

Utjecaj vremena skladištenja na antioksidacijski kapacitet djevičanskih maslinovih ulja proizvedenih uz predtretman pulsirajućim električnim poljem

Marijanović, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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:159:970191>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-22**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

Iva Marijanović
0058221840

**UTJECAJ VREMENA SKLADIŠTENJA NA ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET
DJEVIČANSKIH MASLINOVIH ULJA PROIZVEDENIH UZ PREDTRETMAN
PULSIRAJUĆIM ELEKTRIČNIM POLJEM**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Utjecaj inovativnih tehnologija na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja iz hrvatskih autohtonih sorti maslina (HRZZ CROInEVOO, IP-2020-02-7553)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Klara Kraljić

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj vremena skladištenja na antioksidacijski kapacitet djevičanskih maslinovih
ulja proizvedenih uz predtretman pulsirajućim električnim poljem

Iva Marijanović, 0058221840

Sažetak:

U suvremenoj proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja, inovativne tehnologije poput pulsirajućeg električnog polja (PEP) imaju visok potencijal za povećanje iskorištenja i sadržaja bioaktivnih spojeva poput polifenola, fitosterola i tokoferola. Međutim, primjena ovih tehnologija mora osigurati očuvanje visoke nutritivne vrijednosti, oksidacijske stabilnosti i senzorskih svojstava ulja. Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj PEP-a kao predtretmana miješenju na antioksidacijski kapacitet djevičanskih maslinovih ulja proizvedenih od hrvatskih autohtonih sorti maslina, oblice i levantinke, tijekom skladištenja od 12 i 16 mjeseci. Antioksidacijski kapacitet određen je elektronskom paramagnetskom rezonancijom. Rezultati pokazuju kako uvjeti PEP-a, vrijeme skladištenja te njihova međusobna interakcija imaju statistički visoko značajan utjecaj na antioksidacijski kapacitet djevičanskog maslinovog ulja. Iako se antioksidacijski kapacitet smanjuje tijekom skladištenja ulja, može se povećati uvođenjem PEP predtretmana u proizvodnju, no utjecaj primijenjenih parametara predtretmana značajno ovisi o sorti.

Ključne riječi: antioksidacijski kapacitet, djevičansko maslinovo ulje, pulsirajuće električno polje, skladištenje, elektronska paramagnetska rezonancija

Rad sadrži: 21 stranica, 3 slike, 6 tablica, 25 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv.prof.dr.sc. Klara Kraljić

Datum obrane: 10. srpanj, 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

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

Department of Food Technology and Biotechnology
Laboratory for Oil and Fat Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

The impact of storage time on the antioxidant capacity of virgin olive oils produced with pulsed electric field pretreatment

Iva Marijanović, 0058221840

Abstract:

In modern virgin olive oil production, innovative technologies such as pulsed electric field (PEF) show great potential for increasing oil yields and the content of bioactive compounds such as polyphenols, phytosterols and tocopherols. However, when using these technologies, it must be ensured that they do not affect the nutritional and sensory quality or the oxidative stability of the oil. The aim of this study was to investigate the effect of PEF as a pretreatment of malaxation on the antioxidant capacity of virgin olive oils of the Croatian autochthonous varieties Oblica and Levantinka during 12 and 16 months of storage. The antioxidant capacity was determined by electron paramagnetic resonance. The results show that PEF conditions, storage time and their interaction have a statistically significant influence on the antioxidant capacity of virgin olive oil. The antioxidant capacity decreases during storage of the oil and can be increased by PEF pretreatment. However, the effects of the applied PEF parameters depend on the variety.

Keywords: antioxidant capacity, virgin olive oil, pulsed electric field, storage, electron paramagnetic resonance

Thesis contains: 21 pages, 3 figures, 6 tables, 25 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Klara Kraljić, PhD, Associate Professor

Thesis defended: July 10, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. SUVREMENA PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	2
2.2. PULSIRAJUĆE ELEKTRIČNO POLJE.....	6
2.3. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO	9
3.1. MATERIJALI	9
3.2. METODE	10
3.2.1. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDACIJSKOG KAPACITETA EPR SPEKTROSKOPIJOM	10
3.2.2. STATISTIČKA OBRADA	12
4. REZULTATI I RASPRAVA	13
5. ZAKLJUČCI	18
6. POPIS LITERATURE.....	19

1. UVOD

Djevičansko maslinovo ulje, iako simbol mediteranske prehrane, danas se koristi diljem svijeta. Zbog svog kemijskog sastava, prvenstveno fenola, sastava masnih kiselina te ostalih sastojaka negliceridne frakcije, smatra se zaslužnim za brojne zdravstvene dobrobiti kao što su prevencija krvožilnih bolesti, dijabetesa te neurodegenerativnih bolesti. Uz to ima povoljno djelovanje na rast i razvoj djece, mineralizaciju kostiju te probavni sustav. Djevičansko maslinovo ulje zakonski se mora se proizvesti isključivo mehaničkim postupcima (mljevenje, miješenje te izdvajanje ulja prešanjem ili centrifugalnom ekstrakcijom). Ti postupci utječu na prijenos kemijskih sastojaka iz ploda u ulje. Glavni problemi suvremene proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja su nisko iskorištenje procesa te zaostatak bioaktivnih komponenti, poput polifenola, fitosterola i tokoferola u nusproizvodima proizvodnje, odnosno komini i vegetabilnoj vodi. Iz navedenog razloga sve se više se istražuju inovativne tehnologije poput, toplinskih tretmana, ultrazvuka, mikrovalova te pulsirajućeg električnog polja s ciljem povećanja iskorištenja proizvodnog procesa te doprinosa oksidacijskoj stabilnosti samog ulja. Navedene inovativne tehnologije se istražuju kao predtretman miješenja kako bi poboljšali ekstrakciju ulja i povećali koncentraciju bioaktivnih spojeva u ulju (Martínez-Beamonte i sur., 2022). Cilj ovoga rada bio je ispitati utjecaj pulsirajućeg električnog polja kao predtretmana miješenju na antioksidacijski kapacitet djevičanskih maslinovih ulja hrvatskih autohtonih sorti masline oblice i levantinke. Osim toga, ovim radom želio se istražiti utjecaj vremena skladištenja (12 i 16 mjeseci) na antioksidacijski kapacitet proizvedenih ulja. Antioksidacijski kapacitet određen je elektronskom paramagnetskom rezonancijom.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. SUVREMENA PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA

Djevičansko maslinovo ulje, iako simbol Mediterana i mediteranske prehrane, danas se konzumira i proizvodi na globalnoj razini. Berba maslina započinje pri njihovoj optimalnoj zrelosti, odnosno kada postignu najbolji omjer količine i kvalitete ulja. Optimalna zrelost se vizualno procjenjuje na temelju boje pokožice ploda masline. Za proizvodnju kvalitetnog i senzorski prihvatljivog ulja od iznimne je važnosti dobro i precizno odrediti vrijeme berbe. Ukoliko se plod ubere prerano, prinos ulja bit će manji ali ono će sadržavati veći udio fenolnih spojeva, što će osigurati veću oksidacijsku stabilnost, no može rezultirati trpkim i gorčim okusom ulja. S druge strane, ukoliko se plod ubere prekasno, prinos ulja biti će veći jer udio ulja u plodu raste tijekom zrenja. Međutim, ulje dobiveno iz prekasno ubranih plodova sadržavati će manji udio fenolnih spojeva, što će rezultirati manjom oksidacijskom stabilnošću, ali će imati senzorski prihvatljiviji okus za širu potrošačku bazu. Razlikujemo nekoliko načina berbe: ručno, ručno – mehaniziranu i mehanizirano – strojnu. Prednost tradicionalne ručne berbe je dobivanje čistih plodova masline, odnosno s manje granja i lišća, što olakšava daljnji postupak proizvodnje. Međutim, ručna berba zahtjeva puno više radne snage i duže vrijeme same berbe. Ručno – mehanizirana berba koristi ručne tresake s teleskopskim nastavcima, posebno dizajnirane za plodove koji su nedostupni s tla. Ovi tresaci obično imaju radne dijelove u obliku zubaca, pomoću kojih se plodovi otkidaju s grana. Nakon što plodovi padnu na plastičnu mrežu postavljenu ispod krošnje stabla, oni se sakupljaju i pohranjuju u odgovarajuću ambalažu za daljnju preradu. Mehanizirano – strojna berba provodi se samokretnim strojevima, tresacima. Oni omogućuju brzu berbu s gotovo svakog stabla te istovremeno pražnjenje pobranih plodova u prikolice bez potrebe za ljudskom radnom snagom. To rezultira smanjenjem troškova berbe (Sito i sur., 2013). Nakon berbe plodovi se ne smiju skladištiti jer sadrže visok udio vode što može rezultirati hidrolitičkim kvarenjem i značajnim smanjenjem kvalitete ulja, nego se odmah transportiraju u uljaru i započinju s preradom (Škevin, 2016).

Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja započinje pripremom ploda masline za izdvajanje ulja koja obuhvaća odstranjivanje lišća i grančica te pranje plodova. Odstranjivanje lišća i grančica odvija se u košu koji na površini ima rešetku na kojoj zaostaju krupnije grane dok se lišće i sitnije grančice uklanjaju u struji zraka. Masline se nakon odvajanja grana i lišća obavezno peru kako bi se uklonili kontaminanti, prašina, zemlja i druge nečistoće. To je bitno jer se djevičansko maslinovo ulje proizvodi kao nerafinirano, što znači da ne prolazi proces rafinacije u kojem se eliminiraju kontaminanti i nečistoće topljive u ulju. Uklanjanje nečistoća

provodi se radi eliminacije materijala koji ne sadrže ulje, kako bi se spriječilo opterećenje kapaciteta strojeva i kako bi se izbjegla eventualna oštećenja istih.

Operacije i parametri proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja značajno utječu na prijenos kemijskih tvari iz ploda u ulje. Ono se provodi isključivo mehaničkim postupcima koji uključuju mljevenje i drobljenje, miješenje te izdvajanje ulja na hidrauličkim prešama otvorenog tipa ili centrifugalnom ekstrakcijom. Mljevenje je nužno provesti kako bi se razbila stanična struktura ploda masline te kako bi se omogućilo izdvajanje ulja iz vakuole koja je smještena u staničnoj citoplazmi. Ono se provodi na kamenim ili metalnim mlinovima. Razlikujemo nekoliko izvedbi metalnih mlinova kao što su: čekićari, mlinovi s diskovima i mlinovi s konusima. Svaki od njih ima i pozitivne i negativne učinke na djevičansko maslinovo ulje. Primjerice, ulje proizvedeno mljevenjem plodova na metalnim mlinovima čekićarima sadržavati će veću koncentraciju fenola, a samim time imati i bolju oksidacijsku stabilnost. No, s druge strane, tijekom mljevenja na tim mlinovima temperatura maslinovog tijesta se povećava što posljedično dovodi do povećanja stupnja oksidacije. Uz mljevenje na mlinovima se odvija i drobljenje koštica ploda. Kod proizvodnje ulja važnu ulogu ima stupanj usitnjenosti koštice jer fragmenti koštice čine drenažni materijal koji stvara kanaliće i pospješuje izdvajanje ulja u maslinovom tijestu. Kameni mlinovi pripadaju tradicionalnom načinu proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja, teže ih je očistiti, ali imaju mali broj okretaja u minuti čime se izbjegava stvaranje emulzija, gubitak ulja te je manje oslobađanje topline. Metalni se mlinovi, za razliku od kamenih, puno lakše čiste, zauzimaju manje prostora u pogonu, imaju veći kapacitet, no zbog znatno većeg broja okretaja u minuti stvaraju veće količine emulzija te dolazi do većeg oslobađanja topline. Nakon mljevenja slijedi faza miješenja, odnosno miješanja samljevenog maslinovog tijesta s ciljem razbijanja emulzija nastalih mljevenjem te spajanja sitnijih kapljica u veće kako bi se olakšalo izdvajanje ulja. Ono se provodi u koritima od inoksa s metalnim mješačima i s plaštem kroz koji struji topla voda. Preporučeni parametri procesa miješenja su vrijeme do 60 minuta a temperatura tijesta 28 °C. Prije je, uz vrijeme i temperaturu, važan parametar miješenja bila i atmosfera, međutim suvremeni uređaji za miješenje su zatvorenoga tipa i imaju modificiranu atmosferu kako bi maslinovo tijesto bilo u što manjem kontaktu s zrakom (prevencija oksidacijskog kvarenja), zbog HACCP-a (engl. Hazard Analysis Critical Control Point). Tijekom miješenja dolazi do ekstrakcije fenola i hlapljivih aromatskih spojeva u ulje (Škarica i sur., 1996).

Nakon miješenja slijedi proces separacije ulja iz maslinovog tijesta prešanjem, kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom ili procjeđivanjem. U suvremenoj proizvodnji, posebice u industrijskim pogonima, najčešće se koristi proces kontinuirane centrifugalne ekstrakcije jer su prešanje i procjeđivanje diskontinuirani, odnosno saržni procesi. Prešanje se provodi na hidrauličkim prešama otvorenog tipa te ga ubrajamo u 'tradicionalni način' izdvajanja ulja iz

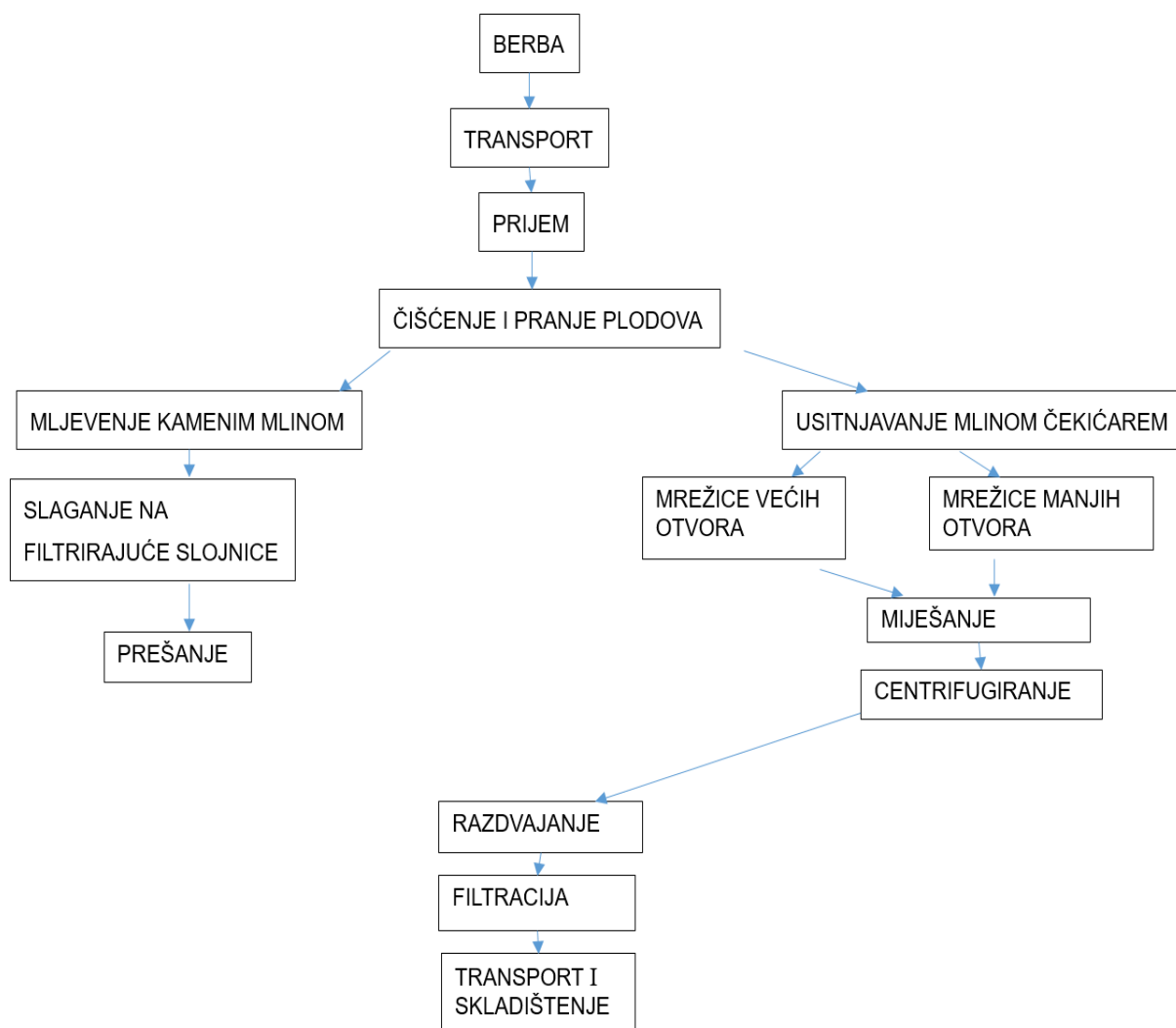
maslinovog tijesta. Princip rada hidrauličkih preša je Pascalov zakon koji govori da se pomoću malih sila mogu postići veliki tlakovi. Postupak započinje ravnomjernim raspoređivanjem maslinovog tijesta na filtrirajuće slojnice preše. Tijesto se puni na 4-5 slojnica nakon čega se stavlja metalni disk kako se bi se postigao ravnomjerni tlak i stabilnost tijekom prešanja. Prešanje se provodi u tri faze: prva faza se odvija pri tlaku od nula bara kroz 30-45 minuta, kod druge faze primjenjuje se tlak od 350-450 bara kroz 15-30 minuta, dok se treća faza odvija kroz 30 minuta pri maksimalnom tlaku. Filtrirajuće slojnice se smatraju kritičnim točkama ovoga procesa zbog njihove sposobnosti zadržavanja dijela maslinovog tijesta i ulja. Time mogu uzrokovati prijenos neugodnih mirisa i okusa na daljnja ulja koja će se prešati na toj preši. Ovakve je pojave moguće prevenirati češćim pranjem i mijenjanjem slojnica. Prednosti 'tradicionalnog načina' izdvajanja ulja u usporedbi s ostala dva načina proizvodnje su jednostavnost izvedbe, niža ulaganja, nizak udio vegetabilne vode u ulju i komini te manji ukupni volumen dobivene vegetabilne vode koju je potrebno ekološki zbrinuti. Nedostatci ovog načina su intenzivan ručni rad, manji kapaciteti te začepljenje i onečišćenje filtracijskih slojnica.

Separacija ulja iz maslinovog tijesta kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom temelji se na razlici u gustoći ulja, komine i vegetabilne vode. Odvija se u dekanterima (horizontalnim separatorima) čija izvedba može biti u dvije ili u tri faze izlaza. Kod proizvodnje ulja klasičnom centrifugom s tri izlaza obavezno je dodavanje tople vode zbog postizanja željene konzistencije te smanjena viskoznosti maslinovog tijesta. Osnovni nedostatci ovakvog načina proizvodnje su „ispiranje“ fenolnih spojeva iz ulja dodatkom vode te stvaranje i zbrinjavanje velikog volumena vegetabilne vode. Kod proizvodnje ulja integralnom centrifugom s dva izlaza produkti su djevičansko maslinovo ulje i komina s vegetabilnom vodom. Nedostatci ovakvog načina proizvodnje su vlažna komina i manji radni kapaciteti. Prednosti su što se ne dodaje voda kod proizvodnje čime se zadržava veća količina fenola u ulju te je smanjen problem zbrinjavanja vegetabilne vode.

Separacija ulja iz maslinovog tijesta procjeđivanjem se u praksi rijetko koristi zbog veće izloženosti ulja zraku i, posljedično, veće mogućnosti oksidacijskog kvarenja, zbog visoke cijene opreme te zbog visokog udjela ulja u komini zbog čega ju se mora podvrgnuti centrifugalnoj ekstrakciji čime se znatno povisuje cijena samog proizvodnog pogona. Ono se temelji na razlici u površinskoj napetosti te svojstvima adhezije ulja i vegetabilne vode. Namijenjen je tijestima s nižim udjelom vode (Škevin,2016).

Završni korak proizvodnje je razdvajanje biljne vode i čvrstih čestica uljnog mošta (smjesa ulja i vegetabilne vode). On se provodi na vertikalnim centrifugalnim separatorima ili dekanterima. Mlada djevičanska maslinova ulja potrebno je izbistriti taloženjem ili filtracijom jer ona nerijetko zadržavaju mutnoću i nakon centrifugiranja zbog prisutnosti sitnih čestica biljnog tkiva i

kapljica biljne vode. Nakon bistrenja ulje se skladišti. Potrebno ga je skladištiti na odgovarajući način iz razloga što parametri skladištenja znatno utječu na njegovu oksidacijsku stabilnost (Koprivnjak, 2006). Shematski prikaz procesa proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja prikazan je na slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja (Koprivnjak i Červar, 2010)

Problemi koji se javljaju kod suvremene proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja su malo iskorištenje procesa što je posljedica nemogućnosti razaranja svih prisutnih stanica u plodu masline u kojima se nalazi ulje te gubitci nutritivno važnih komponenata, polifenola, u komini i vegetabilnoj vodi. Potencijalno rješenje navedenih problema pronalazi se u primjeni inovativnih tehnologija kao predtretmana miješenja, a u njih ubrajamo ultrazvuk, pulsirajuće električno polje te ubrzani toplinski tretman (Nardella i sur., 2021).

2.2. Pulsirajuće električno polje

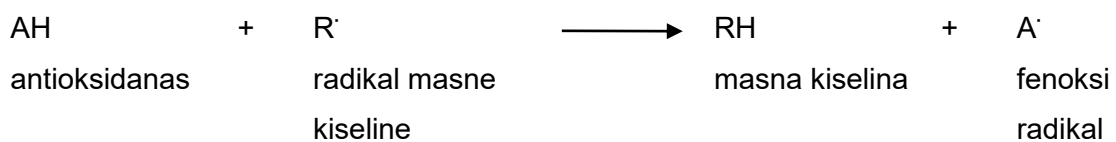
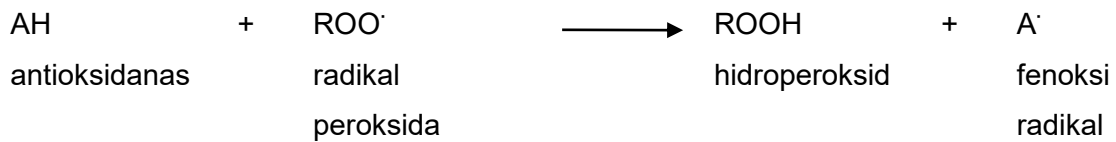
Pulsirajuće električno polje (PEP) (eng. Pulsed electric field) je inovativna, netermalna metoda obrade hrane koja koristi kratke impulse visokog napona, obično u rasponu od 20 do 80 kV/cm u vrlo kratkim vremenskim intervalima od nekoliko nanosekundi do nekoliko milisekundi. Prehrambeni proizvod se tijekom obrade nalazi između dvije elektrode. Budući da je pulsirajuće električno polje netermalna metoda eliminirano je značajno zagrijavanje hrane čime kvaliteta i početni sastav tretirane namirnice ostaju znatno bolje očuvani u usporedbi s konvencionalnom toplinskom obradom (Lovrić, 2003). Pulsirajuće električno polje, osim za sterilizaciju i inaktivaciju enzima, koristi se i za ekstrakciju tvari iz biljnog tkiva i nusproizvoda hrane, poput biljnog ulja, polifenola i pigmenata (Zhang i sur., 2018). Tretman pulsirajućim električnim poljem uzrokuje stvaranje pora na staničnoj membrani koje će, ovisno o primijenjenom intenzitetu, biti privremene ili stalne. Nastankom pora na staničnim membranama povećava se njihova propusnost što rezultira gubitkom staničnog sadržaja ili prodorom okolnog medija u stanicu (Abenoza i sur., 2013). Guderjan i sur. (2005) prvi su prepoznali i demonstrirali potencijal tretmana pulsirajućim električnim poljem za povećanje iskorištenja procesa ekstrakcije ulja za 6,5 – 7,4 %, ovisno o jakosti polja. Prilikom primjene inovativnih tehnologija potrebno je istražiti njihovo djelovanje na kvalitetu i senzorska svojstva. Primjena pulsirajućeg električnog polja za poboljšanje kvalitete namirnica povezano je s poboljšanjem boje, teksture, okusa, pigmenata karotenoida, fenolnih spojeva, vitamina te sposobnosti ekstrakcije bioaktivnih spojeva (Veneziani i sur., 2019). Puértolas i Martínez de Marañón (2015) su u svom istraživanju potvrdili da tretman pulsirajućim električnim poljem povećava prinos ulja, a uz to su rezultati njihovog istraživanja dokazali da tretman PEP-om ima utjecaj na povećavanje udjela polifenola, fitosterola i tokoferola, uz poštivanje EU zakonskih standarda za kvalitetno djevičansko maslinovo ulje. I druga su istraživanja potvrdila kako parametri kvalitete djevičanskog maslinovog ulja (udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj, K 232 i K 270) nisu pod utjecajem tretmana pulsirajućim električnim poljem (Abenoza i sur., 2013), kao ni oksidacijska stabilnost proizvoda koja je mogla biti narušena zbog mogućeg oslobađanja prooksidativnih metala iz PEP komora (Veneziani i sur., 2019). Senzorskom analizom utvrđeno je da primjena pulsirajućeg električnog polja ne uzrokuje formiranje neželjene senzorskih svojstava u ulju (Abenoza i sur., 2013).

2.3. Antioksidacijski kapacitet djevičanskog maslinovog ulja

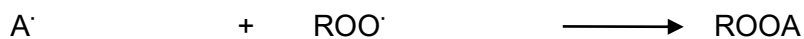
Djevičansko maslinovo ulje ima visoku oksidacijsku stabilnost i trajnost zbog sastava triacilglicerola u kojima dominira oleinska masna kiselina (C18:1) dok su višestruko nezasićene masne kiseline, koje su podložnije procesu oksidacije, prisutne u značajno nižim koncentracijama. Uz sastav triacilglicerola, boljoj oksidacijskoj stabilnosti i trajnosti doprinosi i prisutnost fenolnih antioksidanasa u koje najčešće ubrajamo polifenole i tokoferole. Oksidacijska stabilnost je od značajne važnosti prilikom skladištenja djevičanskog maslinovog ulja kako bi mogli odrediti rok trajanja ulja te definirati vrijeme njegova čuvanja bez narušavanja kvalitete (Moslavac i sur., 2009). Posljednjih godina, značajno je poraslo zanimanje za antioksidansima zbog njihovog pozitivnog djelovanja na bolesti uzrokovanih oksidativnim stresom kao što su ateroskleroza, visoki krvni tlak, dijabetes, kronične upale, neurodegenerativne bolesti poput Alzheimerove i Parkinsonove bolesti, te na određene vrste raka (Capanoglu i sur., 2018; Munteanu i Apetrei, 2021). Antioksidansi su molekule koje imaju sposobnost sprječavanja ili usporavanja oksidacije drugih molekula u ulju, odnosno njihovog oštećenja uzrokovanog slobodnim radikalima te na taj način produljuju njegovu trajnost. Djeluju na način da reagiraju sa slobodnim radikalima, nastalih oksidacijom nezasićenih masnih kiselina, otpuštajući pri tom vodik i formirajući stabilne spojeve (Bakarić i sur., 2008). Ovisno o mehanizmu djelovanja, antioksidansi se dijele na primarne i sekundarne. Primarni antioksidansi imaju sposobnost djelovanja na dva načina. Prvi je da otpuštaju svoj vodikov atom i predaju ga direktno slobodnom radikalnom masne kiseline ili peroksida, a drugi da slobodni radikal antioksidansa reagira sa slobodnim radikalnom masne kiseline ili peroksida. Na oba se načina prekida lančana reakcija te se usporava autooksidacija (slika 2). U najpoznatije primarne prirodne antioksidanse ubrajamo tokoferole, fenole i ekstrakte ružmarina dok u najpoznatije primarne sintetske antioksidanse ubrajamo butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoulen (BHT) i galate (Škevin, 2016). Sekundarni antioksidansi ili sinergisti djeluju tako da svoj vodikov atom predaju primarnom antioksidansu te ga na taj način obnavljaju. Uz to neki od njih, primjerice limunska kiselina, vežu tragove metala čime ih inaktiviraju te zaustavljaju njihovo prooksidacijsko djelovanje. Najpoznatiji prirodni sekundarni antioksidansi su fosfolipidi i skvalen, a sintetski limunska kiselina. Osim po mehanizmu djelovanja antioksidansi se dijele i na enzimске i neenzimске. U enzimске antioksidanse ubrajaju se superoksid dismutaza, katalaza i glutationperoksidaza (primarni) te glutationreduktaza i glukoza-6-fosfat dehidrogenaza (sekundarni), dok se u neenzimске ubrajaju već ranije spomenuti fenolni spojevi, karotenoidi, vitamini C i E te koenzim Q10. (Munteanu i Apetrei, 2021)

Antioksidacijski kapacitet je pojam koji daje informaciju o sposobnosti uzorka ili određenog

spoja u uzorku da neutralizira određenu količinu slobodnih radikala u određenom vremenu, ali ne daje informaciju o brzini reakcije. Za razliku od antioksidacijskog kapaciteta antioksidacijska aktivnost je pojam koji daje informaciju o tome kojom brzinom promatrani spoj ili uzorak reagiraju sa reaktivnom tvari. Direktni utjecaj na antioksidacijsku aktivnost imaju tlak, temperatura i pH (Laguerre i sur., 2007).



A^\cdot - neaktivni radikal



Slika 2. Mehanizam djelovanja antioksidanasa (Škarica i sur. 1996)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Kao materijal za izradu ovog završnog rada korišteni su uzorci djevičanskih maslinovih ulja dviju autohtonih hrvatskih sorti maslina: levantinke i oblice. Uzorci su proizvedeni laboratorijskim postupkom pri čemu je, nakon faze mljevenja, tijesto podvrgnuto predtretmanu pulsirajućim električnim poljem kako je opisano u završnom radu Makovac (2023). Upotrijebljeni parametri pulsirajućeg električnog polja, snaga električnog polja i vrijeme trajanja predtretmana za svaku od sorata prikazani su u tablici 1 i 2. Nakon proizvodnje uzorci su napunjeni u male bočice od tamnog stakla te je prostor iznad ulja ispunjen dušikom. Čuvani su pri temperaturi od 15-20 °C u tami kroz razdoblje od 12 i 16 mjeseci.

Tablica 1. Oznake uzoraka ulja **OBLICA (IZ=2,11)**, proizvodnja uz PEP 13. i 14. listopada 2022.

Oznaka uzorka	Jakost (kV/cm)	Napon	Vrijeme (s)
Kontrola	-	-	-
O-1	1	3	60
O-2	2	6	30
O-3	2	6	90
O-4	4,5	13,5	18
O-5	4,5	13,5	60
O-6	4,5	13,5	102
O-7	7	21	30
O-8	7	21	90
O-9	8	24	60

Tablica 2. Oznake uzoraka ulja **LEVANTINKA (IZ=2,11)**, proizvodnja uz PEP 13. i 14. listopada 2022.

Oznaka uzorka	Jakost (kV/cm)	Napon	Vrijeme (s)
Kontrola	-	-	-
L-1	1	3	60
L-2	2	6	30
L-3	2	6	90
L-4	4,5	13,5	18
L-5	4,5	13,5	60
L-6	4,5	13,5	102
L-7	7	21	30
L-8	7	21	90
L-9	8	24	60

3.2. Metode

3.2.1. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta EPR spektroskopijom

Određivanje antioksidacijskog kapaciteta uzoraka ulja EPR spektroskopijom provedeno je metodom objavljenom u diplomskom radu Pejić (2022). U navedenoj se metodi, u otopinu slobodnog radikala DPPH dodaje točno određeni volumen uzorka ulja nakon čega se prati proces inaktivacije DPPH radikala elektronskom paramagnetskom rezonancijom (EPR) pod utjecajem antioksidanasa prisutnih u ulju.

Priprema reagensa za analizu

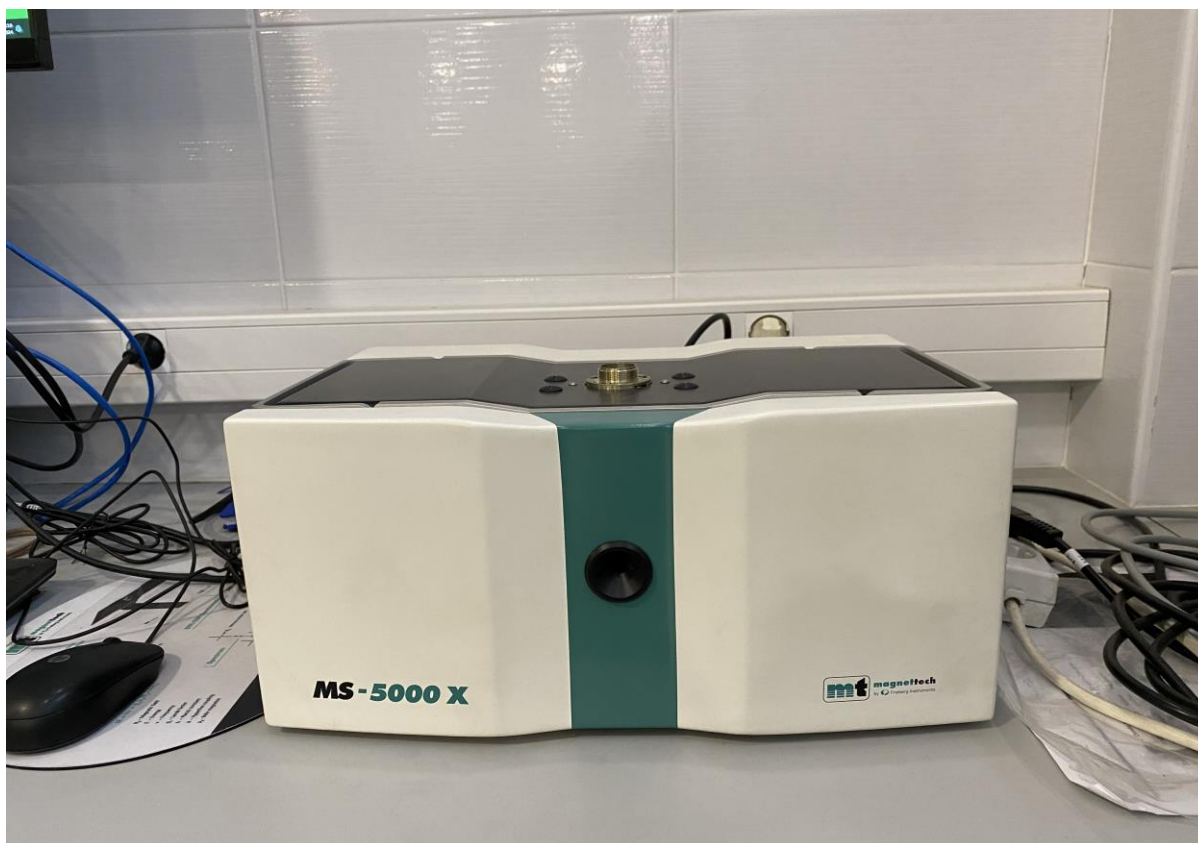
Priprema otopine DPPH radikala u etil-acetatu provodi se 24 sata prije analize. Za pripremu 100 mL otopine koncentracije 0,15 mM, potrebno je precizno izvagati 5,91 mg DPPH[•] na analitičkoj vagi (KERN ABP 200-5DM, KERN & SOHN). Za pripremu otopine kao otapalo se koristi etil-acetat kojega je prije upotrebe potrebno propuhati 5 minuta s dušikom kako bi se uklonio sav kisik. Izvagani DPPH[•] se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL uz pomoć lijevka te se nadopuni do oznake s propuhanim etil-acetatom. Odmjerna tikvica s pripremljenom otopinom se u potpunosti omota aluminijskom folijom kako bi se slobodni

radikali zaštitili od svjetlosti te se 3 minute promiješa na Vortex uređaju. Nakon miješanja otopina se čuva u hladnjaku na temperaturi od +4 °C.

Postupak određivanja antioksidacijskog kapaciteta

Za mjerenje antioksidacijskog kapaciteta koristi se EPR spektrometar Magnettech MS-5000, tvrtke Freiburg Instruments (slika 3).

U mikropruветu od 2 mL doda se 980 μ L otopine DPPH[•] te 20 μ L uzorka ulja. U trenutku kontakta ulja i otopine DPPH[•] pokreće se štoperica, reakcijska otopina se miješa na Vortex uređaju 10 sekundi te se sprema u tamu na 27 minuta. Nakon isteka 27 minute reakcijska otopina se puni u kapilaru u kojoj se provodi mjerenje te stavlja u instrument. Snimanje EPR spektra na instrumentu započinje točno nakon 30 minuta od početka reakcije. Na početku svakog radnog dana izvodi se mjerenje slijepe probe, te se isto čini svakih 2 sata tokom trajanja analize. Slijeпа probа priprema se na isti način kao i uzorak, no umjesto ulja dodaje se 20 mL etil-acetata.



Slika 3. Magnettech MS – 5000 (Freiburg instruments) EPR spektrometar
(vlastita fotografija)

Mjerenje se provodi pri sobnoj temperaturi, s jakosti centralnog magnetskog polja između 331,00 i 343,00 mT, amplitudi modulacije od 0,20 mT, snazi mikrovalnog zračenja od 10 mW te frekvenciji od 100 kHz. Postavljanje parametara, snimanje spektra i obrada rezultata izvode se korištenjem softverskog paketa ESR Studio. Za određivanje postotka redukcije DPPH[·], visina intenziteta signala srednjeg pika spektra DPPH[·] u reakcijskoj smjesi uspoređuje se s visinom signala probe. Postotak redukcije je proporcionalan antioksidacijskom kapacitetu te se računa prema formuli [1]:

$$\% \text{ redukcije DPPH}^{\cdot} = 100 \cdot \frac{\text{visina signala}_{\text{stijepa proba}} - \text{visina signala}_{\text{uzorak}}}{\text{visina signala}_{\text{stijepa proba}}} \quad [1]$$

3.2.2. Statistička obrada

Dobiveni rezultati su statistički obrađeni pomoću analize varijance s ponavljanjima (ANOVA) uz razinu značajnosti od 95% ($p \leq 0,05$) te su međusobno uspoređeni Tukey testom kako bi se utvrdile razlike između uzoraka. Statistička obrada provedena je koristeći program Microsoft Excel.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U skladu sa zakonskom regulativom (Uredba EU 1308/2013), kako bi se ulje moglo deklarirati kao djevičansko maslinovo ulje (DMU), mora biti proizvedeno isključivo mehaničkim postupcima. Nakon čišćenja i pranja plodova masline, ovi postupci uključuju mljevenje, miješenje te izdvajanje ulja prešanjem na hidrauličkim prešama otvorenog tipa ili centrifugalnom ekstrakcijom. Problemi suvremene proizvodnje DMU su smanjeno iskorištenje proizvodnje zbog nemogućnosti suvremenih metalnih, ali i tradicionalnih kamenih mlinova da razore sve prisutne stanice u plodu masline te gubitci polifenola u nusproizvodima proizvodnje odnosno u komini i vegetabilnoj vodi (Nardella i sur., 2021). Potencijalno rješenje se traži u primjeni pulsirajućeg električnog polja (PEP) kao predtretmana miješenju. PEP inducira stvaranje mikroporacija u staničnim membranama, čime povećava njihovu propusnost i olakšava izdvajanje ulja iz stanice (Abenoza i sur., 2013). Prilikom primjene inovativnih tehnologija moramo biti sigurni da neće narušiti kvalitetu i nutritivnu vrijednost DMU. Stoga je važno ispitati svojstva ulja proizvedena uz PEP, odnosno važno je ispitati kako primjena PEP-a djeluje na negliceridnu frakciju DMU, odnosno na prirodne antioksidanse. To se prati određivanjem antioksidacijskog kapaciteta, a u ovom je radu odabrana metoda elektronske paramagnetske rezonancije (EPR). Osim PEP-a, uvjeti skladištenja također imaju značajan utjecaj na oksidacijsku stabilnost. Pravilno skladištenje omogućava produljenje oksidacijske stabilnosti DMU. U ovom radu prati se trajnost ulja proizvedenog uz primjenu PEP-a u stvarnim uvjetima skladištenja, u tamnim bocama pri temperaturi ispod 22°C. Cilj rada je ispitati kako skladištenje do 16 mjeseci utječe na antioksidacijski kapacitet DMU iz oblice i levantinke proizvedenih uz PEP kao predtretman.

U tablici 3. prikazani su rezultati antioksidacijskog kapaciteta, izraženi kao % redukcije DPPH radikala, monosortnih DMU sorte oblica proizvedenih uz PEP predtretman skladišteni 12 i 16 mjeseci. Uspoređujući antioksidacijski kapacitet uzoraka ulja oblice skladištenih 12 mjeseci tretiranih PEP-om s kontrolnim uzorkom primjećujemo da uzorci podvrgnuti tretmanu PEP-a pri jakosti električnog polja od 1 kV/cm kroz 60 sekundi, 2 kV/cm kroz 30 i 90 sekundi te 4,5 kV/cm pri 60 i 102 sekunde pokazuju značajan statistički pad. S druge strane, uspoređujući iste uzorke tretirane PEP-om nakon 16 mjeseci skladištenja primjećujemo da uzorci podvrgnuti jakosti električnog polja pri 1 kV/cm kroz 60 sekundi, 2 kV/cm kroz 30 i 90 sekundi, 4,5 kV/cm kroz 18, 60 i 102 sekunde te 7 kV/cm kroz 90 sekundi pokazuju značajan statistički rast antioksidacijskog kapaciteta u odnosu na kontrolni uzorak.

Tablica 3. Antioksidacijski kapacitet uzoraka DMU-a sorte oblice tretiranih PEP-om

Uzorak	12 mj	16 mj
O-kontrola	22,08 ± 0,54ac	16,87 ± 0,14bd
O-1	19,79 ± 0,17e	20,17 ± 0,25e
O-2	21,02 ± 0,49f	21,92 ± 0,21f
O-3	21,06 ± 0,01g	20,77 ± 0,04g
O-4	21,94 ± 0,19ah	21,47 ± 0,06h
O-5	16,98 ± 0,53i	18,69 ± 0,32j
O-6	20,63 ± 0,06k	22,24 ± 0,04l
O-7	22,28 ± 0,27a	15,97 ± 0,17b
O-8	21,48 ± 0,06a	23,37 ± 0,11m
O-9	22,75 ± 0,43a	17,59 ± 0,23b

*Vrijednosti označene različitim slovima statistički su različite ($p \leq 0,05$) prema Tukeyjevom testu višestruke usporedbe

Budući da su ranija istraživanja dokazala da sastav i količina polifenola u djevičanskom maslinovom ulju imaju značajan utjecaj na antioksidacijski kapacitet te da su Martínez-Beamonte i sur. (2022) te Veneziani i sur. (2019) u svojim radovima zaključili da tretman PEP-om povećava propusnost staničnih membrana što rezultira povećanjem fenolnih spojeva za 3,2% do 14,3% možemo zaključiti da je porast antioksidacijskog kapaciteta rezultat povećanja fenolnih spojeva u DMU proizvedenim uz OEP predtretman. Uspoređujući rezultate uzoraka na temelju vremena skladištenja primjećujemo da antioksidacijski kapacitet kontrolnog uzorka pokazuje značajan pad nakon 16 mjeseci skladištenja u odnosu na 12 mjeseci skladištenja. Osim kontrolnog uzorka značajan niži antioksidacijski kapacitet nakon 16 mjeseci skladištenja, u odnosu na 12 mjeseci, pokazuju i uzorci podvrgnuti jakosti električnog polja od 7 kV/cm kroz 30 sekundi i 8 kV/cm kroz 60 sekundi, dok statistički značajan porast imaju uzorci podvrgnuti jakosti električnog polja od 4,5 kV/cm kroz 60 i 102 sekunde, te 7 kV/cm kroz 90 sekundi.

Uspoređujući dobivene rezultate uzoraka ulja sorte oblica skladištenih 12 i 16 mjeseci iz ovog rada s rezultatima u završnom radu Makovac (2023) u kojemu je istraživao utjecaj PEP-a na antioksidacijski kapacitet ali u sviježe proizvedenim uzorcima, vidljivo je kako vrijednost antioksidacijskog kapaciteta varira s parametrima primijenjenog predtretmana te s vremenom skladištenja. Antioksidacijski kapacitet uzoraka skladištenih 12 mjeseci podvrgnutih tretmanu PEP-a pri jakosti električnog polja od 1 kV/cm kroz 60 sekundi, 4,5 kV/cm kroz 60 i 102 sekunde te pri jakosti od 7 kV/cm kroz 90 sekundi se snizio dok se kod ostalih uzoraka, uključujući i kontrolni uzorak, povisio. Kod uzoraka skladištenih 16 mjeseci antioksidacijski kapacitet

povisio se kod uzoraka podvrgnutih tretmanu PEP-a pri jakosti električnog polja od 1 kV/cm kroz 60 i 90 sekundi te 7 kV/cm kroz 90 sekundi, dok se kod ostalih uzoraka snizio. Porast antioksidacijskog kapaciteta kod određenih uzoraka nakon 12 i 16 mjeseci skladištenja moguće je pripisati promjeni fenolnog sastava ulja tijekom vremena skladištenja, odnosno razgradnji složenih fenola, sekoiridoida, te proporcionalnim povećanjem koncentracije fenola niže molekulske mase hidroksitirosola i derivata elenolne kiseline (Lozano-Sánchez i sur., 2013). Gouvinhas i sur. (2014) i Fratianni i sur. (2019) su u svojim istraživanjima zaključili da su antioksidacijski kapacitet i sadržaj ukupnih fenola u ulju u proporcionalnom odnosu.

U tablici 4. prikazani su rezultati analize varijance rezultata antioksidacijske aktivnosti nakon 12 i 16 mjeseci skladištenja za ulje sorte oblica. Vidljivo je da primjenjeni uvjeti PEP predtremana, vrijeme skladištenja te njihova međusobna interakcija imaju statistički visoko značajan utjecaj na antioksidacijski kapacitet djevičanskog maslinovog ulja

Tablica 4. Analiza varijance rezultata antioksidacijske aktivnosti u uzorcima različitih uvjeta proizvodnje tijekom 12 i 16 mjeseci skladištenja za oblicu

<i>Izvor varijabilnosti</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-vrijednost</i>	<i>F crit</i>
Uvjeti PEP	70,18277	9	7,798086	106,3479	p<0,001	2,392814
Vrijeme skladištenja	12,00509	1	12,00509	163,7217	p<0,001	4,351244
Interakcija	91,84298	9	10,20478	139,1696	p<0,001	2,392814

U tablici 5. prikazani su rezultati antioksidacijskog kapaciteta monosortnih DMU sorte levantinka proizvedenih uz PEP kao predtretman skladištenih 12 i 16 mjeseci. Svi uzorci ulja sorte levantinka skladištenih 12 mjeseci tretiranih PEP-om, osim uzoraka tretiranih pri jakosti električnog polja od 4,5 kV/cm kroz 60 sekundi (L-5) i 7 kV/cm kroz 90 sekundi (L-8), pokazuju značajno viši antioksidacijski kapacitet od kontrolnog uzorka. Uspoređujući uzorke nakon 16 mjeseci skladištenja primjećujemo sličan trend. Svi uzorci tretirani PEP-om pokazuju viši antioksidacijski kapacitet od kontrolnog uzorka osim uzoraka L-2 (2 kV/cm kroz 30 sekundi), L-5 (4,5 kV/cm kroz 60 sekundi), L-7 (7 kV/cm kroz 30 sekundi) i L-8 (7 kV/cm kroz 90 sekundi). U kontrolnom uzorku DMU sorte levantinka, za razliku od kontrolnog uzorka sorte oblice, došlo je do blagog povećanje antioksidacijskog kapaciteta s dužim vremenom skladištenja. Isti je trend primijećen kod uzoraka podvrgnutih jakosti električnog polja od 1

kV/cm kroz 60 sekundi, 4,5 kV/cm kroz 18 sekundi, 7 kV/cm kroz 90 sekundi te 8 kV/cm kroz 60 sekundi. S druge strane, uzorci tretirani pod uvjetima jakosti električnog polja od 2 kV/cm kroz 30 i 90 sekundi, 4,5 kV/cm kroz 102 sekunde te 7 kV/cm kroz 30 sekundi pokazali su statistički značajan pad antioksidacijskog kapaciteta.

Tablica 5. Antioksidacijski kapacitet uzoraka DMU-a sorte levantinke tretiranih PEP-om

Uzorak	12 mj	16 mj
L-kontrola	45,25 ± 0,17a	46,55 ± 0,37j
L-1	46,06 ± 0,65a	49,19 ± 0,23k
L-2	45,71 ± 0,65b	41,03 ± 0,24l
L-3	52,71 ± 0,06c	49,69 ± 0,00m
L-4	47,12 ± 0,00d	47,92 ± 0,22j
L-5	42,63 ± 0,62e	42,63 ± 0,02j
L-6	50,81 ± 0,55f	48,95 ± 0,06n
L-7	49,17 ± 0,19g	44,67 ± 0,40o
L-8	40,50 ± 0,47h	41,49 ± 0,10j
L-9	47,69 ± 0,49i	49,48 ± 0,34p

*Vrijednosti označene različitim slovima statistički su različite ($p \leq 0,05$) prema Tukeyjevom testu višestruke usporedbe

Uspoređujući dobivene rezultate uzoraka ulja sorte levantinka skladištenih 12 i 16 mjeseci iz ovog rada s rezultatima u završnom radu Makovac (2023) primjećujemo da se uzorcima podvrgnutim jakosti električnog polja od 4,5 kV/cm kroz 18 sekundi, 7 kV/cm kroz 90 sekundi i 8 kV/cm kroz 60 sekundi antioksidacijski kapacitet povisio s vremenom skladištenja od 12 i 16 mjeseci, dok se uzorcima podvrgnutim jakosti električnog polja od 4,5 kV/cm kroz 60 sekundi i 7 kV/cm kroz 30 sekundi antioksidacijski kapacitet s vremenom skladištenja snizio. U tablici 6. prikazani su rezultati analize varijance rezultata antioksidacijske aktivnosti nakon 12 i 16 mjeseci skladištenja za ulje sorte levantinka. Iz nje zaključujemo da uvjeti PEP-a imaju statistički visoko signifikantan utjecaj na antioksidacijski kapacitet djevičanskog maslinovog ulja zajedno sa vremenom skladištenjem kao i njihovom interakcijom.

Tablica 6. Analiza varijance rezultata antioksidacijske aktivnosti u uzorcima različitih uvjeta proizvodnje tijekom 12 i 16 mjeseci skladištenja za levantinku

<i>Izvor varijabilnosti</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-vrijednost</i>	<i>F crit</i>
Uvjeti PEP	382,9124731	9	42,54583	320,0455	p<0,001	2,392814
Vrijeme skladištenja	3,658293818	1	3,658294	27,51904	p<0,001	4,351244
Interakcija	67,46279155	9	7,495866	56,38667	p<0,001	2,392814

Uspoređujući oblicu i levantinku zaključujemo da levantinka ima značajno viši antioksidacijski kapacitet, odnosno sadrži puno više antioksidanasa od oblice. Isto tako, vidimo kako primijenjeni uvjeti PEP-a imaju različito djeluju na antioksidacijski kapacitet ulja proizvedenih iz različitih sorti što upućuje na to da bi se parametri predtretmana trebali optimirati za svaku pojedinu sortu. Uspoređujući dobivene rezultate antioksidacijskog kapaciteta ovisno o vremenu skladištenja primjećujemo da u većini uzoraka dolazi do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta s vremenom skladištenja, ali ne u svim uzorcima. To nije u skladu s dosadašnjim istraživanjima jer bi se antioksidacijski kapacitet s vremenom skladištenja trebao smanjivati zbog razgradnje antioksidativnih spojeva kao što su Okogeri i Tasioula-Margari (2002) dokazali u svome radu. Povećanje antioksidacijskog kapaciteta kod određenih uzoraka pripisujemo izrazito velikoj osjetljivosti korištene metode.

5. ZAKLJUČCI

1. Monosortna djevičanska maslinova ulja proizvedena iz sorte levantinke imaju značajno viši antioksidacijski kapacitet od ulja proizvedenih od sorte oblice
2. Uvjeti pulsirajućeg električnog polja, vrijeme skladištenje te njihova međusobna interakcija imaju statistički visoko signifikantan utjecaj na antioksidacijski kapacitet DMU.
3. Antioksidacijski kapacitet se smanjuje tijekom skladištenja, ali povećava korištenjem pulsirajućeg električnog polja kao predtretmana miješenju.
4. Utjecaj parametra predtretmana (snaga električnog polja i vrijeme predtretmana) na antioksidacijski kapacitet proizvedenih djevičanskih maslinovih ulja značajno ovisi o izboru sorte.

6. POPIS LITERATURE

Abenoza M, Benito M, Saldaña G, Álvarez I, Raso J, Sánchez-Gimeno AC (2013) Effects of pulsed electric field on yield extraction and quality of olive oil. *Food Bioprocess Technol* **6**, 1367–1373. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0817-6>

Bakarić P, Bjeliš M, Brekalo B, Bulimbašić-Botteri M, Duić-Pribičević V, Džidić L, Elezović D, Goreta S, Gugić J, Jurišić Z, Kobol M, Koprivnjak O, Kovačević I, Krnčević Ž, Krstić M, Lazović B, Penavin K, Perica M, Perica S, Pribetić Đ, Rošin J, Somerville M, Strikić F, Škarica B, Škevin D, Vesel V, Vuletin-Selak G, Zadro B, Žanetić M (2008) Maslina i maslinovo ulje od A do Ž, Naklada Zadro, Zagreb, str. 51, 189-191, 199, 216.

Capanoglu E, Kamiloglu S, Ozkan G, Apak R (2018) Evaluation of antioxidant activity/capacity measurement methods for food products. U: Apak R, Capanoglu E, Shahidi F (ured.) Measurement of antioxidant activity & capacity: recent trends and applications, Wiley, Hoboken, str. 275-285.

Fратиани F, Cozzolino R, Martignetti A, Malorni L, d'Acerno A, De Feo V, da Cruz AG, Nazzaro F (2019) Biochemical composition and antioxidant activity of three extra virgin olive oils from the Irpinia Province, Southern Italy. *Food Sci Nutr* **7**, 3233-3243. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1180>

Gouvinhas I, Machado J, Gomes S, Lopes J, Martins-Lopes P, Barros A.I.R.N.A. (2014), Phenolic composition and antioxidant activity of monovarietal and commercial portuguese olive oils. *J Am Oil Chem Soc* **91**, 1197-1203. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2462-x>

Guderjan M, Toepfl S, Angersbach A, Knorr D (2005) Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *J Food Eng* **67**, 281-287. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.029>

Koprivnjak O (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, MIH, Poreč.

Koprivnjak O, Červar A (2010) Proizvodne karakteristike maslinarsko-uljarske djelatnosti. *Agronomski glasnik* **72**, 137.

Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P (2007) Evaluation of the ability of antioxidants to

counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. *Prog Lipid Res* **46**, 244-282. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.05.002>

Lovrić T (2003) *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, str. 262-282.

Lozano-Sánchez J, Bendini A, Quirantes-Piné R, Cerretani L, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A (2013) Monitoring the bioactive compounds status of extra-virgin olive oil and storage by-products over the shelf life. *Food Control* **30**, 606-615. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.036>

Makovac E (2023) Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na antioksidacijski kapacitet hrvatskih djevičanskih maslinovih ulja (završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Martínez-Beamonte R, Ripalda M, Herrero-Continente T, Barranquero C, Dávalos A, López de las Hazas MC, Álvarez-Lanzarote I, Sánchez-Gimeno AC, Raso J, Arnal C, Sura JC, Osada J, Navarro MA (2022) Pulsed electric field increases the extraction yield of extra virgin olive oil without loss of its biological properties. *Front Nutr* **9**, 1065543. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1065543>

Moslavac T, Volmut K, Benčić Đ (2009) Oksidacijska stabilnost biljnih ulja s dodatkom antioksidansa. *Glasnik zaštite bilja* **32**, 136-145.

Munteanu IG, Apetrei C (2021) Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. *Int J Mol Sci* **22**, 1-30. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Nardella M, Moschetti R, Chakravartula SSN, Bedini G, Massantini R (2021) A review on highpower ultrasound-assisted extraction of olive oils: Effect on oil yield, quality, chemical composition and consumer perception. *Foods* **10**, 2743. <https://doi.org/10.3390/foods10112743>

Pejić A (2022) Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na antioksidacijski kapacitet i aktivnost djevičanskog maslinovog ulja (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Puértolas E, Martínez de Marañón I (2015) Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chem* **167**, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.029>

Škarica B, Žužić I, Bonifačić M (1996) Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, 1. izd., Punat, str. 46-75, 137-158.

Škevin D (2016) Interna skripta iz Procesa prerade i maslina i kontrola kvalitete proizvoda, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Okogeri O, Tasioula-Margari M (2002). Changes occurring in phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage. *J Agric Food Chem* **50**, 1077-1080. <https://doi.org/10.1021/jf010895e>

Sito S, Strikić F, Bilandžija N, Fabijanić G, Bernobich Veronese A, Martinec J, Arar M (2013) Suvremena tehnika u berbi maslina, *Glasnik zaštite bilja* **5**, 45-51.

UREDBA (EU) br. 1308/2013 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 17. prosinca 2013. o uspostavljanju zajedničke organizacije tržišta poljoprivrednih proizvoda i stavljanju izvan snage uredbi Vijeća (EEZ) br. 922/72, (EEZ) br. 234/79, (EZ) br. 1037/2001 i (EZ) br. 1234/2007.

Veneziani G, Esposito S, Taticchi A, Selvaggini R, Sordini B, Lorefice A, Daidone L, Pagano M, Tomasone R, Servili M (2019) Extra-Virgin Olive Oil Extracted Using Pulsed Electric Field Technology: Cultivar Impact on Oil Yield and Quality. *Front Nutr* **6**, 134. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00134>

Zhang ZH, Wang LH, Zeng XA, Han Z, Brennan C (2018). Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: a review. *Int J Food Sci Tech* **54**, 1-13. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13903>.

Izjava o izvornosti

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

IvaM.

Vlastoručni potpis