tablicom (tablica 5). Zatim su na slici br. 14 i 15 prikazani apsorpcijski spektri snimljeni laboratorijskim i prijenosnim NIR uređajem. Posljednje potpoglavlje odnosi se na kemometrijsku analizu uzoraka te je podijeljeno na dva dijela, rezultate analize glavnih komponenata (PCA) i rezultate parcijalne regresijske analize metodom najmanjih kvadrata (PLS regresija). PCA je provedena za spektre laboratorijskog i prijenosnog NIR uređaja kako bi se utvrdilo mogu li se uzorci na temelju tih podataka grupirati prema međusobnim sličnostima ili razlikama, a za to su korištene srednje vrijednosti izmjerenih spektra (slika 16 do 19). Također, za oba NIR uređaja je provedena po jedna PCA analiza kako bi se utvrdilo grupiranje podataka prema izvornim NIR spektrima i sastavu masnih kiselina (slika 20 i 21). PLS regresija je korištena za izradu kalibracijskih modela za predikciju udjela suncokretovog ulja, parametara boje, električne vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari, senzorskih karakteristika te sastava masnih kiselina (slika 22 do 34).

4.1. ANALIZA REZULTATA BOJE I VODLJIVOSTI UZORAKA ULJA

4.1.1. Rezultati boje

Za karakterističnu zelenu boju maslinovog ulja zaslužan je zeleni pigment klorofil. Prisutan je kao sivozeleni klorofil a i žutozeleni klorofil b, zajedno s feofitinom a i feofitinom b koji su razgradni produkti klorofila i koji imaju smeđu boju. Osim klorofila, boji pridonose i karotenoidi od kojih su najznačajniji β -karoten, likopen i ksantofil (Žanetić i Gugić, 2006). Boja kao jedna od osnovnih karakteristika kvalitete maslinovog ulja varirat će ovisno o boji plodova koji se koriste u proizvodnji, postupku proizvodnje te načinu skladištenja. Boja i karakteristike plodova određeni su sortom i zrelosti plodova, ali i podnebljem i okolišnim uvjetima u kojima je biljka rasla (Gandul-Rojas i sur., 2000).

Čistim uzorcima ulja su s dva ponovljena mjerenja kolorimetrom određeni parametri boje nakon čega su dobivene vrijednosti statistički obrađene i ti podaci nalaze se u tablici 3. Na slici 4 prikazana je 3D raspodjela nerazrijeđenih uzoraka prema L^* , a^* i b^* parametrima boje, gdje brojevi 1 i 2 iza svakog uzorka označavaju broj ponovljenog mjerenja, a broj 3 srednju vrijednost tih mjerenja. Za sve razrijeđene uzorke također su rađena dva paralelna mjerenja, a dobivene srednje vrijednosti parametara boje korištene su za računanje njihove razlike boje (ΔE) u odnosu na isti nerazrijeđeni, tj. čisti uzorak. Ti rezultati prikazani su na slikama 5, 6 i 7. Za razrijeđenja uzorka ZE vrijednosti parametara boje L^* , a^* i b^* dodatno su obrađeni metodom analize glavnih komponenata (PCA) koja omogućuje da se analizirani uzorci grupiraju prema sličnostima te razdvajaju prema različitostima (slika 8).

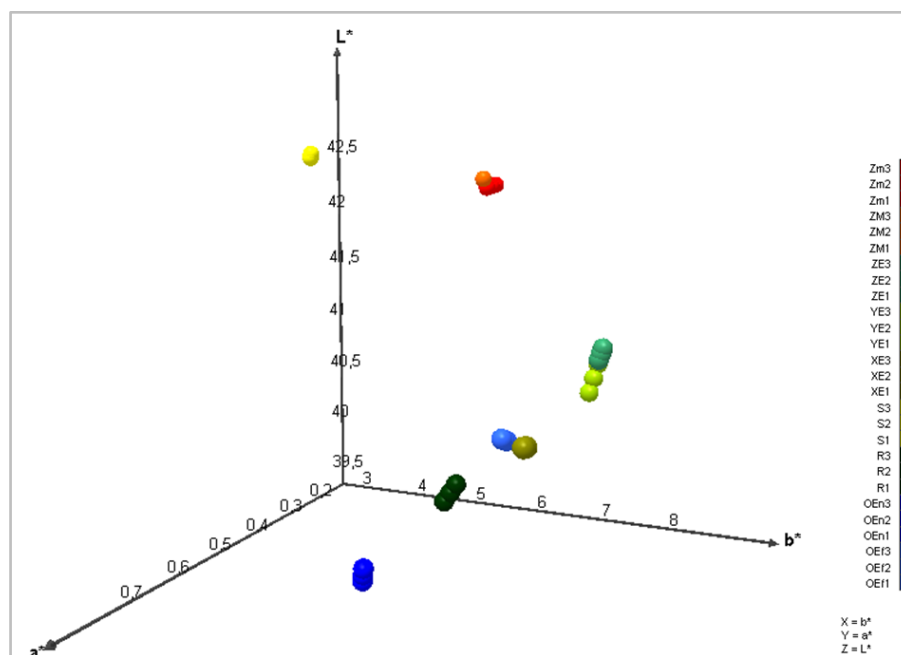
Tablica 3. Prosječne vrijednosti parametara boje s pripadnim standardnim devijacijama uz oznake statistički značajnih razlika među nerazrijeđenim uzorcima

Uzorci	Promatrani parametri boje				
	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
XE	$40,8 \pm 0^a$	$0,7 \pm 0^a$	$7,5 \pm 0^a$	$7,6 \pm 0^a$	$84,9 \pm 0^a$
YE	$40,9 \pm 0,1^a$	$0,4 \pm 0^b$	$7,5 \pm 0^a$	$7,5 \pm 0^a$	$86,9 \pm 0,1^b$
ZE	$41,2 \pm 0,1^b$	$0,5 \pm 0^b$	$7,8 \pm 0^b$	$7,8 \pm 0^b$	$86,4 \pm 0^b$
OEn	$39,8 \pm 0,1^c$	$0,7 \pm 0^a$	$5,8 \pm 0^c$	$5,8 \pm 0^c$	$83,2 \pm 0^c$
OEf	$40,7 \pm 0^a$	$0,6 \pm 0^b$	7 ± 0^b	$7,1 \pm 0^c$	$85,2 \pm 0,1^b$
R	$40,3 \pm 0,1^c$	$0,6 \pm 0^b$	$6,4 \pm 0,1^c$	$6,4 \pm 0,1^c$	$84,8 \pm 0^a$
S	$42,5 \pm 0^d$	$0,3 \pm 0^c$	$3,2 \pm 0^d$	$3,3 \pm 0^d$	$84,6 \pm 0^c$
ZM	$42,3 \pm 0^d$	$0,2 \pm 0^d$	$5,4 \pm 0^c$	$5,4 \pm 0^c$	$87,9 \pm 0^b$
Zm	$42,2 \pm 0^d$	$0,2 \pm 0^d$	$5,4 \pm 0^c$	$5,4 \pm 0^c$	$88,2 \pm 0,2^b$

Različita slova u promatranom stupcu ukazuju na statistički značajne razlike ($p < 0,01$)

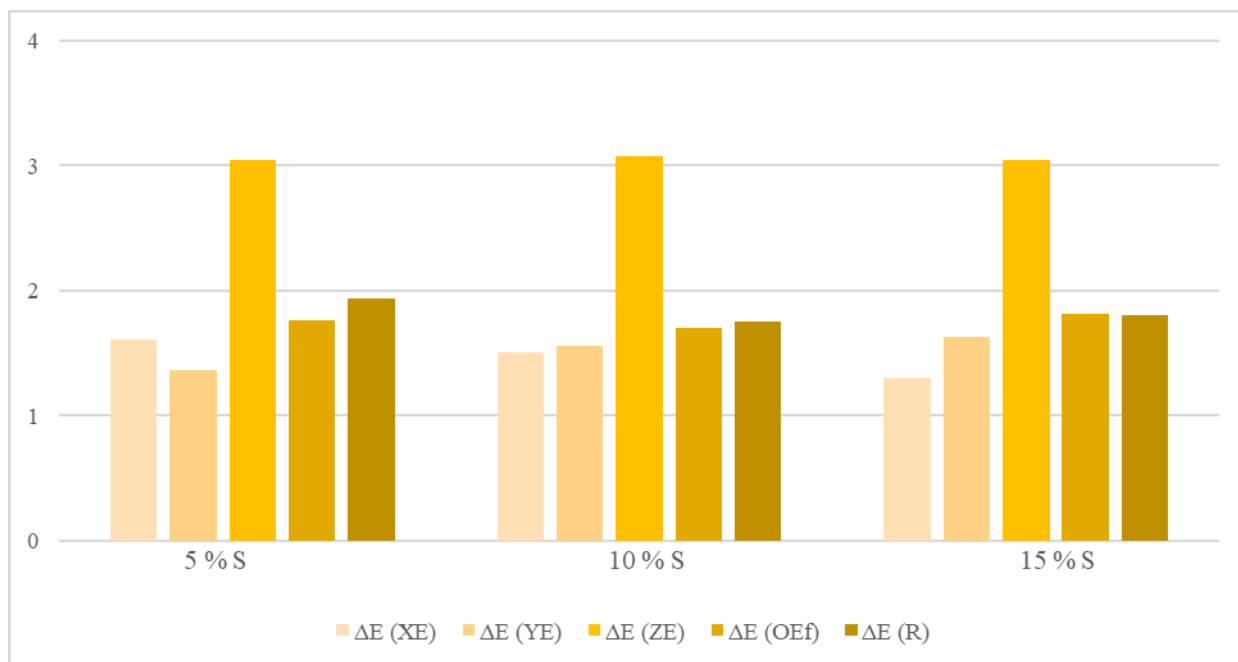
Prema standardnim devijacijama prikazanim u tablici 3 čini se kako nema odstupanja u mjerenim parametrima boje, međutim, to nije točno, zbog prikaza rezultata s jednim decimalnim mjestom – ta odstupanja nisu vidljiva (npr. uzorak XE za parametar h^* ima standardnu devijaciju 0,014). Iz tablice 3 je prema slovima u gornjem indeksu vidljivo da postoje statistički značajne razlike među pojedinim uzorcima ulja. Očekivano, obzirom da je riječ o drugoj vrsti biljnog ulja, najveća razlika za sve parametre boje je između uzorka označenog slovom S (suncokretovo ulje) te svih uzoraka čistih maslinovih ulja. Mješavine maslinovog i suncokretovog ulja označene kao ZM i Zm predstavljaju dvije šarže s jednakim udjelima ova dva ulja pa se njihove vrijednosti promatranih parametara boja statistički značajno ne razlikuju. U tim mješavinama prevladava suncokretovo ulje pa je zbog toga razlika između tih uzoraka i uzorka S manja nego razlika između maslinovih ulja i navedenih mješavina. Također, za parametar boje L^* koji označava svjetlinu niti ne postoji statistički značajna razlika između mješavina i suncokretovog ulja.

Statistički značajna razlika u parametrima boje uočena je i između uzoraka OEn i OEf. Riječ je o istoj vrsti maslinovog ulja, međutim uzorak OEf je filtriran, a OEn nije. Ovakvi rezultati su u skladu s rezultatima koje su dobili Jabeur i sur. (2016) koji navode kako filtracijom dolazi do porasta L^* i b^* vrijednosti te smanjenja a^* vrijednosti. Porast L^* vrijednosti vjerojatno je posljedica uklanjanja suspendiranih tvari i biljne vode, dok se smanjenje a^* vrijednosti i porast b^* vrijednosti očituju kao žuća i svjetlije zelena boja filtriranog ulja.



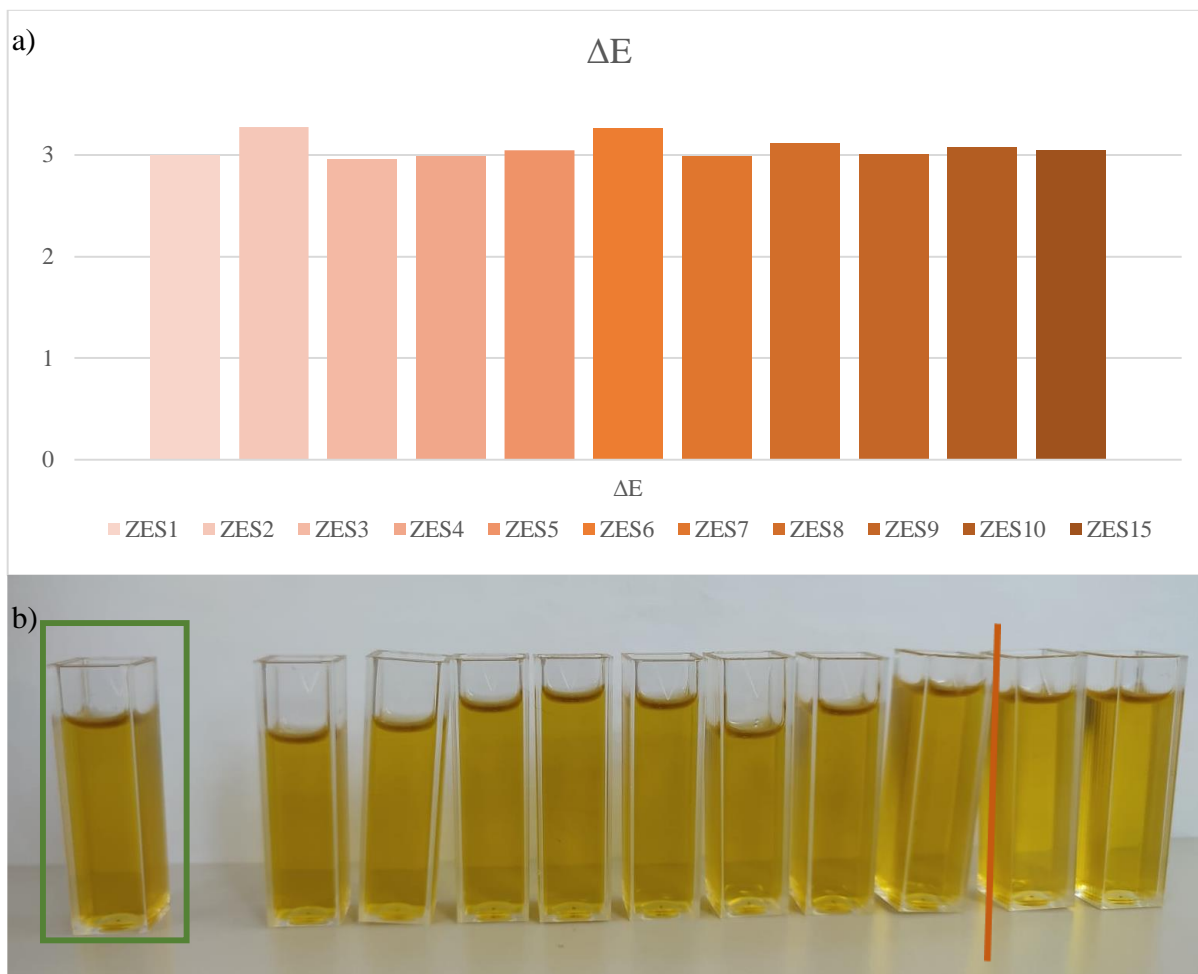
Slika 4. 3D prikaz raspodjele nerazrijeđenih uzoraka prema $L^*a^*b^*$ parametrima boje

Slika 4 prikazuje raspodjelu nerazrijeđenih uzoraka u trodimenzionalnom prostoru. Uzorci ZM i Zm nalaze se najbliže jedan drugome te su prema parametru L^* i a^* najbliže uzorku S. Uzorci Oef i XE se u 3D grafu nalaze blizu jedni drugima, isto kao i uzorci YE i ZE, što ukazuje na sličnosti u vrijednostima L^* , a^* i b^* parametara boje između tih uzoraka.



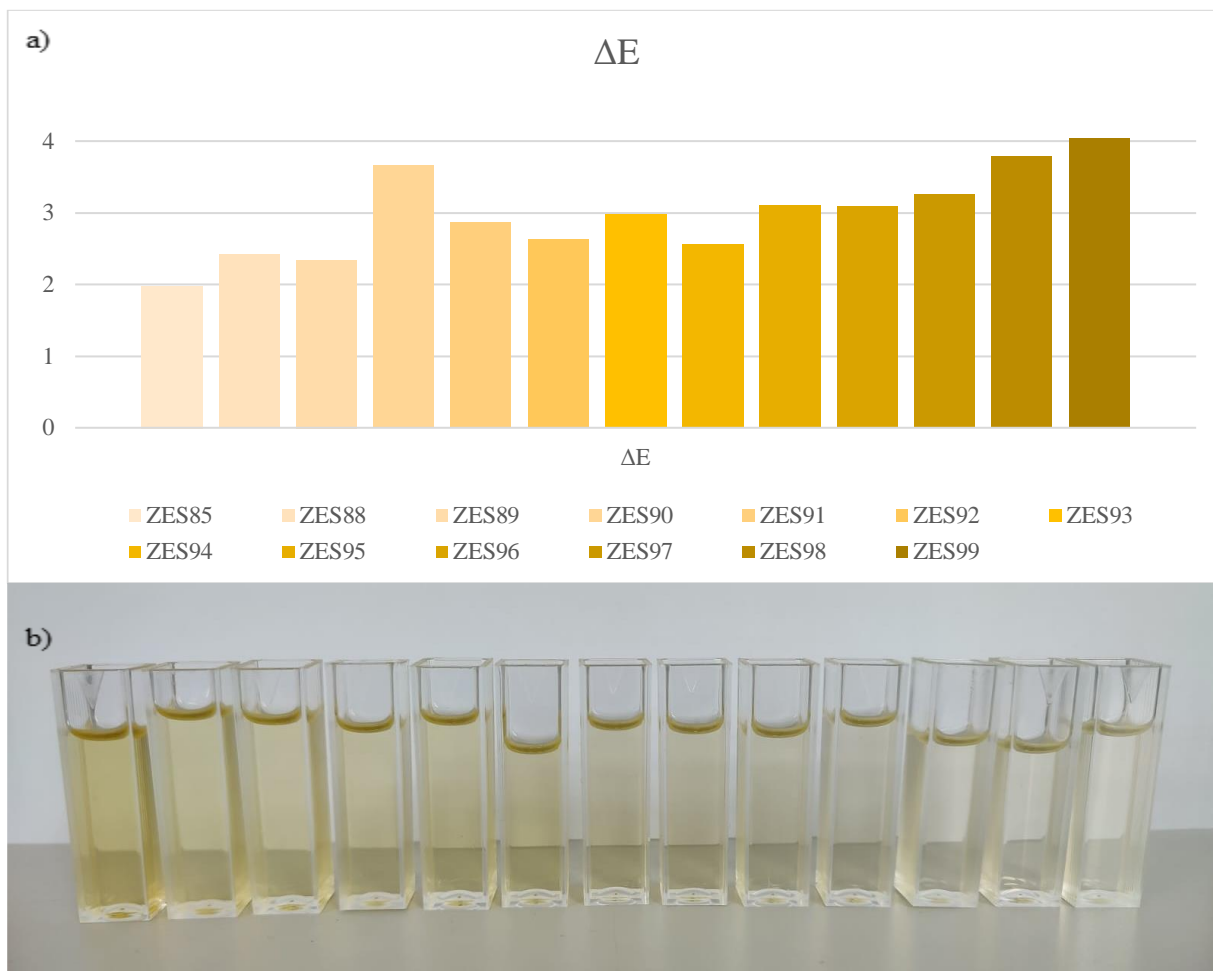
Slika 5. Razlika boje (ΔE) za promatrane uzorke maslinovog ulja (XE, YE, ZE, Oef te R) i pripadnih razrjeđenja sa suncokretovim uljem u udjelu 5 %, 10 % i 15 %

Iz rezultata prikazanih na slici 5 može se vidjeti kako je razlika boje (ΔE) vidljiva za sve uzorke maslinovih ulja pri razrjeđenjima sa suncokretovim uljem od 5, 10 ili 15 %. Za uzorke XE, YE, Oef i R vrijednost ΔE se nalazi između 1 i 2, što prema kriterijima za vrijednost ΔE (Schläpfer, 1993) označava razliku boje koja se vidi, dok se ΔE vrijednost uzorka ZE za sva tri razrjeđenja nalazi oko 3, što bi prema tim istim kriterijima označavalo razliku boje koja se dobro vidi. Na slici se također može uočiti kako vrijednosti ΔE kod svakog razrjeđenja prate određeni trend, s izuzetkom za razrjeđenje od 5 % gdje uzorak XE ima veću razliku boje od uzorka YE. Razlog tome, kao i odskakanju uzorka ZE od ostalih, mogla bi biti neravnomjerna izmiješanost uzoraka prilikom mjerenja parametara boje kolorimetrom.



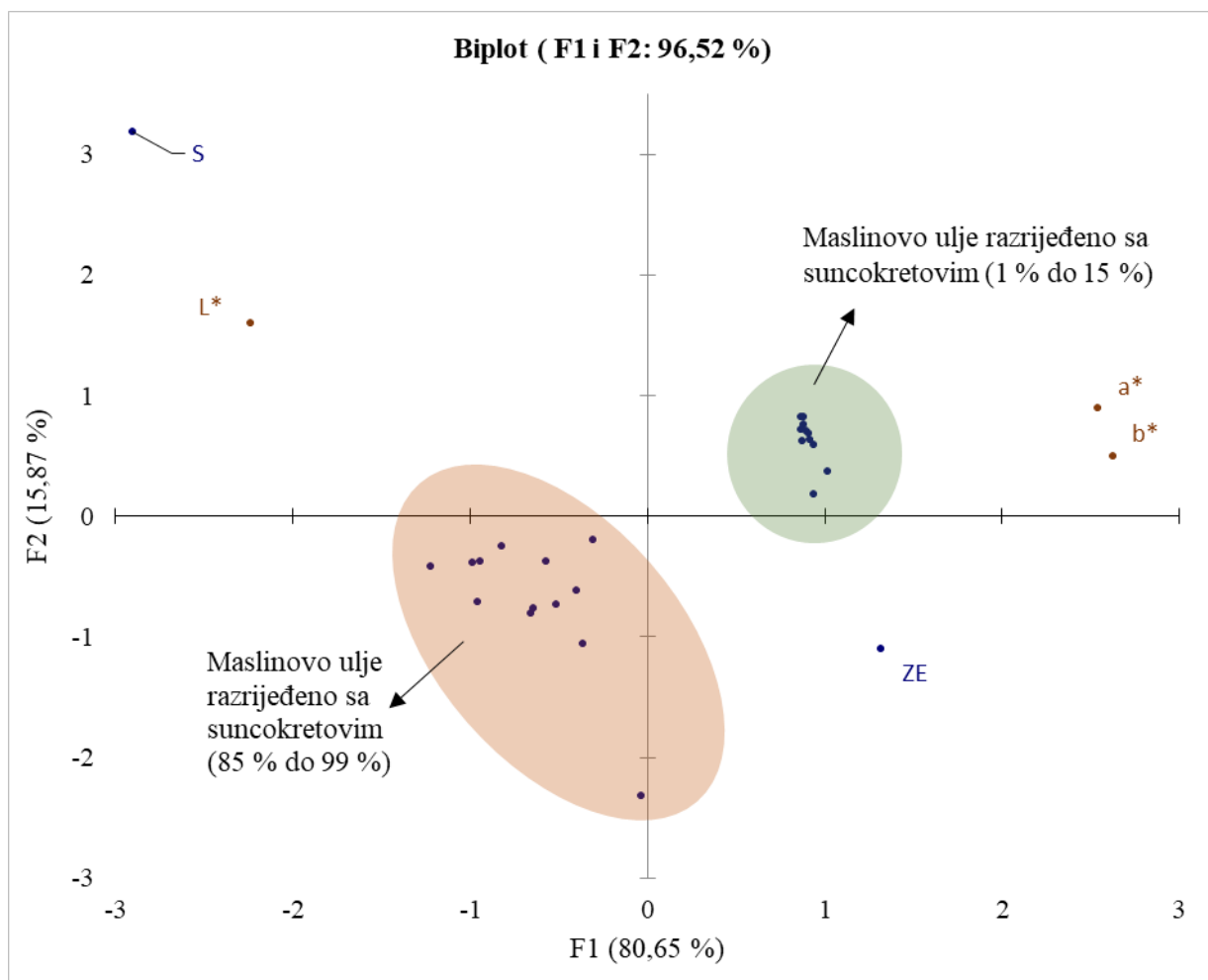
Slika 6. a) razlika boje (ΔE) za izabrani uzorak maslinovog ulja (ZE) koji je razrjeđivan sa suncokretovim uljem u udjelu od 1 % do 15 %, b) uzorci maslinovog ulja uzorka ZE razrjeđivani sa suncokretovim uljem u udjelu od 1 % do 10 %

ΔE vrijednost za sva razrjeđenja ZE uzorka od 1 % do 15 % iznosi otprilike 3, što kao što je već prethodno spomenuto, označava razliku boje koja se dobro vidi (slika 6a). Zelenim pravokutnikom označen je nerazrjeđeni uzorak ZE prema kojemu su se računale ΔE vrijednosti za sva razrjeđenja, a vertikalnom narančastom linijom označeno je mjesto gdje se razlika u boji vidjela kod eksperimentalnih uzoraka u kivetama (slika 6b). Iako izračunate vrijednosti ΔE sugeriraju dobro uočljivu razliku između uzorka ZE i svakog njegovog razrjeđenja, na uzorcima u laboratoriju razlika među uzorcima se mogla uočiti tek nakon razrjeđenja od 9 %.



Slika 7. a) razlika boje (ΔE) za izabrani uzorak maslinovog ulja (ZE) koji je razrjeđivan sa suncokretovim uljem u udjelu od 85 % do 99 %, b) uzorci maslinovog ulja uzorka ZE razrjeđivani sa suncokretovim uljem u udjelu od 85 % do 99 %

Za razrjeđenja maslinovog ulja suncokretovim od 85 % do 99 % ΔE vrijednost se nalazi između 2 i 4 te generalno pokazuje rastući trend s porastom udjela ulja. Najmanju vrijednost ima uzorak s 85 % suncokretovog ulja, a najveću onaj s 99 %. Takav rezultat je očekivan s obzirom na to da se ΔE vrijednost izračunavala prema nerazrjeđenom ZE uzorku. Uzorak ZES90 najviše odstupa u ΔE vrijednosti (slika 7a), međutim, razlog tome vjerojatno je loša izmiješanost uzorka. Najuočljivija razlika u boji je između prve i druge kivete s lijeve strane (slika 7b), odnosno između uzorka s 85 % i 88 % suncokretovog ulja. Za ostale uzorke teško je odrediti granicu gdje se vidi jasna razlika između dva susjedna razrjeđenja.



Slika 8. Raspodjela uzoraka maslinovog ulja (ZE) koje je razrijeđivano sa suncokretovim uljem (od 1 % do 15 % te od 85 % do 99 %) prema $L^*a^*b^*$ parametrima boje primjenom analize glavnih komponenata

Podaci o L^* , a^* i b^* parametrima boje dodatno su obrađeni metodom analize glavnih komponenata gdje su uzorci grupirani prema svojim sličnostima, odnosno razdvojeni prema međusobnim različitostima (slika 8). Glavne komponente F1 i F2 objašnjavaju 96,52 % varijance između podataka svih uzoraka, a radi lakšeg vizualnog razlučivanja razrijeđeni uzorci maslinovog ulja označeni su različitim bojama ovisno o udjelu dodanog suncokretovog ulja. Iz slike je vidljivo da su se razrijeđeni i nerazrijeđeni uzorci razdvojili u različite kvadrante. Također su se uzorci različito grupirali ovisno o dodanom udjelu suncokretovog ulja, pa se tako uzorci u kojima dominira maslinovo ulje nalaze u drugom kvadrantu, dok se uzorci gdje dominira suncokretovo ulje nalaze u trećem kvadrantu. Uzorak suncokretovog ulja nalazi se u prvom kvadrantu, a uzorak nerazrijeđenog maslinovog ulja nalazi se u njemu dijagonalnom četvrtom kvadrantu.

4.1.2. Rezultati vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari

Električna vodljivost definira se kao sposobnost materijala ili otopine da provodi električnu struju, a ovisi uglavnom o koncentraciji iona i kemijskom sastavu njegovih sastojaka (Yu i sur., 2012). Ioni se ne nalaze u jestivim uljima, što znači da ona nisu provodljiva za električnu struju. No, kod ulja lošije kvalitete, ulja u kojima se duboko pržilo ili krivotvorenih ulja primjećuje se prisutnost nekoliko iona, slobodnih masnih kiselina, metalnih iona i drugih sličnih tvari (Yang i sur, 2014). TDS je parametar koji određuje koncentraciju otopljenih iona te je u korelaciji s električnom vodljivošću zbog čega se često zajedno određuju (Rusydi, 2018).

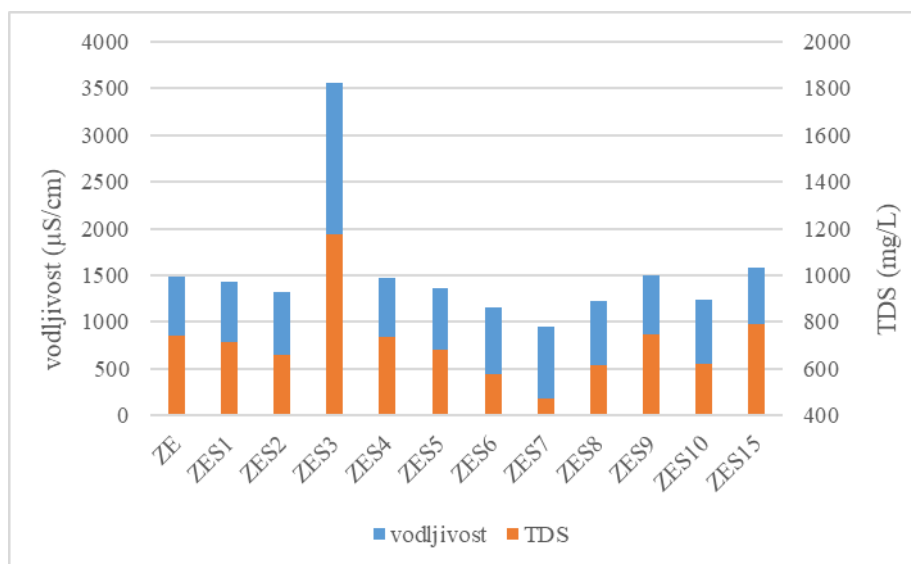
Konduktometrom su se za svaki uzorak s tri ponovljena mjerenja paralelno određivali električna vodljivost i TDS. Srednje vrijednosti i standardne devijacije nerazrijeđenih uzoraka ulja prikazane su u tablici 4, dok su na slikama 9 i 10 prikazani rezultati za razrjeđenja uzorka ZE.

Tablica 4. Prosječne vrijednosti vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari (TDS) s pripadnim standardnim devijacijama uz oznake statistički značajnih razlika među nerazrijeđenim uzorcima

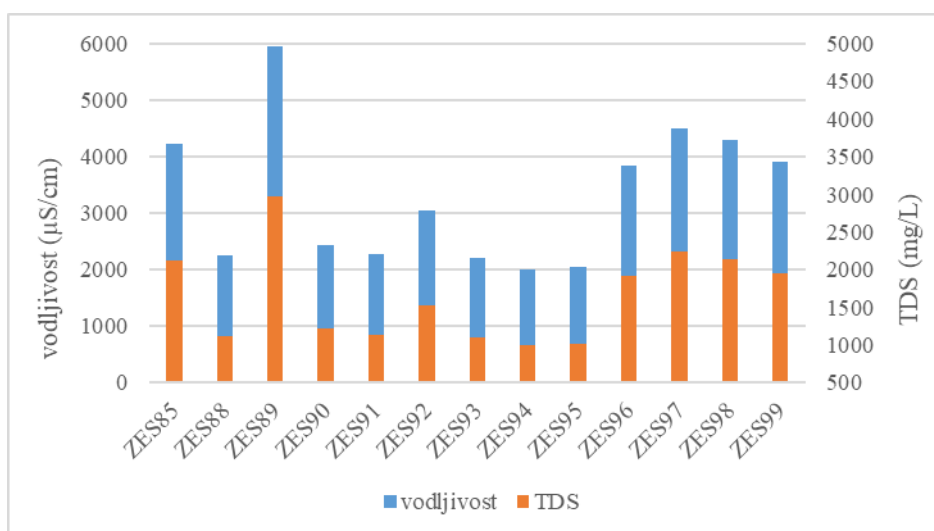
Uzorc	Vodljivost ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Ukupne otopljene tvari, TDS (mg/L)
XE	$1094 \pm 8,7^a$	$547 \pm 4,4^a$
YE	$1083,3 \pm 1,5^a$	$541,3 \pm 0,6^a$
ZE	$1478,7 \pm 29^b$	$739 \pm 14,8^b$
OEn	$2766,7 \pm 282,9^b$	$1382,7 \pm 140^b$
OEf	$3033,3 \pm 49,3^c$	$1517 \pm 22,7^c$
R	$1091 \pm 10,4^a$	$545,7 \pm 4,9^a$
S	$2266,7 \pm 20,8^c$	$1133,7 \pm 8,3^b$
ZM	$1056,3 \pm 4^d$	$528 \pm 1,7^b$
Zm	1469 ± 0^b	735 ± 0^b

Različita slova u promatranom stupcu ukazuju na statistički značajne razlike ($p < 0,01$)

Iz gore prikazanih rezultata (tablica 4) vidi se kako su ova dva parametra u korelaciji, tj. proporcionalni su, te kako najmanju vrijednost vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari ima uzorak ZM, dok najveće vrijednosti za oba parametra imaju filtrirani i nefiltrirani uzorak OE. Prema različitim slovima u gornjim indeksima vidljivo je da postoje statistički značajne razlike među uzorcima. Međutim, zanimljivo je da se uzorci ZM i Zm statistički značajno razlikuju iako je zapravo riječ o istoj vrsti uzorka iz dvije različite šarže. Uzorci XE, YE i R ne pokazuju statistički značajne razlike za ova dva parametra.



Slika 9. Promjena vodljivosti i otopljene suhe tvari u maslinovom ulju koje je razrjeđivano sa suncokretovim od 0 % do 15 %



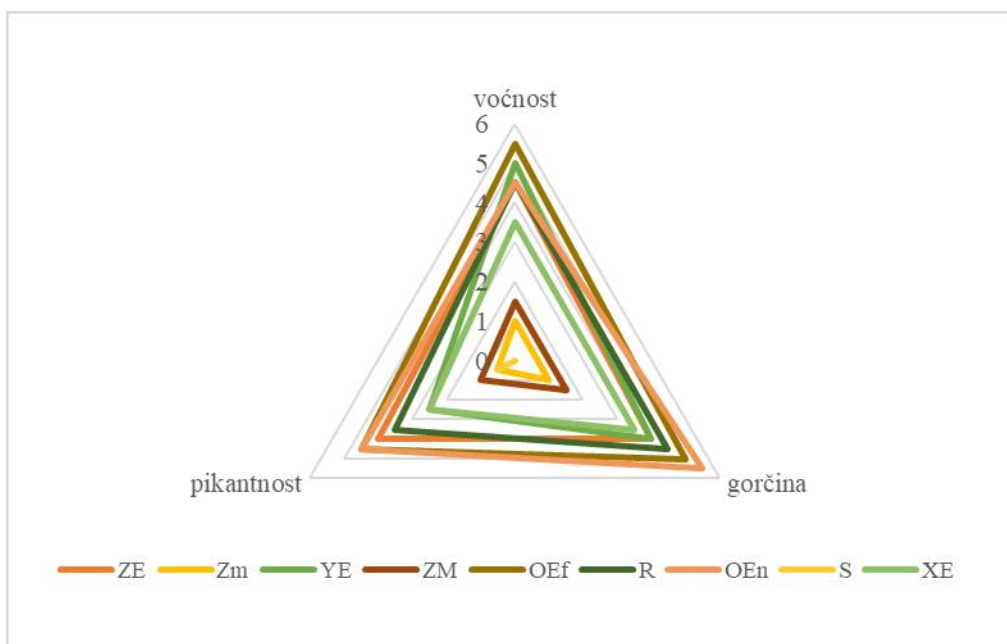
Slika 10. Promjena vodljivosti i otopljene suhe tvari u maslinovom ulju koje je razrjeđivano sa suncokretovim od 85 % do 99 %

Promjene vodljivosti i TDS-a prikazani na slikama 9 i 10 ne ukazuju na određeni trend promjene već se vide oscilacije među uzorcima zbog čega se ne može zaključiti kako se ova dva parametra mijenjaju s razrjeđenjem. Također, na obje slike vidljivo je kako pojedini uzorci značajno odskaku (uzorak ZES3 na slici 9 te uzorak ZES89 na slici 10). Razlog ovakvih rezultata vjerojatno je nejednolika izmiješanost uzoraka, no može se zaključiti kako ni vodljivost ni otopljena suha tvar nisu parametri na temelju kojih možemo utvrditi je li ulje patvoreno ili ne.

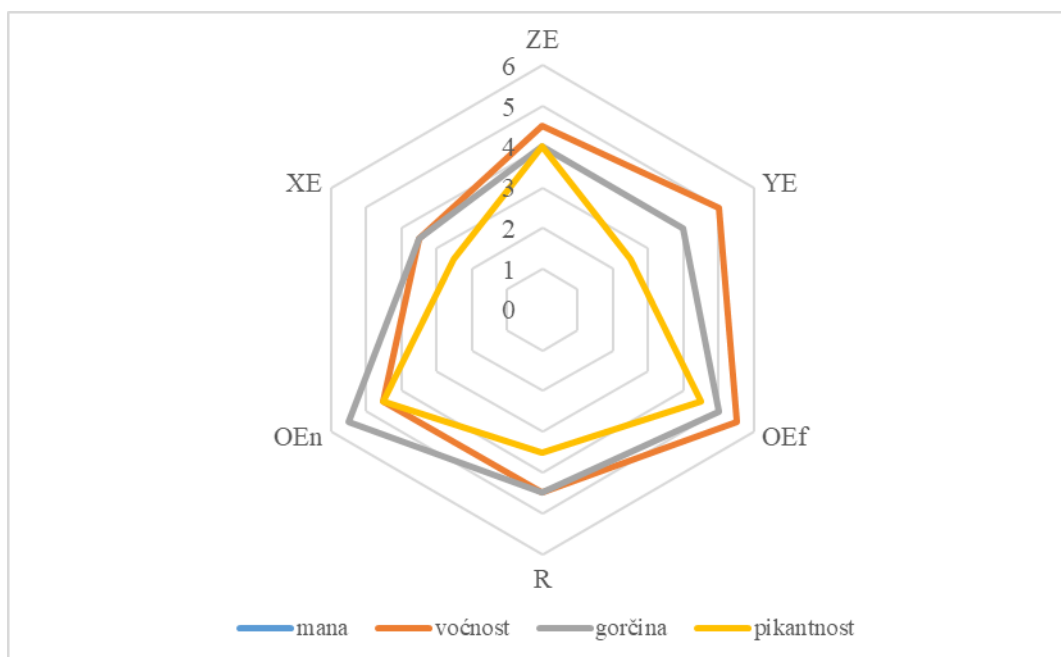
4.2. SENZORSKE KARAKTERISTIKE MASLINOVOG ULJA

Senzorsko ocjenjivanje djevičanskih maslinovih ulja propisano je Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina (Pravilnik, 2009), a metodologijom koju propisuje Međunarodno vijeće za maslinu. Metodologija je sastavljena od nekoliko pravilnika koji uključuju rječnik osnovnih pojmova vezanih uz provedbu ocjenjivanja, vodič za odabir, obuku i kontrolu kvalitete senzorskih analitičara (panelista), vodič za postavljanje prostorije za testiranje, izgled čaša za ocjenjivanje maslinovog ulja te opisa metode organoleptičke procjene (IOC, 2023).

Na slikama 11 i 12 prikazane su senzorske ocjene korisnika za pojedine senzorske karakteristike, dok su na slici 13 prikazane ocjene dva krajnja korisnika za svojstva mirisa i okusa ispitivanih ulja. Za jedan uzorak koji je u tablici 5 označen zelenom bojom postojale su senzorske ocjene stručnog panela, dok su ostale ocjene dobivene od strane korisnika koji su se pridržavali uputa prethodno navedenog pravilnika (Pravilnik, 2009).

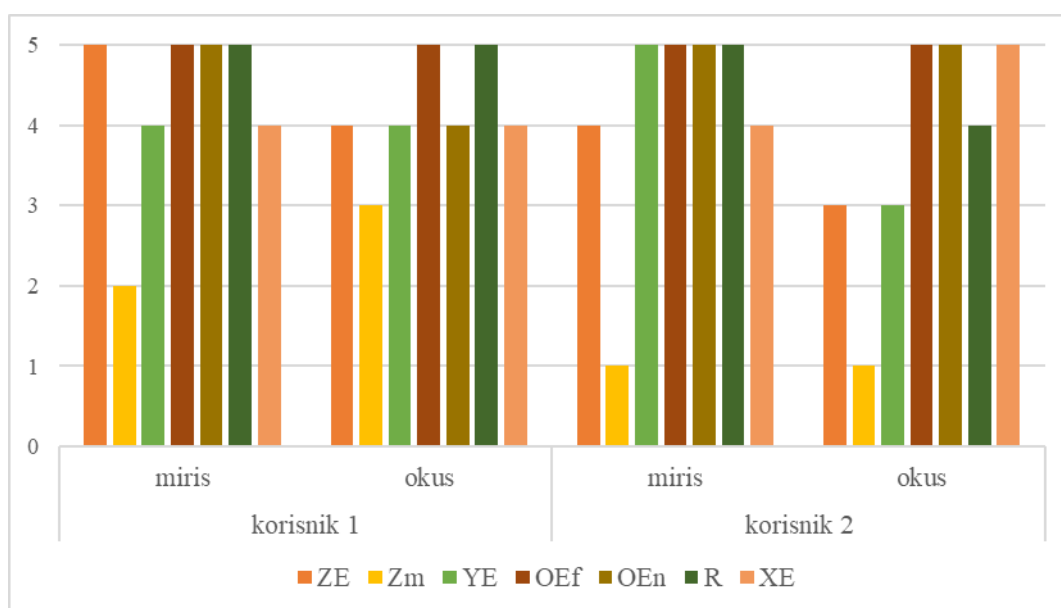


Slika 11. Ocjene standardnih senzorskih karakteristika ispitivanih ulja od strane korisnika



Slika 12. Ocjene standardnih senzorskih karakteristika maslinovih ulja od strane korisnika

Senzorska svojstva voćnosti, gorčine, pikantnosti i mane ocjenjivana su skalom od 0 do 10. Najveća dodijeljena vrijednost nije iznosila više od 6 pa je iz tog razloga na slikama 11 i 12 prikazana skala u kojoj je najveća vrijednost 6. Svim ispitanim uljima medijan mane iznosio je nula. Na slici 11 vidi se kako su najniže ocjene dobili uzorci S, ZM i Zm koji predstavljaju suncokretovo ulje te mješavinu suncokretovog ulja s maslinovim, što bi značilo da su korisnici uspješno mogli prepoznati ekstra djevičanska ulja od mješavine ili čistog suncokretovog ulja. Najveći medijan voćnosti koji iznosi 5,5 ima filtrirani uzorak uzorka OE, dok najveći medijan gorčine ima nefiltrirani uzorak istog uzorka. Filtrirani i nefiltrirani uzorak OE imaju jednak medijan pikantnosti. Ovakvi rezultati u skladu su s istraživanjem koje su proveli Rotondi i Mari (2006) koji su dokazali da filtrirana ulja pokazuju tendenciju zadržavanja atributa voćnosti, ali i da nefiltrirana i filtrirana maslinova ulja imaju slična svojstva voćnosti, pikantnosti i gorčine, naročito unutar prvih 10 dana nakon filtracije. Na slici 12 koja prikazuje senzorske karakteristike samo za maslinova ulja ukupno gledano najlošije ocijenjen uzorak je XE.



Slika 13. Ocjene mirisa i okusa za nerazrijeđene uzorke maslinovog ulja

Ocjenjivanje mirisa i okusa provodilo se na skali od 0 do 5, a iz slike 13 vidljivo je kako su oba korisnika najlošije ocijenila uzorak Zm. Takav rezultat je očekivan s obzirom na to da taj uzorak predstavlja mješavinu dva ulja, zbog čega su slabije izraženi miris i okus koji su tipični za maslinovo ulje. Korisnik 1 je za uzorak ZE dodijelio nešto više ocjene nego korisnik 2, međutim prate isti gdje je miris ocijenjen većom ocjenom nego okus. Uzorak OEF dobio je maksimalne ocjene od oba korisnika i za okus i za miris, a odmah ga slijede uzorci OEn te R.

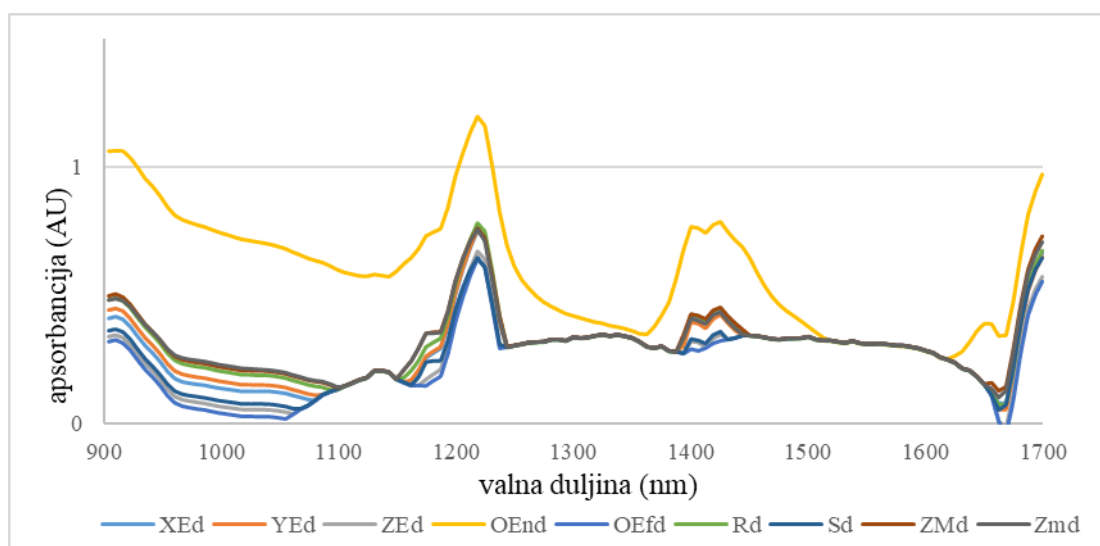
Tablica 5. Senzorska ocjena uzoraka maslinovog ulja

Uzorak	Promatrano svojstvo maslinovog ulja			
	mana	voćno	gorko	pikantno
ZE	/	srednje	srednje	srednje
XE	/	srednje	srednje	srednje
YE	/	srednje	srednje	delikatno
ZE	/	srednje	srednje	srednje
OEn	/	srednje	srednje	srednje
OEF	/	srednje	srednje	srednje
R	/	srednje	srednje	srednje
Zm	/	delikatno	delikatno	delikatno
ZM	/	delikatno	delikatno	delikatno

Prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina skladnost ulja može se opisati pridjevima koji odgovaraju određenim intervalima u kojima se medijan pojedinog pozitivnog svojstva nalazi. Pridjevi koji se dodjeljuju su blago, srednje i intenzivno, pri čemu se blago koristi kada je medijan svojstva manji od 3, srednje kada je između 3 i 6, a intenzivno kada je medijan svojstva veći od 6 (Pravilnik, 2009). Prema tim kriterijima pridjevi su dodijeljeni i ispitivanim uljima (tablica 5). Za uzorak ZE postojale su senzorske ocjene od strane panela, dok su ostala ulja ocjenjivali korisnici. Zm i ZM uzorci uvršteni su pod kategoriju delikatnih ulja što je i očekivano s obzirom na to da se radi o mješavinama suncokretovog i maslinovog ulja. Ostala ulja ocijenjena su za sva tri pozitivna svojstva u kategoriju srednje, izuzev uzorka YE kojem je za svojstvo pikantnosti dodijeljen pridjev delikatno.

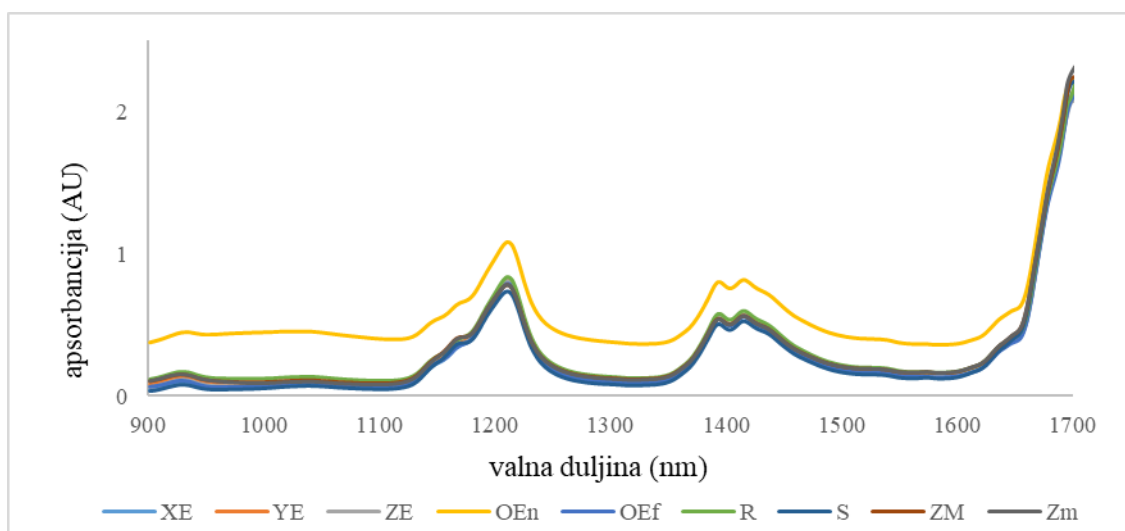
4.3. ANALIZA SPEKTARA ULJA SNIMANIH BLISKO-INFRAČRVENOM SPEKTROSKOPIJOM

U istraživanju su snimani NIR spektri uzoraka ulja u području valnih duljina od 900 nm do 1700 nm (slika 14 i 15). Uzorci su snimani upravo u tom valnom području jer se vibracije C-H veza mogu povezati s lipidima pri tim valnim duljinama (Barbin i sur, 2014). Prema Garcia Martin (2022) apsorpcijski pojas oko 1720 nm povezan je s prvim overtonom C-H veze unutar nekoliko kemijskih grupa kao što su $-CH_3$, $-CH_2$ i $=CH_2$. Također, pri valnim duljinama od otprilike 1210 nm nalazi se drugi overton C-H i CH=CH veza.



Slika 14. Snimljeni blisko-infracrveni spektri nerazrijeđenih uzoraka ulja primjenom laboratorijskog NIR uređaja

Svi uzorci pokazuju sličan oblik, međutim, na slici 14 jasno se vidi razlika između NIR spektra uzorka OEn i ostalih uzoraka ulja koji pokazuju manje apsorbancije duž cijelog snimanog spektra. Do preklapanja spektra tog uzorka s ostalima dolazi jedino u rasponu valnih duljina između 1500 nm i 1600 nm. Jači apsorpcijski signal vidi se u rasponima valnih duljina od oko 1150 nm do 1250 nm, 1390 nm do 1450 nm te nakon 1650 nm. Inarejos-García i sur. (2013) također su u svom istraživanju dobili sličan oblik apsorpcijskih vrpci, a pik u rasponu valnih duljina između 1391 nm i 1413 nm pripisuju C-H kombinacijskoj vrpci. Na slici se također mogu uočiti područja u kojima se vide razlike u snimljenim spektrima, a to su područje od 900 nm do 1100 nm i područje od 1150 nm do 1185 nm. U rasponu od 1390 nm do 1440 nm razdvajanje spektara je slabije, odnosno uzorci XE i OEf imaju manju apsorbanciju od ostalih uzoraka čiji se apsorpcijski spektri preklapaju.



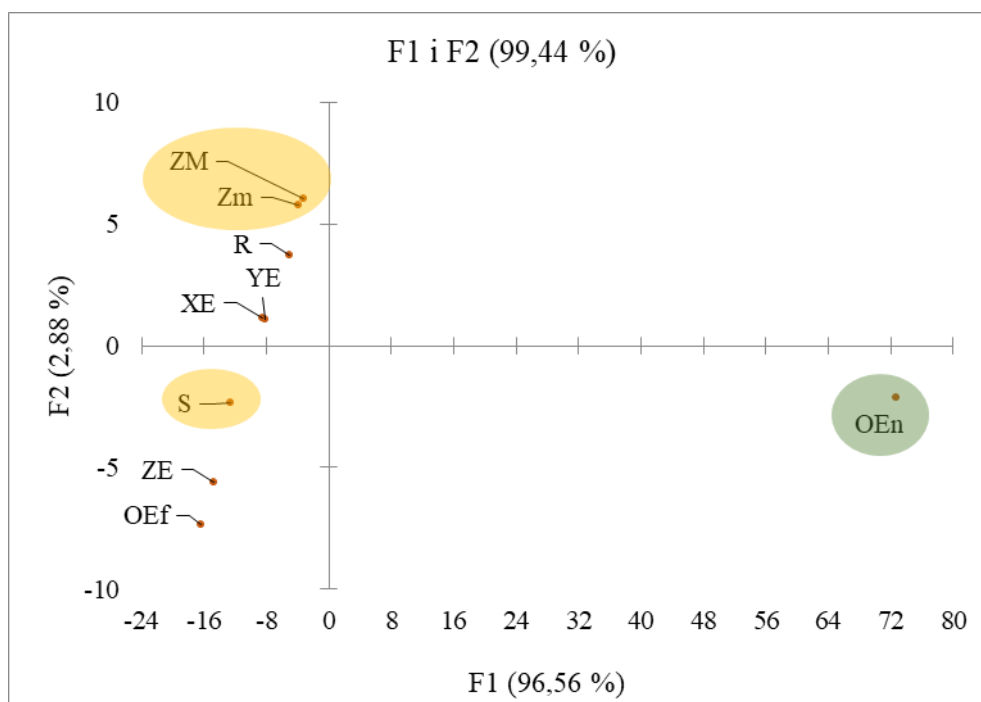
Slika 15. Snimljeni blisko-infracrveni spektri nerazrijeđenih uzoraka ulja primjenom prijenosnog NIR uređaja

Slika 15 prikazuje NIR spektre snimljene prijenosnim NIR uređajem i slična je prethodnoj slici jer osim što spektri izgledaju vrlo slično i imaju izraženije signale u istim rasponima valnih duljina, također je i spektar uzorka OEn veći i odskače od ostalih uzoraka. Međutim, kod prijenosnog NIR uređaja međusobno razdvajanje ostalih uzoraka je vrlo slabo uočljivo. Takvi rezultati u skladu su s istraživanjem Arroyo-Cerezo i sur. (2024) koji su usporedili dva prijenosna NIR uređaja s laboratorijskim te zaključili kako unatoč tome što prijenosni NIR uređaji mogu biti vrlo koristan alat za praćenje kvalitete, ipak imaju nešto lošiju preciznost u usporedbi sa sofisticiranim laboratorijskim NIR uređajima.

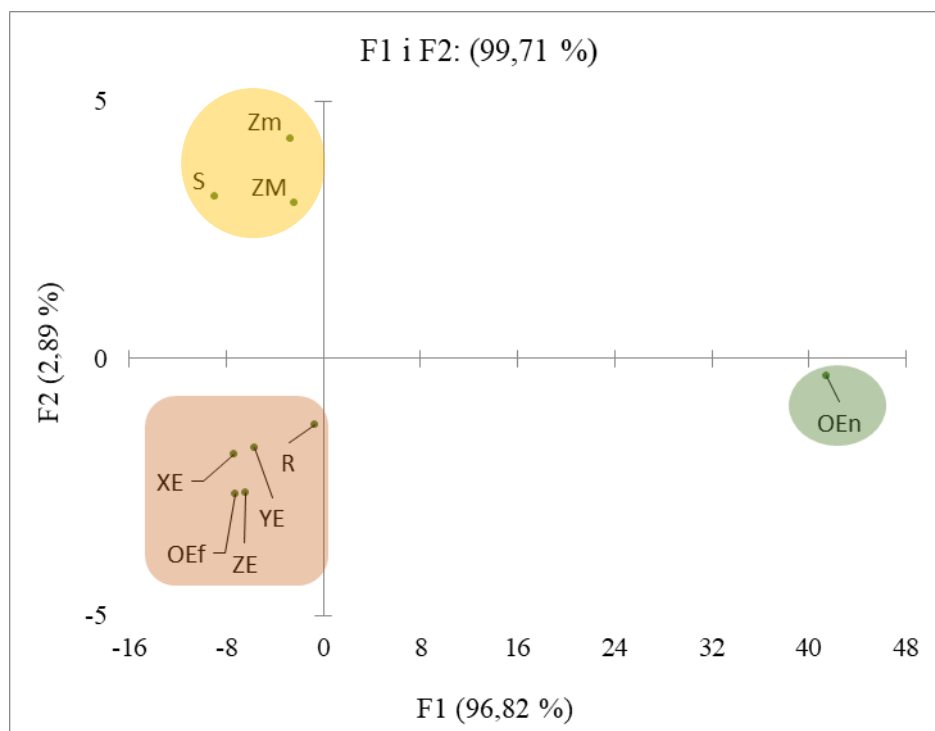
4.4. KEMOMETRIJSKA ANALIZA ZA PROMATRANE UZORKE

Kemometrijske analize NIR spektralnih podataka analiziranih ulja kombinirane su s analitičkim i senzorskim parametrima kako bi se dobili kalibracijski modeli za predviđanje patvorenja te određenih karakteristika maslinovog ulja kao što su boja, vodljivost, organoleptička svojstva te sastav masnih kiselina. PCA je kvalitativna metoda koja pokazuje odnos između uzoraka, odnosno grupira ih prema sličnostima i razlikama, dok je PLS kvantitativna metoda koja se koristi za utvrđivanje modela koji mogu predvidjeti određene parametre (Farres i sur., 2019). Na slikama od 16 do 21 prikazani su rezultati PCA analize, dok su PLS regresijski modeli prikazani na slikama od 22 do 34.

4.4.1. PCA analiza prema NIR spektrima



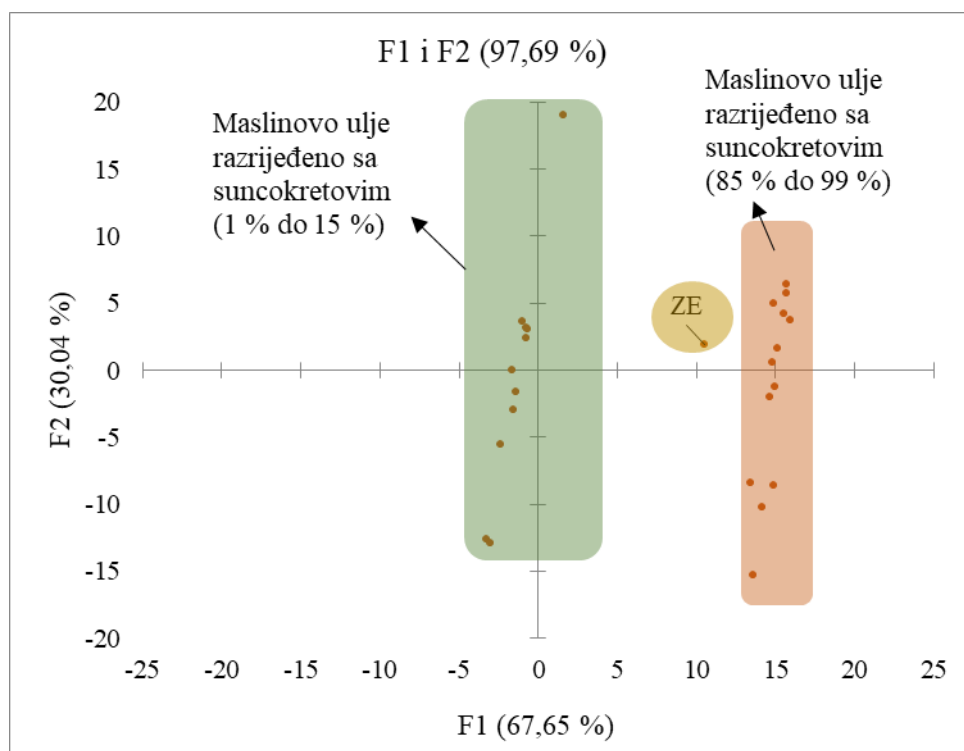
Slika 16. Raspodjela uzoraka nerazrijeđenih ulja prema spektrima laboratorijskog NIR uređaja primjenom analize glavnih komponenata



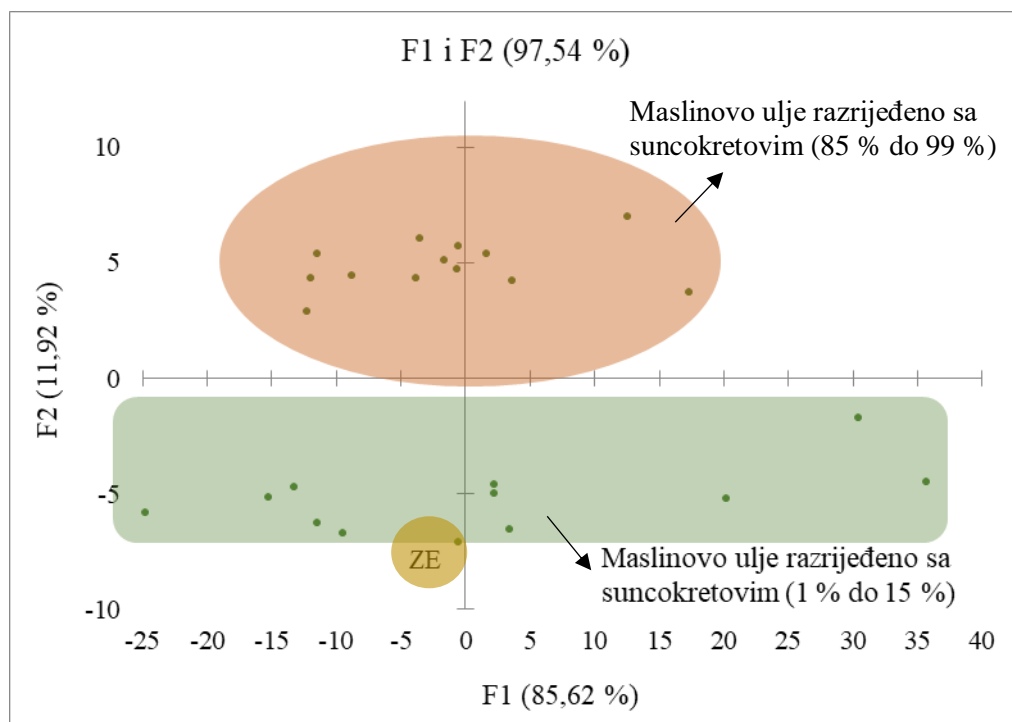
Slika 17. Raspodjela uzoraka nerazrijeđenih ulja prema spektrima prijenosnog NIR uređaja primjenom analize glavnih komponenata

Projekcija uzoraka u prostoru prema prve dvije glavne komponente koje su na grafu označene kao F1 i F2 prikazana je na slikama 16 i 17. Glavne komponente F1 i F2 objašnjavaju 99,44 % varijance između podataka za sve nerazrijeđene uzorke ulja za laboratorijski NIR uređaj, te 99,71 % varijance između podataka za prijenosni NIR uređaj. Na obje slike vidimo kako se nefiltrirani uzorak ulja (OEn) značajno odvojio od drugih uzoraka te se jedini nalazi u četvrtom kvadrantu. Takav rezultat PCA analize u skladu je s dobivenim NIR spektrima za oba uređajima gdje smo također vidjeli jasno odvajanje ovog uzorka (slika 14 i 15). Uzorci ZM i Zm nalaze se u prvom kvadrantu na oba grafa, što je i očekivano s obzirom na to da je riječ o istoj vrsti ulja iz dvije različite šarže, međutim, neočekivano je grupiranje ZM i Zm uzoraka u prvom kvadrantu zajedno s R, YE i XE uzorcima umjesto s uzorkom S (slika 16). Radi lakšeg razlučivanja na slici 17 su uzorci označeni različitim bojama. Žutom bojom označeni su suncokretovo ulje i uzorci u kojima veći udio čini suncokretovo ulje, crvenom bojom označeni su nerazrijeđeni uzorci maslinovih ulja dok je zelenom bojom označen nefiltrirani uzorak maslinovog ulja. Tu vidimo da su se žuto označeno uzorci grupirali u prvom kvadrantu, dok su se svi ostali uzorci (osim nefiltriranog uzorka) odvojili i zajedno grupirali u treći kvadrant. Sličnu metodologiju su u svojem radu koristili Abu-Khalaf i Hmidat (2020) gdje su primjenom

PCA analize koristeći raspon valnih duljina od 400 nm do 1100 nm uspješno razdvojili uzorke prema kategorijama (ekstra djevičansko, djevičansko i maslinovo ulje lampante), pri čemu su glavne komponente PC-1 i PC-2 objašnjavale 92 % varijance. Također, Melendreras i sur. (2023) su korištenjem prijenosnog NIR uređaja i primjenom PCA analize uspješno odvojili sve mješavine ulja od čistog ekstra djevičanskog te zaključili kako takav uređaj može biti odličan alat u detekciji patvorenja tekućih uzoraka u prehrambenoj industriji.

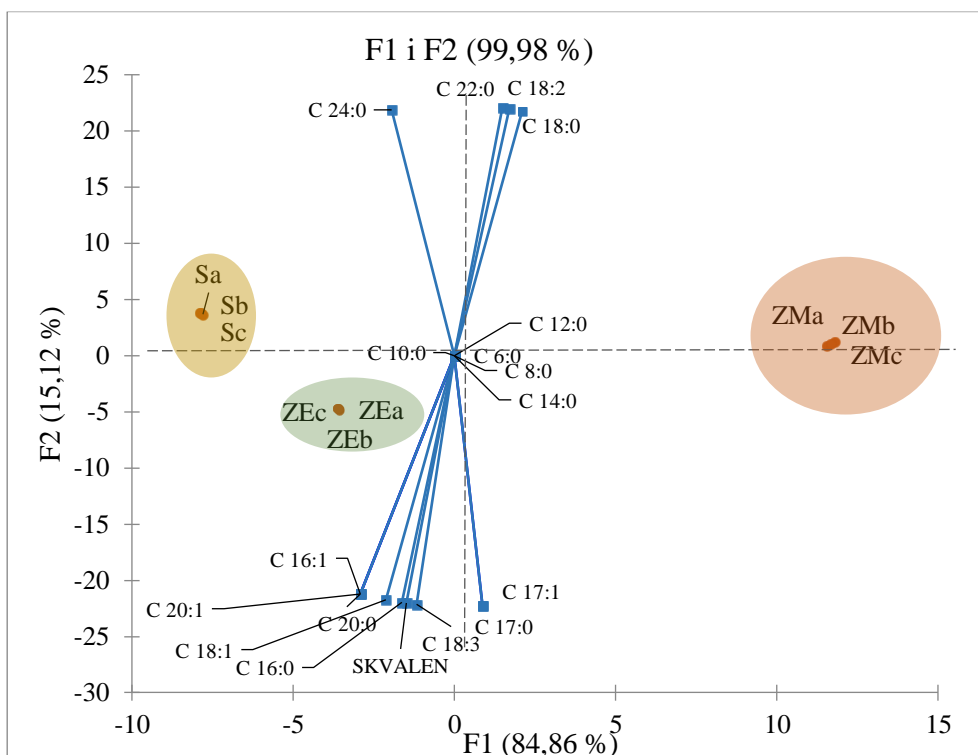


Slika 18. Raspodjela uzoraka maslinovog ulja (ZE) koje je razrjeđivano sa suncokretovim uljem (od 1 % do 15 % te od 85 % do 99 %) prema spektrima laboratorijskog NIR uređaja primjenom analize glavnih komponenata

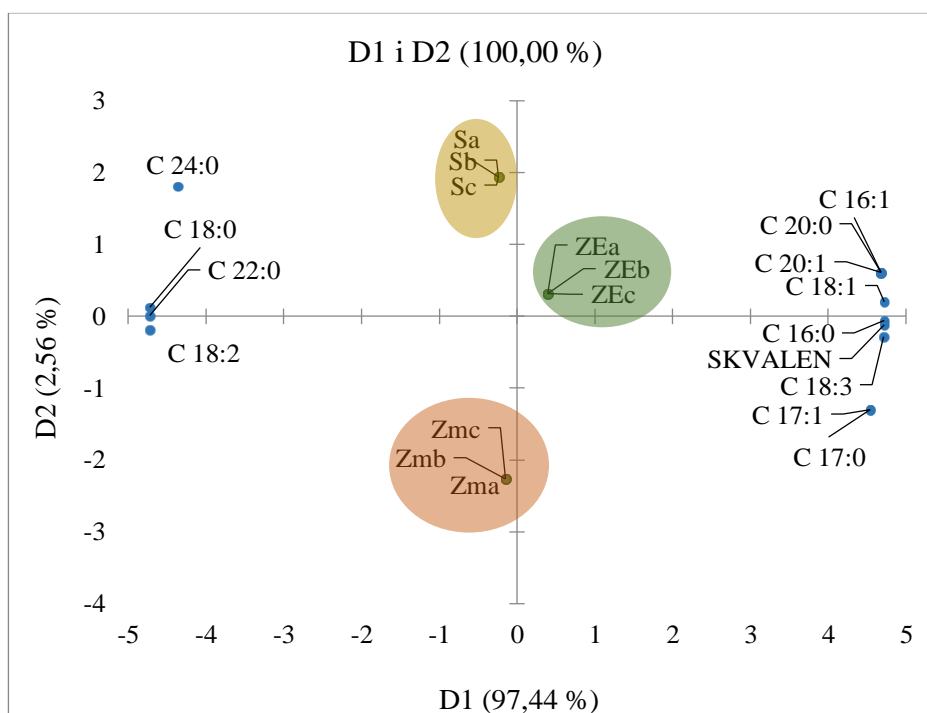


Slika 19. Raspodjela uzoraka maslinovog ulja (ZE) koje je razrijeđivano sa suncokretovim uljem (od 1 % do 15 % te od 85 % do 99 %) prema spektrima prijenosnog NIR uređaja primjenom analize glavnih komponenata

Slike 18 i 19 prikazuju kako su se razrijeđeni ZE uzorci raspodijelili prema spektrima snimljenim laboratorijskim i prijenosnim NIR uređajem, a glavne komponente F1 i F2 za oba uređaja objašnjavaju oko 98 % varijance. Uzorak ZE je na obje slike označen žutom bojom, mješavine maslinovog i suncokretovog ulja gdje prevladava maslinovo ulje zelenom bojom, a mješavine gdje prevladava suncokretovo crvenom bojom. Kod spektara snimljenih laboratorijskim NIR uređajem (slika 18) uzorci s do 15 % suncokretovog ulja nalaze se u prvom, drugom i trećem kvadrantu, uzorak ZE u drugom, a uzorci od 85 % do 99 % suncokretovog ulja u drugom i četvrtom kvadrantu, no unatoč takvoj raspodjeli navedene skupine uzoraka mogu se jasno odijeliti jer su se na grafu grupirale vertikalno u odnosu na x os. Na slici 19 prethodno navedene skupine uzoraka raspodijelile su se horizontalno u odnosu na x os, no ovdje je nerazrijeđeni ZE uzorak slabije odvojen od uzoraka koji su razrijeđeni s do 15 % suncokretovog ulja. Ovakvi rezultati u skladu su s istraživanjem kojeg su proveli Vanstone i sur. (2018). Primjenom PCA analize uspjeli su postići odvajanje nerazrijeđenih i razrijeđenih uzoraka maslinovih ulja već pri udjelima od 2,7 %.



Slika 20. Raspodjela uzoraka maslinovog, suncokretovog te mješavine maslinovog i suncokretovog ulja prema spektrima laboratorijskog NIR uređaja i sastava masnih kiselina primjenom analize glavnih komponenata



Slika 21. Raspodjela uzoraka maslinovog, suncokretovog te mješavine maslinovog i suncokretovog ulja prema spektrima prijenosnog NIR uređaja i sastava masnih kiselina primjenom analize glavnih komponenata

Nerazrijeđeni uzorak maslinovog ulja (ZE), suncokretovo (S) te mješavina maslinovog i suncokretovog ulja (Zm) raspoređene su ovisno o tome koje masne kiseline dominiraju u njihovom sastavu. Slova a, b i c označena su tri paralelna snimanja NIR spektara koja su provedena za te uzorke ulja. Kod mjerenja laboratorijskim NIR uređajem (slika 20) glavne komponente F1 i F2 objašnjavaju 99,98 % varijance između podataka, dok kod prijenosnog NIR uređaja (slika 21) zbroj vrijednosti glavnih komponenti D1 i D2 iznosi 100 %. U obje prethodno navedene slike možemo uočiti sličnu raspodjelu masnih kiselina u odnosu na tri ispitivana ulja koja nam pokazuje koje masne kiseline dominiraju u kojem ulju. U suncokretovom dominiraju tri zasićene masne kiseline (C 18:0, C 22:0, C 24:0) te dvostruko nezasićena linolna kiselina (C 18:2) koja čini i najveći udio masnih kiselina u tom ulju (prilog 3). Te se četiri masne kiseline u grafovima nalaze nasuprot uzorka nerazrijeđenog maslinovog ulja (ZE) što znači da u tom uzorku imaju najniže vrijednosti. Takvi rezultati podudaraju se s rezultatima Škevin i sur. (2011) koji u svom radu zaključuju kako suncokretovo ulje u svom sastavu ima značajno veći udio linolne kiseline od maslinovog te kako će već dodatak od 1 % suncokretovog ulja u ekstra djevičansko maslinovo ulje značajno promijeniti udio linolne masne kiseline. Zasićene masne kiseline s lancima dugim od 6 do 14 ugljikovih atoma ne nalaze se u ispitivanim uljima zbog čega su na slici 20 prikazane kao jedna točka u ishodištu koordinatnog sustava, odnosno na slici 21 niti nisu prikazane. Preostale masne kiseline dominiraju u maslinovom ulju, naročito oleinska kao što je vidljivo u prilogu 3, dok u suncokretovom ulju te masne kiseline imaju najniže vrijednosti. Također, prema Downey i sur. (2002) oleinska masna kiselina pokazuje maksimalnu apsorpciju u području valnih duljina oko 1725 nm. Linolenska masna kiselina (C 18:3), iako čini vrlo mali udio od ukupnih masnih kiselina u maslinovom ulju, dominira u njemu, a ne u suncokretovom ulju. To su u svom istraživanju dokazali i Christopoulou i sur. (2004) te zaključili kako se zbog toga patvorenje maslinovog ulja suncokretovim ne može detektirati određivanjem navedene masne kiseline. Mješavina ulja Zm u oba grafa pozicionirala se između uzoraka ZE i S, ali bliže masnim kiselinama koje dominiraju u uzorku S, što je i očekivano s obzirom na to da u toj mješavini prevladava suncokretovo ulje.

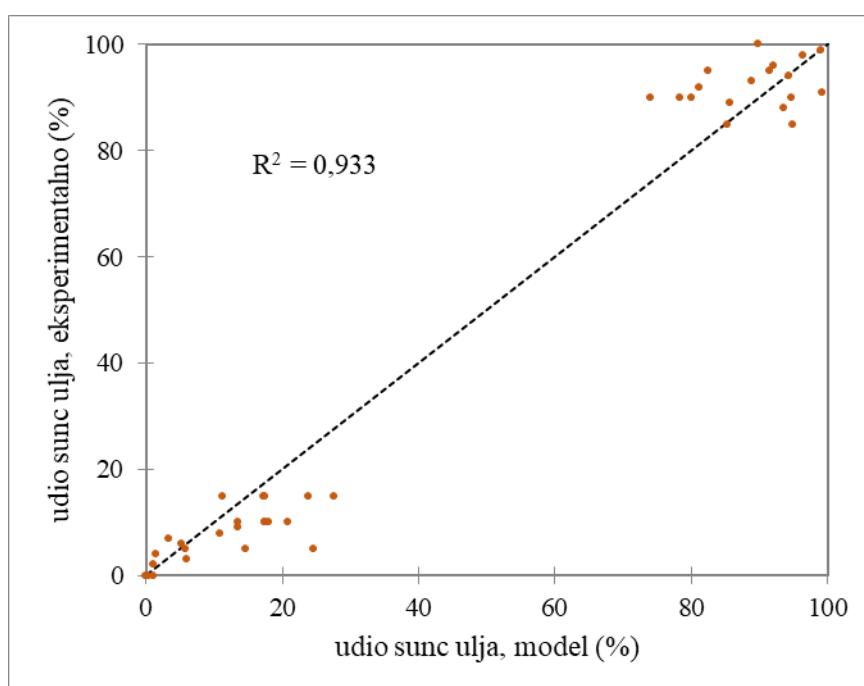
4.4.2. PLS regresijski modeli prema NIR spektrima

Kako bi se predvidjeli postotak dodanog suncokretovog ulja, parametri boje, vodljivosti i TDS, senzorske karakteristike, te sastav masnih kiselina maslinovih ulja izrađeni

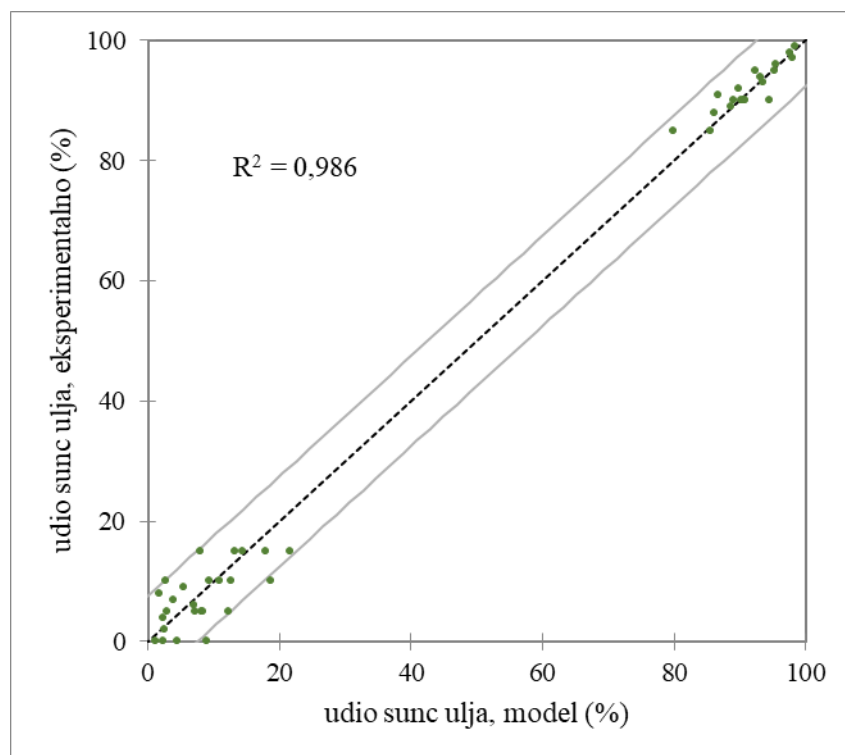
su linearni regresijski modeli. Kao nezavisne varijable u izradi modela korištene su odabrane valne duljine NIR spektra, dok su kao zavisne varijable korištene vrijednosti parametara za koje su se određivali kalibracijski modeli. Pomoću koeficijenta determinacije (R^2) određuje se reprezentativnost modela. Što je taj koeficijent viši, tj. što se više približava vrijednosti 1, to je model reprezentativniji. Za model koji se može uspješno primijeniti, koeficijent determinacije bi trebao premašiti 0,9. Ako se vrijednost koeficijenta nalazi između 0,7 i 0,9 tada se model može smatrati poprilično preciznim, dok vrijednosti koeficijenta koje su ispod 0,7 ukazuju na to da se model ne može koristiti u kvantitativnim predviđanjima (Valinger i sur, 2018). U nastavku su kroz pet potpoglavlja prikazani dobiveni modeli za laboratorijski i prijenosni NIR uređaj.

4.4.2.1. NIR i udio suncokretovog ulja

Slika 22 i 23 prikazuju grafove PLS regresijskih modela s odnosom predviđenih i izmjerenih vrijednosti udjela suncokretovog ulja (%). Na grafovima su prikazane predikcijske vrijednosti udjela suncokretovog ulja za srednje vrijednosti NIR spektara za svaki uzorak te vrijednost predikcijskog koeficijenta determinacije.



Slika 22. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti udjela suncokretovog ulja (%) (laboratorijski NIR uređaj)

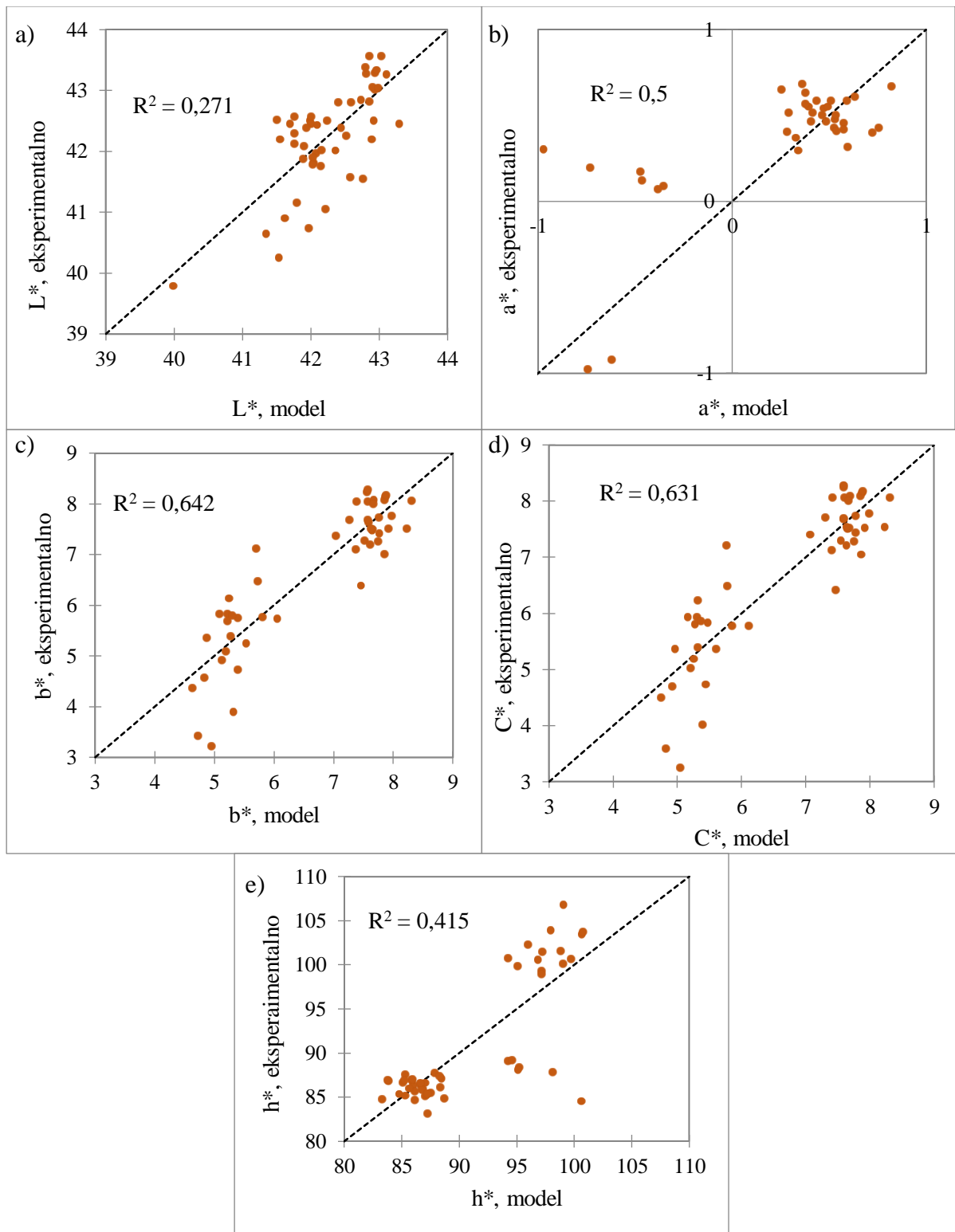


Slika 23. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti udjela suncokretovog ulja (%) (prijenosni NIR uređaj)

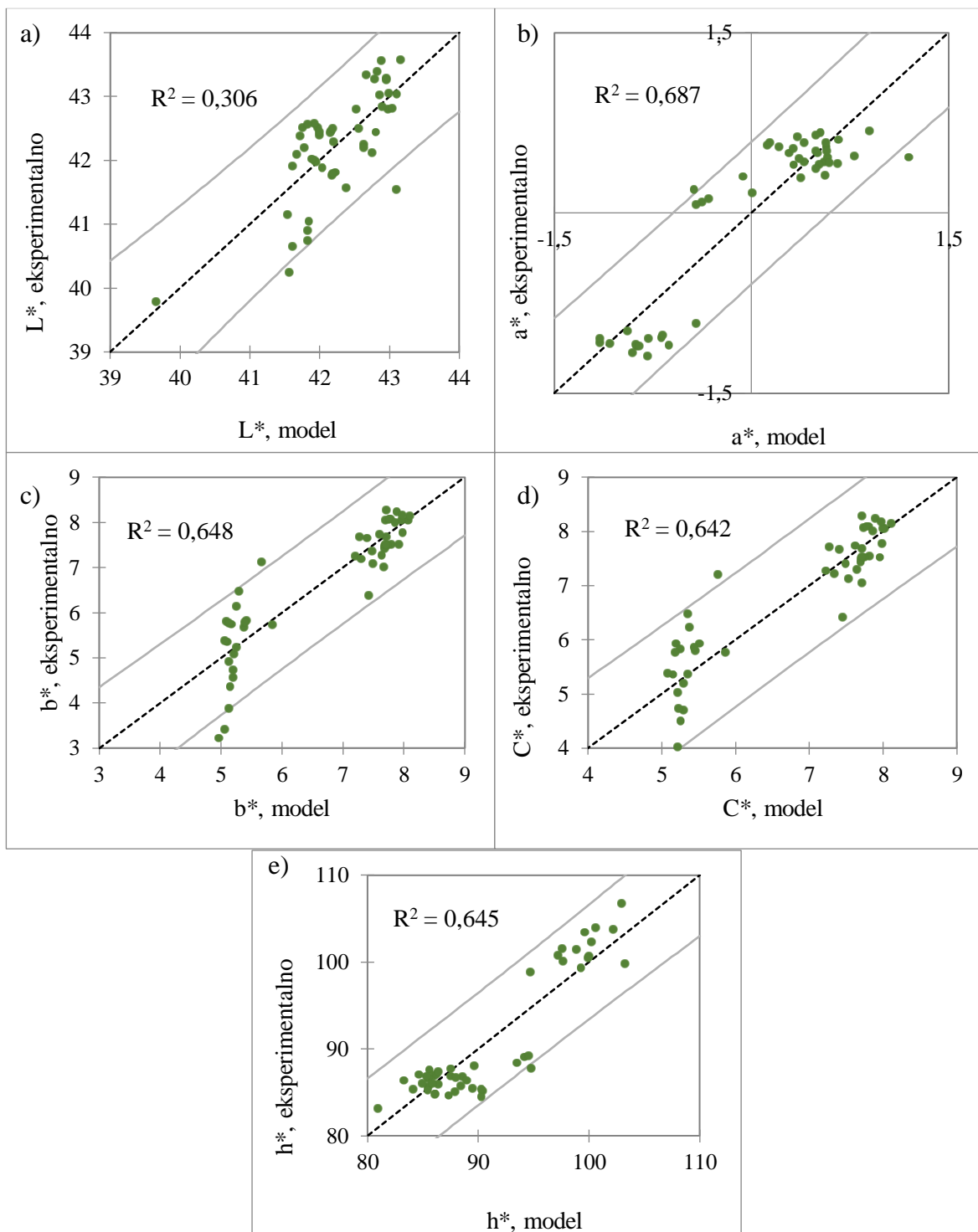
Oba modela za predviđanje udjela suncokretovog ulja imaju vrlo visok koeficijent determinacije što prema Valinger i sur. (2018) ukazuje na vrlo primjenjiv model. Za laboratorijski NIR uređaj R^2 iznosi 0,933, dok je za prijenosni NIR uređaj taj koeficijent još veći i iznosi 0,986. Kao značajne ulazne varijable korištene su valne duljine NIR spektra u rasponu od 1678 do 1693 nm koje odgovaraju vibracijama – CH_3 , – CH_2 i – CH veza (Metrohm, 2013). Slično istraživanje o kvaliteti maslinovih ulja proveli su Borrás i sur. (2015) gdje su za izradu modela koristili valne duljine u rasponu od 1666 nm do 2500 nm te uspješno predvidjeli razliku između visokokvalitetnih maslinovih ulja i maslinovih ulja lošije kvalitete s 87 %.

4.4.2.2. NIR i boja

Kako bi se ispitala potencijalna predvidivost parametara boje na osnovu NIR spektara korišteni su PLS regresijski modeli gdje su se NIR spektrima snimljenim laboratorijskim i prijenosnim NIR uređajem pridružili eksperimentalno određeni parametri boje. Ti rezultati prikazani su na slikama 24 i 25.



Slika 24. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za parametre boje (a) L^* , (b) a^* , (c) b^* , (d) C^* i (e) h^* (laboratorijski NIR uređaj)

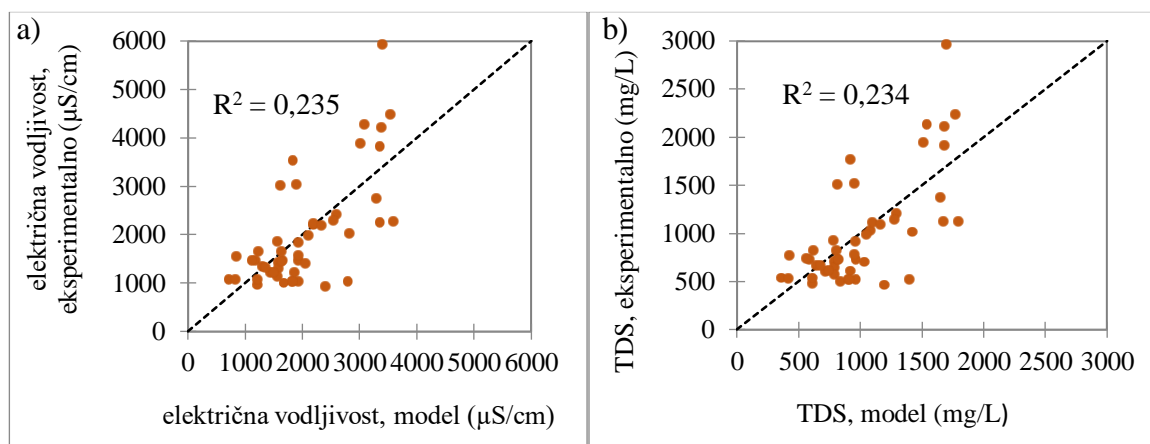


Slika 25. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za parametre boje L^* , a^* , b^* , C^* i h^* (prijenosni NIR uređaj)

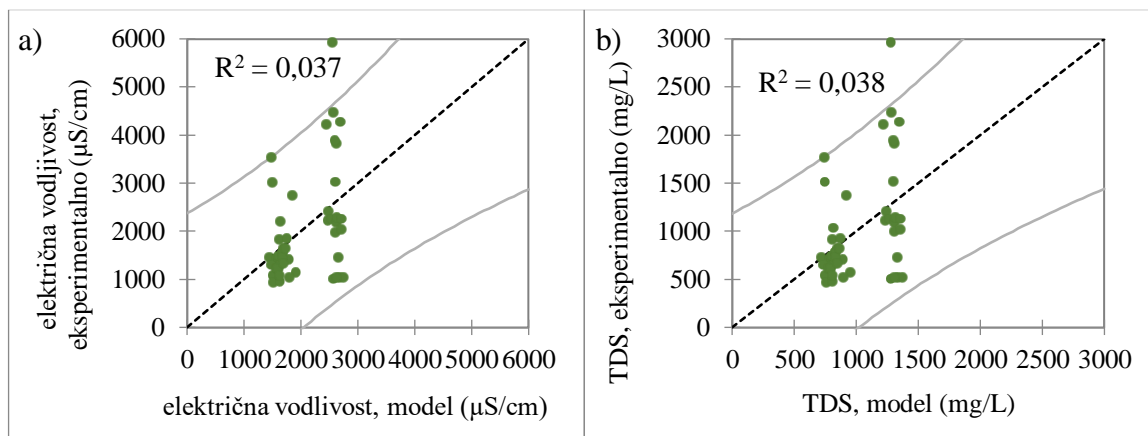
Iz prethodno prikazanih slika može se vidjeti kako je interval pouzdanosti ovih modela širok te kako su vrijednosti koeficijenta determinacije za oba uređaja značajno niže nego to su bile kod modela za predikciju udjela suncokretovog ulja. Kao ulazni podaci za modele korištene su valne duljine u rasponu od 1660 nm do 1699 nm koje odgovaraju vibracijama – CH₃, – CH₂ i – CH veza (Metrohm, 2013). Najveći koeficijent determinacije pokazuje model za predviđanje parametra boje a* za prijenosni NIR uređaj ($R^2 = 0,687$) (slika 25). Koeficijent determinacije je za parametre b* i C* kod oba uređaja sličnih vrijednosti (otprilike 6,4). L* parametar boje koji označava svjetlinu najlošije je predviđen parametar kod oba uređaja i vrijednost R^2 za njega iznosi oko 0,3. Parametar boje h* za spektar snimljen prijenosnim NIR uređajem pokazuje nešto veće vrijednosni koeficijenta determinacije ($R^2 = 0,645$) u odnosu na spektar snimljen laboratorijskim uređajem ($R^2 = 0,415$), međutim, za ovaj parametar boje, kao ni za preostala četiri, razvijeni modeli nisu pouzdani, tj ne mogu se koristiti za kvantitativna predviđanja.

4.4.2.3. NIRte vodljivost i TDS

Slika 26 i 27 prikazuju grafove PLS regresijskih modela s odnosom predviđenih i izmjerenih vrijednosti električne vodljivosti ($\mu\text{S/cm}$) te ukupnih otopljenih tvari (mg/L). Na grafovima su prikazani i predikcijski koeficijenti determinacije (R^2).



Slika 26. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za električnu vodljivost i ukupne otopljene tvari (laboratorijski NIR uređaj)

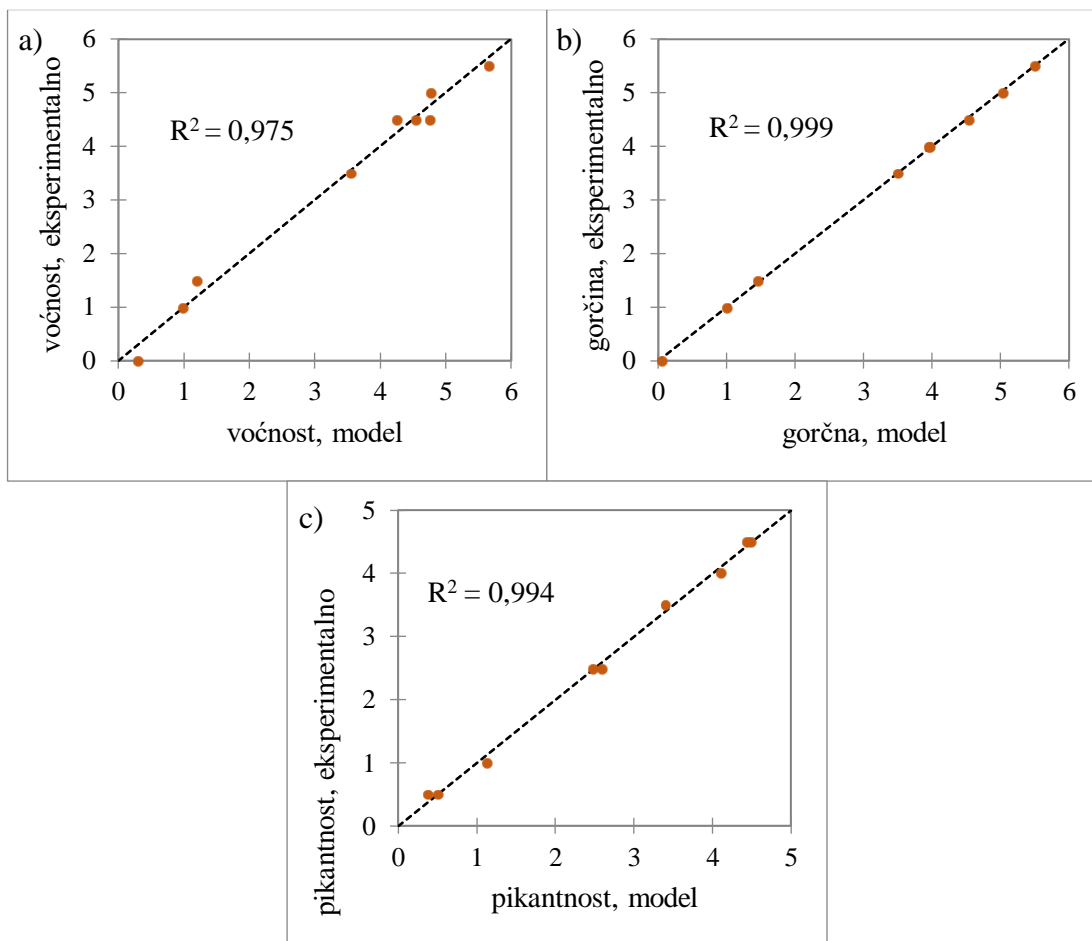


Slika 27. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za električnu vodljivost i ukupne otopljene tvari (prijenosni NIR uređaj)

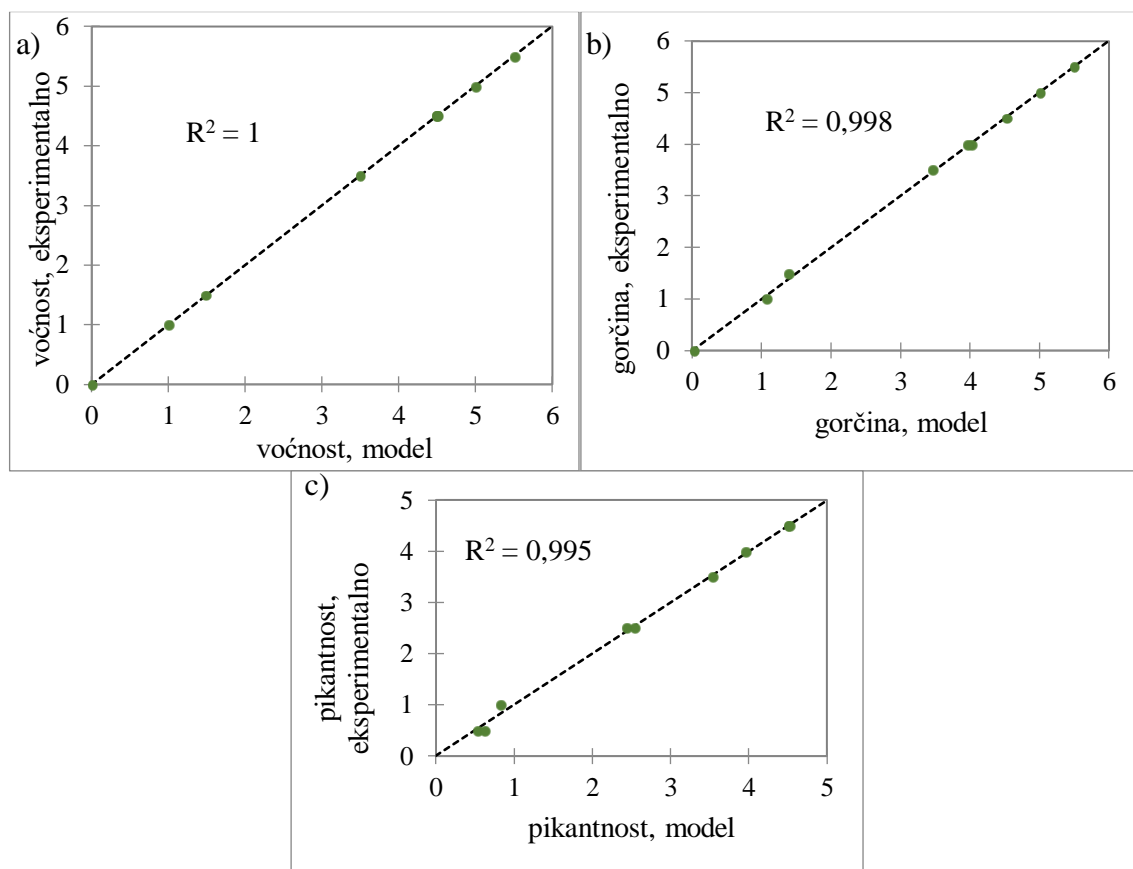
Za izradu ovih predikcijskih modela korištene su valne duljine os 1660 nm do 1699 nm. Slično kao i kod PLS regresijskih modela za predikciju parametara boje, modele za predikciju električne vodljivosti i TDS-a ispitivanih ulja nije moguće koristiti za kvantitativnu predikciju jer pokazuju vrlo niske vrijednosti koeficijenta determinacije. Laboratorijski NIR uređaj pokazuje nešto bolje rezultate od prijenosnog uređaja kojemu vrijednosti R^2 iznose svega 0,037 i 0,038 (slika 27), međutim niti vrijednosti za laboratorijski koje iznose 0,235 i 0,234 (slika 26) ne upućuju da je dobiveni model pouzdan.

4.4.2.4. NIR i senzorika

Snimljeni NIR spektri pridruženi su podacima senzorskih karakteristika voćnosti, gorčine i pikantnosti kako bi se utvrdila potencijalna predvidivost senzorskih ocjena na osnovu NIR spektara. Pri tome su korišteni PLS modeli (slika 28 i 29).

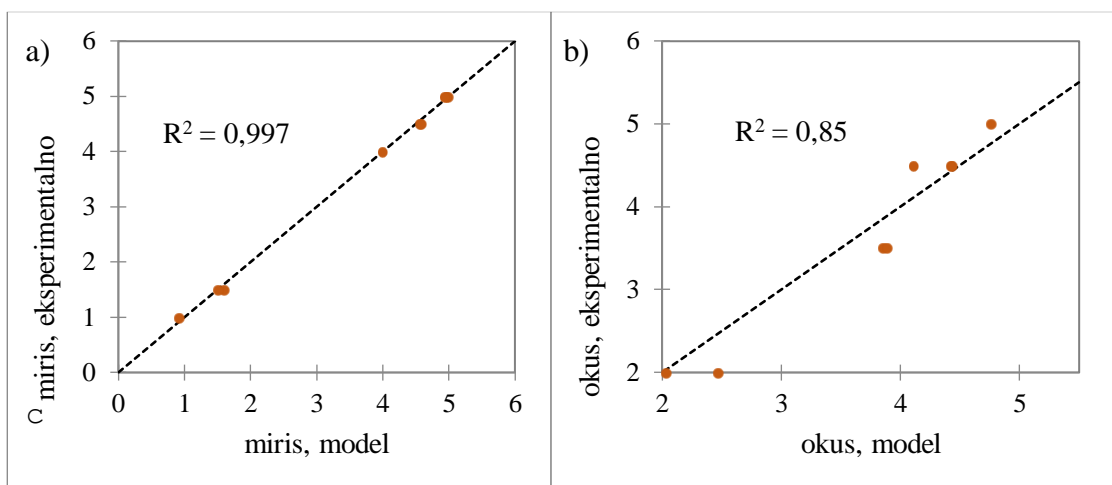


Slika 28. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za senzorska svojstva voćnosti, gorčine i pikantnost (laboratorijski NIR uređaj)

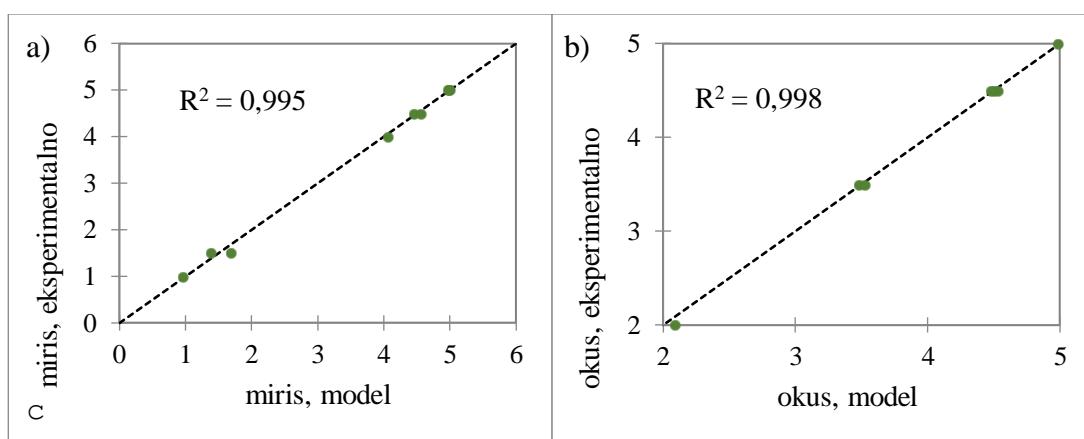


Slika 29. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za senzorska svojstva voćnosti, gorčine i pikantnosti (prijenosni NIR uređaj)

Dobiveni modeli za sva tri navedena senzorska svojstva za oba korištena NIR uređaja izrazito su reprezentativni te se mogu uspješno primijeniti. Vrijednosti R^2 za svako svojstvo premašuju vrijednost od 0,9 te su vrlo blizu, ili u slučaju kod svojstva voćnosti za prijenosni NIR uređaj jesu 1 (slika 29). Kao značajne ulazne varijable korištene su 34 valne duljine u rasponu između 1173 nm i 1699 nm. Slične rezultate u svom istraživanju dobili su i Inarejos-García i sur. (2013) koji su prilikom izrade modela koristili valne duljine u rasponu od 1332 nm do 1470 nm te najbolje kalibracijske modele dobili za ukupne fenole i senzorsko svojstvo gorčine kojima je koeficijent korelacije (r) za predikciju iznosio 0,92 ($R^2 = 84,64$). Međutim, za senzorsko svojstvo voćnosti Inarejos-García i sur. (2013) dobili su značajno niži koeficijent korelacije ($r = 0,67$).



Slika 30. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za svojstva mirisa i okusa (laboratorijski NIR uređaj)



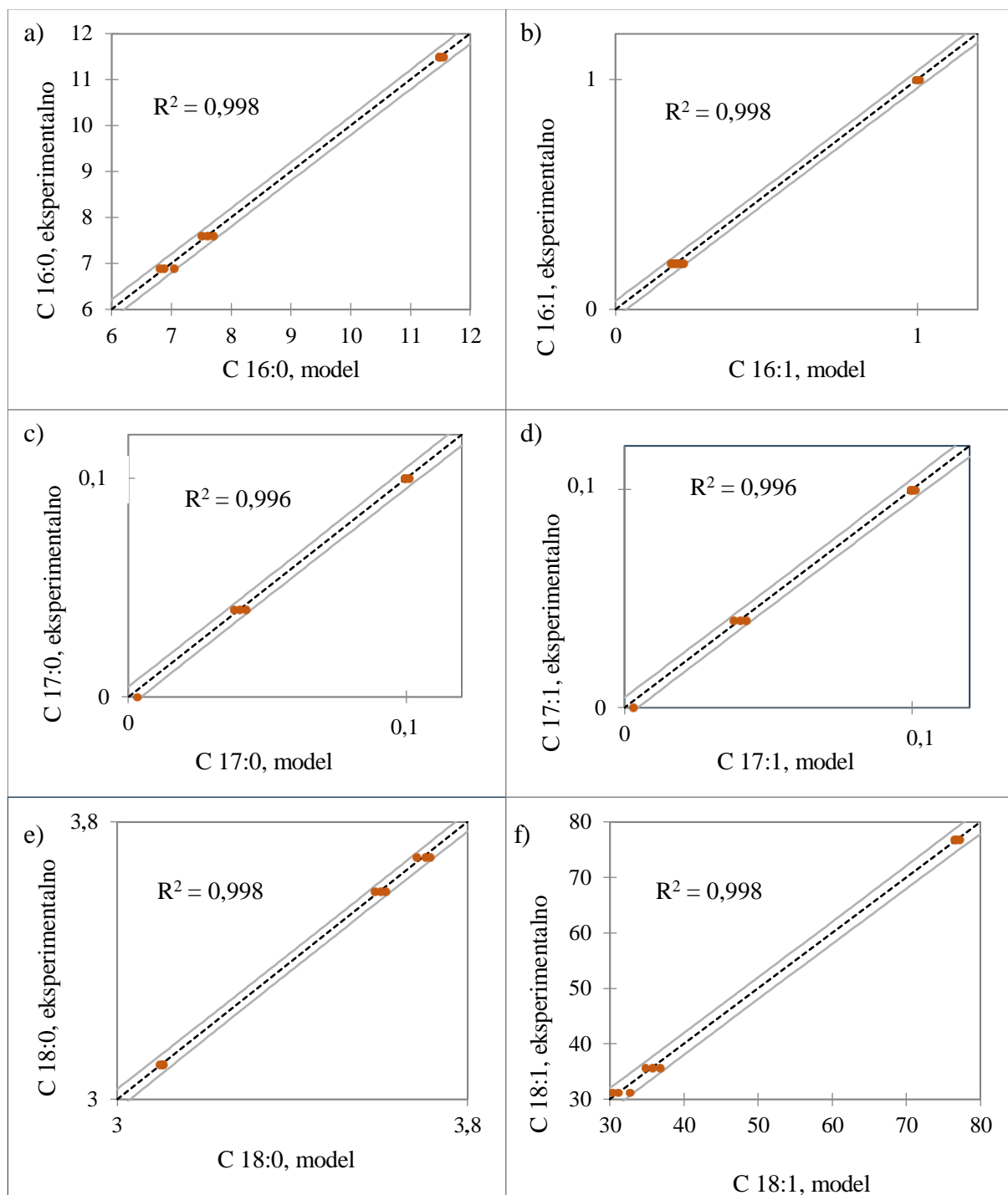
Slika 31. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za svojstva mirisa i okusa (prijenosni NIR uređaj)

Kao i PLS modeli za senzorska svojstva voćnosti, gorčine i pikantnosti, modeli za miris i okus pokazuju visoke vrijednosti koeficijenta determinacije. Najniža vrijednost predikcijskog koeficijenta determinacije dobivena je za parametar okusa za laboratorijski NIR uređaj ($R^2 = 0,85$), međutim, model se još uvijek može smatrati poprilično preciznim.

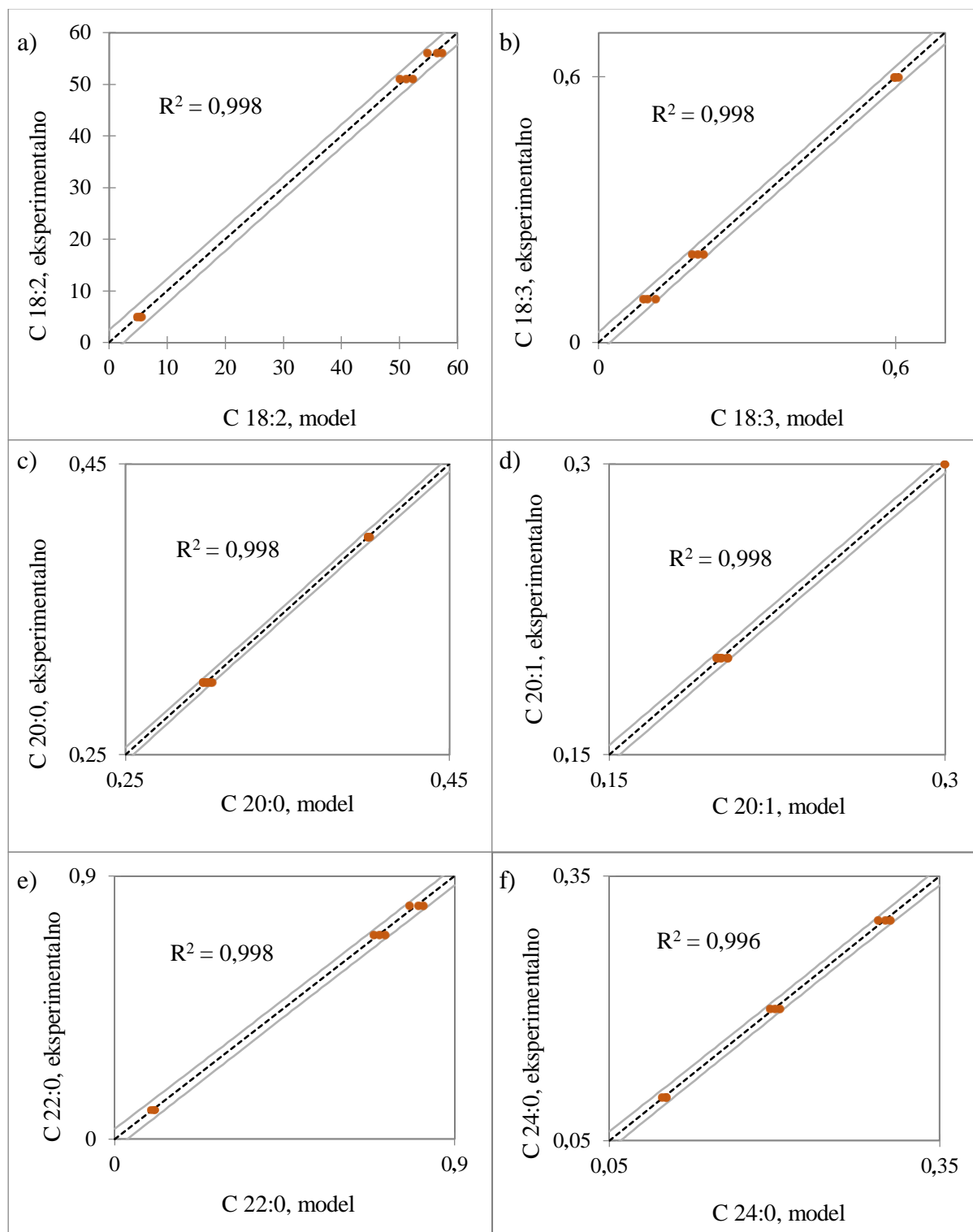
4.4.2.5. NIR i masne kiseline

NIR spektri snimljeni laboratorijskim NIR uređajem pridruženi su podacima o sastavu masnih kiselina te je provedena regresijska analiza metodom najmanjih kvadrata (slika 32, 33 i 34), a za procjenu modela korišten je koeficijent determinacije (R^2). Kao značajne ulazne varijable korištene su valne duljine NIR spektra u rasponu od 1675 do 1699 nm koje odgovaraju

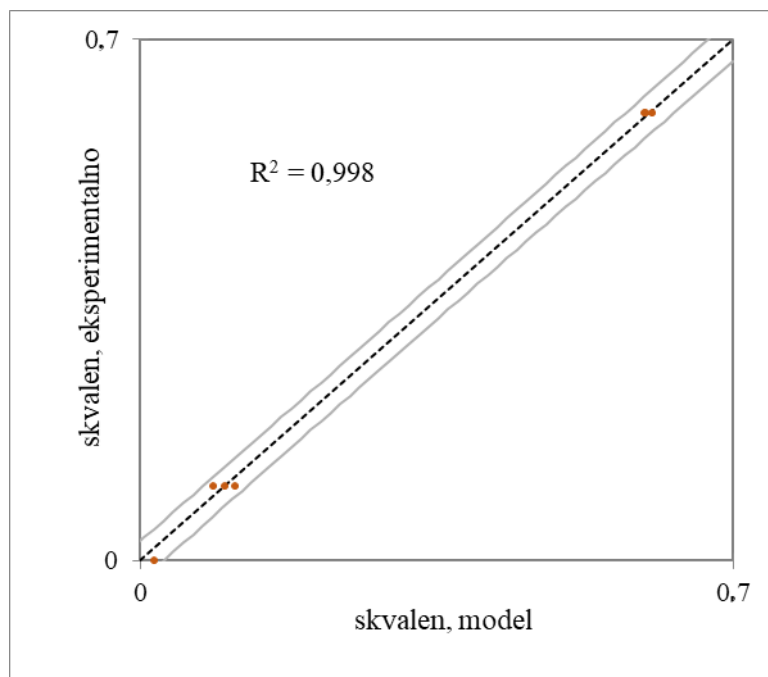
vibracijama – CH₃, – CH₂ i – CH veza (Metrohm, 2013).



Slika 32. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za C 16:0, C 16:1, C 17:0, C 17:1, C 18:0 i C 18:1 masne kiseline (laboratorijski NIR uređaj)



Slika 33. PLS regresijski modeli odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za C 18:2, C 18:3, C 20:0, C 20:1, C 22:0 i C 24:0 masne kiseline (laboratorijski NIR uređaj)



Slika 34. PLS regresijski model odnosa predviđenih i eksperimentalnih vrijednosti za skvalen (laboratorijski NIR uređaj)

Modeli za masne kiseline i skvalen prikazani na slikama 32, 33 i 32 pokazuju vrlo uzak interval pouzdanosti te visok predikcijski koeficijent determinacije ($R^2 > 0,995$). Za prijenosni NIR uređaj korištene su iste valne duljine (od 1675 nm do 1699 nm) kao ulazni podaci za PLS modele pri čemu je potvrđen identičan trend kao i kod prije spomenutog laboratorijskog NIR uređaja. Skvalen, kao prirodni lipid koji pripada terpenoidima, prekursor je u biosintezi kolesterola te se u istraživanjima povezuje s preventivnim djelovanjem različitih vrsta karcinoma (Markellos i sur., 2022; Cancer Research UK, 2019). Nužno je istaknuti kako se pozitivan učinak prehrane na zdravlje ne može pripisati samo jednoj komponenti (skvalenu, terpenima i sl.) te se kod prehrambenih čimbenika koji promiču zdravlje može sugerirati da zdravstveni potencijal nije povezan s određenim spojem, već vjerojatno s njegovom složenom matricom (Gorynik-Debicka i sur., 2018).

Redoviti unos maslinovog ulja (do 25 mL/dan) kod zdravih odraslih osoba ima obećavajuću ulogu u smanjenju rizika od raka, s obzirom na to da je izravno povezan s nižim razinama oksidativnog oštećenja DNK i upalnih markera (Markellos i sur., 2022), što je još jedna potvrda nužnosti redovite kontrole kvalitete ulja koja se nude na tržištu. NIR uređaji su svakako potvrdili svoj potencijal u kvantitativnom i kvalitativnom praćenju kvalitete maslinovog ulja.

ZAKLJUČCI

1. Analizom glavnih komponenata za parametre boje L^* , a^* i b^* postiglo se kvalitativno razdjeljivanje između uzoraka prema udjelu suncokretovog ulja, međutim, samo na osnovu parametara boje, vrijednosti ΔE , električne vodljivosti i TDS-a ne može se sa sigurnošću utvrditi je li uzorak patvoren.
2. Snimljeni NIR spektri u valnom području od 900 do 1700 nm najviše se razlikuju kod nefiltriranog uzorak ekstra djevičanskog maslinovog ulja (OEn) koje pokazuje sličan trend kao i ostali uzorci ulja, ali veću apsorbanciju.
3. PCA analizom, nerazrijeđeni uzorci ulja jasnije su se grupirali prema NIR spektrima snimljenima prijenosnim NIR uređajem. Kada su NIR spektrima pridruženi podaci o udjelu dodanog suncokretovog ulja i sastavu masnih kiselina, uzorci su se jednako uspješno grupirali neovisno o korištenom NIR uređaju.
4. PLS regresijom uspješno su razvijeni modeli za predikciju udjela suncokretovog ulja, senzorskih karakteristika i sastava masnih kiselina (koeficijenti determinacije $R^2 \geq 0,85$) za oba NIR uređaja. Parametri boje te električna vodljivost i TDS nisu uspješno povezani s NIR spektrima primjenom PLS modela, ali vrijedi istaknuti da su parametri boje a^* i b^* pokazali bolju povezanost od parametra L^* ($R^2 \geq 0,5$), što indirektno ukazuje na karakterističnu žuto-zelenu boju maslinovog ulja, neovisno o njegovoj svjetlini.
5. Laboratorijski i prijenosni NIR uređaj pokazuju slične trendove kod svih mjerenja, zbog čega se prijenosni uređaj može smatrati vrlo pouzdanim alatom za brza i jednostavna skeniranja uzoraka i njegovu primjenu u kvalitativnom i kvantitativnom smislu.

6. LITERATURA

Abu-Khalaf N, Hmidat M (2020) Visible/Near Infrared (VIS/NIR) spectroscopy as an optical sensor for evaluating olive oil quality. *Comput Electron Agr* **173**, 105445. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105445>

Alcalà M, Blanco M, Moyano D, Broad NW, O'Brien N, Friedrich D, i sur. (2013) Qualitative and Quantitative Pharmaceutical Analysis with a Novel Hand-Held Miniature near Infrared Spectrometer. *J. Near Infrared Spectrosc.* **21**, 445-457. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1084>

Angerosa F, Campestre C (2013) Sensory Quality: Methodologies and Applications. U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 524-556.

Angerosa F, Di Giacinto L, Vito R, Cunitini S (1996) Sensory evaluation of virgin olive oils by artificial neural network processing of dynamic head-space gas chromatographic data. *J Sci Food Agric* **72**, 323–328. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199611\)72:3<323::AID-JSFA662>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199611)72:3<323::AID-JSFA662>3.0.CO;2-A)

Aparicio R, Conte LS, Fiebig HJ (2013) Olive Oil Authentication. U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 590-641.

Aparicio R, Hardwood J (2013) Preface. U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY.

Aparicio R, Morales MT (1994) Optimization of a dynamic headspace technique for quantifying virgin olive oil volatiles. Relationship among sensory attributes and volatile peaks. *Food Qual Pref* **5**, 109–114. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)90015-9](https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)90015-9)

Arroyo-Cerezo A, Yang X, Jiménez-Carvelo AM, Pellegrino M, Savino AF, Berzaghi P (2024) Assessment of extra virgin olive oil quality by miniaturized near infrared instruments in a rapid and non-destructive procedure. *Food Chem* **430**, 137043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137043>

Badr Eldin A (2011) Near Infra Red Spectroscopy. U: Akyar I (ured.) Wide Spectra of Quality Control, 1. izd, IntechOpen.

Barbin DF, de Souza Madureira Felicio AL, Sun DW, Nixdorf SL, Hirooka EY (2014) Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: An overview. *Food Res Int* **61**, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.005>

Barjol JL (2013) Introduction. U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 1-15.

Bhat T, Cusack C, Dent B, Gooch M, Jones D, Newsome R, i sur. (2016). Project to Develop an Interoperable Seafood Traceability Technology Architecture: Issues Brief. *Compr Rev Food Sci F* **15**, 392-429. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12187>

Bondi RW, Igne B, Drennen JK, Anderson CA (2012) Effect of Experimental Design on the Prediction Performance of Calibration Models Based on Near-Infrared Spectroscopy for Pharmaceutical Applications. *Appl Spectrosc* **66**, 1442-1453. <https://doi.org/10.1366/12-06689>

Borras E, Mestres M, Acena L, Busto O, Ferre J, Boque R, Calvo A (2015) Identification of olive oil sensory defects by multivariate analysis of mid infrared spectra. *Food Chem* **187**, 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.030>

Cancer Research UK - Ludwig Cancer Research Nutrition and Cancer Prevention Collaborative Group (2019) Current opportunities to catalyze research in nutrition and cancer prevention - an interdisciplinary perspective. *BMC medicine* **17**, 148. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1383-9>

Casale M, Simonetti R (2014) Review: Near infrared spectroscopy for analysing olive oils. *J Near Infrared Spectrosc* **22**, 59–80. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1106>

Christopoulou E, Lazaraki M, Komaitis M, Kaselimis K (2004) Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chem* **84**, 463-474. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00273-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00273-5)

Christy AA, Kasemsumran S, Du Y, Ozaki Y (2004) The Detection and Quantification of Adulteration in Olive Oil by Near-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. *Anal Sci* **20**, 935-940. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.935>

Coff C, Korthals M, Barling D (2008) Ethical Traceability and Informed Food Choice. U: Coff, C., Barling, D., Korthals, M., Nielsen, T. (ured.) Ethical Traceability and Communicating Food. The International Library of Environmental, Agricultural and Food Ethics, 15 izd., Springer, Dordrecht, str. 1-18.

Di Giovacchino L (2013) Technological Aspects . U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 57-94.

Downey G, McIntyre P, Davies AN (2002) Detecting and quantifying sunflower oil adulteration in extra virgin olive oils from the eastern mediterranean by visible and near-infrared spectroscopy. *J Agr Food Chem* **50**, 5520–5525. <https://doi.org/10.1021/jf0257188>

Erceg A (2015) International Food Standard And Food Safety Supply Chain Of Croatian Chocolate Producer–Implication For The Final Products Transportation. U: Proceedings of The 15th International Scientific Conference Business Logistics in Modern Management, 15th international scientific conference Business Logistics in Modern Management, Osijek, str. 209-222.

Escolar D, Haro MR, Ayuso J (2007) The color space of foods: virgin olive oil. *J Agric Food Chem* **55**, 2085-2093. <https://doi.org/10.1021/jf062899v>

Espejo MJ (2005) Estudio análítico comparado entre el aceite de acebuchina y el aceite de oliva virgen (doktorski rad), Departamento de Química Analítica, Sveučilište u Sevilli, Sevilla.

Farres S, Srata L, Fethi F, Kadaoui A (2019) Argan oil authentication using visible/near infrared spectroscopy combined to chemometrics tools. *Vib Spectrosc* **102**, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2019.04.003>

Ferragut V (2007) The Toxic Oil Syndrome in Spain. U: Ho P, Cortez Vieira MM (ured.) Case Studies in Food Safety and Environmental Health, 1 izd., Springer New York, NY, str. 43-51.

Folli GS, Santos LP, Santos FD, Cunha PHP, Schaffel IF, Borghi FT, i sur. (2022) Food analysis by portable NIR spectrometer. *Food Chemistry advances* **1**, 100074. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100074>

Gandul-Rojas B, Cepero MRL, Mínguez-Mosquera MI (2000) Use of chlorophyll and carotenoid pigment composition to determine authenticity of virgin olive oil. *J Amer Oil Chem Soc* **77**, 853–858. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0136-z>

Gandul-Rojas B, Gallardo-Guerrero L, Roca M, Aparicio-Ruiz R (2013) Chromatographic Methodologies: Compounds for Olive Oil Color Issues. U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 220-254.

García Martín JF (2022) Potential of Near-Infrared Spectroscopy for the Determination of Olive Oil Quality. *Sensors* **22**, 2831. <https://doi.org/10.3390/s22082831>

García-González DL, Baeten V, Fernández Pierna JA, Tena N (2013) Infrared, Raman, and Fluorescence Spectroscopies: Methodologies and Applications U: Aparicio R, Hardwood J (ured.) Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties, 2 izd., Springer New York, NY, str. 336-393.

Gorzynik-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, Kuban-Jankowska A, Marino Gammazza A, Knap N i sur. (2018) Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International J Mol Sci* **19**, 686. <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>

Inarejos-García AM, Gómez-Alonso S, Fregapane G, Salvador MD (2013) Evaluation of minor components, sensory characteristics and quality of virgin olive oil by near infrared (NIR) spectroscopy. *Food Res Int* **50**, 250-258. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.029>

IOC (2006) Quality management guide for the olive oil industry: olive oil mills. IOC-International olive council. <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/T33-Doc.-2-4-2006-Eng.pdf> Pristupljeno 27. srpnja 2023.

IOC (2023) Standard methods and guides. IOC- International olive council. <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/>. Pristupljeno 27. srpnja 2023.

Jabeur H, Zribi A, Bouaziz M (2016) Changes in chemical and sensory characteristics of Chemlali extra-virgin olive oil as depending on filtration. *Eur J of Lipid Sci and Tech* **119**, 1500602. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500602>

Jednačak T, Novak P (2013) Procesne analitičke tehnike temeljene na vibracijskoj spektroskopiji in-line i primjena u industriji. *Kemija u industriji* **62**, 71-80. <https://hrcak.srce.hr/98107>

Klepo T, Benčić Đ (2014) Utjecaj genotipa na kemijski sastav maslinovog ulja. *Glasnik Zaštite Bilja* **37**, 44-53. <https://hrcak.srce.hr/162617>

Knežević N, Đugum J, Frece J (2013) Sigurnost hrane u Hrvatskoj - pozadina i izazovi. *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu* **15**, 192-197. <https://hrcak.srce.hr/109594>

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, 1. izd., MIH d. o. o., Poreč.

Koprivnjak O, Červar A (2010) Proizvodne karakteristike maslinarsko-uljarske djelatnosti u Istarskoj županiji. *Agronomski glasnik* **2-3**, 125-142. <https://hrcak.srce.hr/64229>

Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL, Del Bino S (2020) Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *J Invest Dermatol* **140**, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>

Markellos C, Ourailidou ME, Gavriatopoulou M, Halvatsiotis P, Sergeantanis TN, Psaltopoulou T. (2022) Olive oil intake and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* **17**, e0261649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261649>

Melendreras C, Soldado A, Costa-Fernández JM, López A, Valledor M, Campo JC i sur. (2023) An Affordable NIR Spectroscopic System for Fraud Detection in Olive Oil. *Sensors* **23**, 1728. <https://doi.org/10.3390/s23031728>

Mensah LD, Julien D (2011) Implementation of food safety management systems in the UK. *Food Control* **22**, 1216-1225. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.021>

Metrohm (2013) NIR Spectroscopy – a guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes, Metrohm AG, Herisau.

Moyano MJ, Heredia FJ, Meléndez-Martínez AJ (2010) The Color of Olive Oils: The Pigments and Their Likely Health Benefits and Visual and Instrumental Methods of Analysis. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **9**, 278-291. doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00109.x

Osborne BG (2006) Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis. U: Meyers RA, McGorin RJ (ured.) *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 1. izd., John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a1018>

Petir M (2019) Patvorine maslinova ulja na tržištu EU-a – Parlamentarno pitanje. https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2019-001332_HR.html. Pristupljeno 10. srpnja 2023.

Piggott JR (1990) Relating sensory and chemical data to understand flavor. *J Sens Stud* **4**, 261–272. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1990.tb00477.x>

Pravilnik (2009) Pravilnikom o uljima od ploda i komine maslina. Narodne novine 7, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_01_7_173.html Pristupljeno 11. srpnja 2023.

Rotondi A, Mari M (2006) Tra oli filtrati e velati il tempo fa la differenza. *Olivo e olio* **9**, 12-15.

Rusydi AF (2018) Correlation between conductivity and total dissolved solid in various type of water: A review. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci* **118**, 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/118/1/012019>

Schläpfer K (1993) Farbmeterik in der reproduktionstechnik und im mehrfarbendruck, 2. izd., UGRA, Švicarska.

Strgar Kurečić M (2013) Osnove o boji: Kontrola boja - od percepcije do mjerenja. http://repro.grf.unizg.hr/media/download_gallery/OSNOVE%20O%20BOJI.pdf. Pristupljeno 7. srpnja 2023.

Škevin D, Kraljić K, Miletić L, Obranović M, Neđeral S, Petričević S (2011) Adulteration of Oblica Virgin Olive Oil with Edible Sunflower and Refined Olive Pomace Oil. *CJFTBN* **6**, 117-122. <https://hrcak.srce.hr/76244>

Traill WB, Koenig A (2010) Economic assessment of food safety standards: Costs and benefits of alternative approaches. *Food Control* **21**, 1611–1619. DOI:10.1016/j.foodcont.2009.06.018

Valinger D, Kušen M, Jurinjak Tušek A, Panić M, Jurina T, Benković M, i sur. (2018) Development of Near Infrared Spectroscopy Models for Quantitative Prediction of the Content of Bioactive Compounds in Olive Leaves. *Chem Biochem Eng Q* **32**, 535-543. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2018.1396>

van Asselt ED, Meuwissen MPM, van Asseldonk MAPM, Teeuw J, van der Fels-Klerx HJ (2010) Selection of critical factors for identifying emerging food safety risks in dynamic food production chains. *Food Control* **21**, 919-926. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.12.010>

Vanstone N, Moore A, Martos P, Neethirajan S (2018) Detection of the adulteration of extra virgin olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometric techniques. *Food Qual Saf* **2**, 189–198. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy018>

Williams PC (2001) Implementation of Near-Infrared Technology. U: Williams PC, Norris K., (ured.) Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2 izd, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, str. 145-169.

Yang Y, Li Q, Yu X, Chen X, Wang Y (2014) A novel method for determining peroxide value of edible oils using electrical conductivity. *Food Control* **39**, 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.11.017>

Yu X, Yang C, Du S, Gao J (2012) A New Method for Determining Free Fatty Acid Content in Edible Oils by Using Electrical Conductivity. *Food Anal Methods* **5**, 1453–1458. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9399-1>

Zakon (2023) Zakon o hrani. Narodne novine 18, Zagreb. <https://www.zakon.hr/z/467/Zakon-o-hrani> Pristupljeno 27. srpnja 2023.

Zoroja J, Omejec D, Pejić Bach M (2017) Integrated model of traceability: Tracking information for food safety. *Poslovna izvrsnost* **11**, 139-153. <https://doi.org/10.22598/pi-be/2017.11.1.139>

Žanetić M, Gugić M (2006) Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja. *Pomologia Croatica* **12**, 159-173. <https://hrcak.srce.hr/4509>

7. PRILOZI

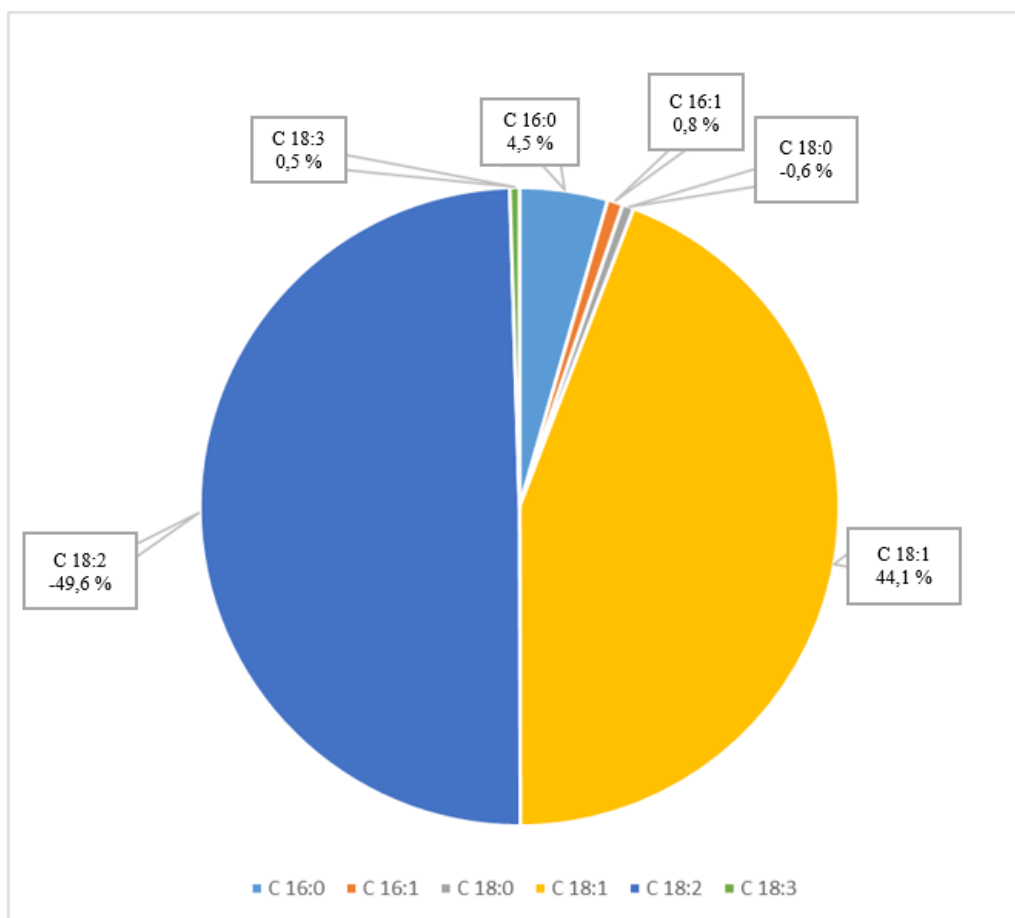
Prilog 1. Tablica korištena pri provedbi testa preferenci

UZORAK	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5
ZE						X					
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											

Prilog 2. Tablica korištena pri provedbi senzorskog ocjenjivanje uzoraka ulja

UZORAK	0-10				1-5	
	mana	voćnost	gorčina	pikantno	miris	okus
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						

Prilog 3. Izdvojene masne kiseline koje se razlikuju u maslinovom i suncokretovom ulju



IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Magdalena Klinar izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis