

Laboratorijska proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja iz istarskih sorti maslina, potpomognuta djelovanjem pulsirajućeg električnog polja

Šapina, Sara

Undergraduate thesis / Završni 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:159:737566>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-06**



Repository / Repozitorij:

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



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

Sara Šapina
0058217622

**LABORATORIJSKA PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG
MASLINOVOG ULJA IZ ISTARSKIH SORTI MASLINA,
POTPOMOGNUTA DJELOVANJEM PULSIRAJUĆEG
ELEKTRIČNOG POLJA**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog 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: prof. dr. sc. Sandra Balbino

Zagreb, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Kabinet za tehnološko projektiranje

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Laboratorijska proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja iz istarskih sorti maslina,
potpomognuta djelovanjem pulsirajućeg električnog polja
Sara Šapina, 0058217622

Sažetak:

Znanstvenici i proizvođači djevičanskog maslinovog ulja aktivno rade na poboljšanju procesa ekstrakcije ulja s ciljem bolje kvalitete ulja i prinosa ekstrakcije. Tehnologija pulsirajućeg električnog polja (PEP) je obećavajuća inovacija u tom pogledu. Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj tretmana maslinovog tijesta istarskih sorti maslina rosulja i istarska bjelica pulsirajućim električnim poljem (PEP) na iskorištenje procesa, odnosno prinos ulja. Provedena je laboratorijska proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja, a rezultati su pokazali povećanje iskorištenja do 28,63 % u odnosu na kontrolni uzorak kod sorte istarska bjelica, i do 40,63 % kod sorte rosulja. Ovaj rad potvrdio je pozitivan utjecaj primjene pulsirajućeg električnog polja kao predtretmana miješenju na iskorištenje procesa, kao i ovisnost povećanja iskorištenja procesa o sorti masline i različitim sastavima ploda te uvjetima obrade PEP tehnologijom.

Ključne riječi: djevičansko maslinovo ulje, pulsirajuće električno polje, centrifugalna ekstrakcija, istarske sorte maslina

Rad sadrži: 33 stranice, 8 slika, 5 tablica, 49 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: prof. dr. sc. Sandra Balbino

Pomoć pri izradi: Melisa Trputec, tehnički suradnik

Datum obrane: 14. rujna 2023

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

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

Department of Food Engineering
Technological design cabinet
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Laboratory production of virgin olive oil from Istrian olive varieties, supported by the application of pulsed electric field
Sara Šapina, 0058217622

Abstract:

The virgin olive oil researchers and producers are actively working on improving the oil extraction process with the aim of better oil quality and extraction yield. Pulsed electric field (PEF) technology is a promising innovation in this regard. The aim of this study was to investigate the influence of the treatment of the olive paste of the Istrian rosulja and Istrian bjelica varieties with a pulsed electric field (PEF) on the utilization of the process, i.e. oil yield. Laboratory production of virgin olive oil was carried out, and the results showed an increase in yield up to 28,63 % in comparison to the control sample for the Istrian bjelica variety, and up to 40,63 % for the rosulja variety. This study confirmed the positive impact of the application of a pulsed electric field as a pre-treatment to malaxation on process utilization, as well as the dependence of the increase in process utilization on the olive variety and different proportions of the olive's composition, as well as the processing conditions of PEF technology.

Keywords: virgin olive oil, pulsed electric field, centrifugal extraction, Istrian olive varieties

Thesis contains: 33 pages, 8 figures, 5 tables, 49 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: Sandra Balbino, PhD, Associate Professor

Technical support and assistance: Melisa Trputec, technical associate

Thesis defended: September 14, 2023

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. MASLINA (OLEA EUROPEA L.).....	2
2.1.1. ISTARSKA BJELICA	2
2.1.2. ROSULJA.....	3
2.2. KARAKTERISTIKE I PROIZVODNJA DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA.....	4
2.3. CENTRIFUGALNA EKSTRAKCIJA ULJA IZ MASLINOVOG TIJESTA	7
2.4. TEHNOLOGIJA PULSIRAJUĆEG ELEKTERIČNOG POLJA U EKSTRAKCIJI ULJA	9
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	12
3.1. MATERIJALI.....	12
3.1.1. MASLINE.....	12
3.1.2. LABORATORIJSKA OPREMA	12
3.2. METODE.....	12
3.2.1. ČIŠĆENJE I PRANJE MASLINA	12
3.2.2. MLJEVENJE I DROBLJENJE	13
3.2.4. OBRADA MASLINOVOG TIJESTA PULSIRAJUĆIM ELEKTRIČNIM POLJEM	13
3.2.5. MIJEŠENJE.....	16
3.2.6. IZDVAJANJE ULJA IZ MASLINOVOG TIJESTA.....	16
3.2.7. ODREĐIVANJE INDEKSA ZRELOSTI	17
3.2.8. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U PLODOVIMA MASLINE	19
3.2.9. ODREĐIVANJE UDJELA ULJA U PLODOVIMA MASLINA	19
3.2.10. ODREĐIVANJE ISKORIŠTENJA LABORATORIJSKOG POSTUPKA PROIZVODNJE	20
3.2.11. ODREĐIVANJE EKSTRATIBILNOSTI.....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
5. ZAKLJUČCI.....	26
6. POPIS LITERATURE.....	27

1. UVOD

Maslina (*Olea europea L.*) predstavlja relativno malo zimzeleno stablo iz porodice maslina (*Oleaceae*), uskih srebrnastih listova i malih bijelih cvjetova, a poznato je po svojoj dugovječnosti. Njezini plodovi su mesnate koštunice jajastog oblika, obično duge između 1 i 3 cm, te široke do 2 cm. Većina svjetske proizvodnje maslinovog ulja potječe iz obalnih područja mediteranskih zemalja (Kiritsakis i Markakis, 2008).

Maslinovo ulje nalazi se najvećim dijelom (više od 95 %) u pulpi masline, a manjim dijelom u sjemenki ploda. To ga razlikuje od ostalih biljnih ulja koja se dobivaju isključivo iz sjemenke (Gugić i Ordulj, 2006). Većinski dio ulja (76 %) u plodu masline nalazi se u vakuolama stanica, zbog čega se vrši meljava ploda (Abenoza i sur., 2012). Mljevenjem se razara stanična struktura što dovodi do oslobađanja ulja. S obzirom da se na taj način ne narušava stanična struktura svake stanice, dio ulja ostaje zarobljeno u vakuolama što posljedično dovodi do relativno niskog iskorištenja proizvodnog procesa te se zbog toga danas istražuju inovativne tehnologije u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja koje bi omogućile povišenje iskorištenja proizvodnog procesa, kao i doprinijele poboljšanju cjelokupnog proizvodnog procesa i kvaliteti ulja.

U ovom radu ekstrakcija maslinovog ulja iz istarskih sorti istarska bjelica i rosulja, potpomognuta je djelovanjem pulsirajućeg električnog polja gdje je maslinovo tijesto prije faze miješenja podvrgnuto tretmanu ove inovativne tehnologije. Osnovni princip rada ove tehnologije jest aplikacija visokog napona (0,5-80 kV/cm) na prehrambeni proizvod smješten između dvije elektrode (Elez-Martinez i sur., 2017). Električni tretman probija biološku membranu te ona reverzibilno ili ireverzibilno gubi svoju polupropusnost, što onda može poslužiti u svrhu ekstrakcije.

Cilj ovog rada jest opisati laboratorijsku proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja iz istarskih sorti maslina, potpomognutu djelovanjem pulsirajućeg električnog polja, i utvrditi utjecaj pulsirajućeg električnog polja na iskorištenje procesa proizvodnje.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Maslina (*Olea europea L.*)

Maslina (*Olea europaea L.*) je stablo poznato po svojim plodovima, maslinama, koštunicama ovalnog oblika, koji variraju u veličini i boji i koriste se za proizvodnju maslinovog ulja. Ovisno o sorti masline, djevičansko maslinovo ulje može imati raznoliku aromu i okus. Može biti voćno, zeleno, pikantno, slatko ili gorkasto, te sadržavati različite note poput trave, bilja i orašastih plodova. Maslina ima širok spektar primjena u prehrambenoj industriji, kozmetici, medicini i kulturi te se smatra najstarijom kultiviranom biljnom vrstom. U procesu uzgoja maslina, redovito obrezivanje je ključno kako bi se očuvala produktivnost i oblik stabla. Zahtijeva toplu klimu i obilje sunčeve svjetlosti budući da je osjetljiva na promjene vremena i položaj (Kantoci, 2006).

Plod masline sadrži do 70 % vode, 1,6 % proteina, 22 % ulja, 19,1 % ugljikohidrata, 5,8 % celuloze i 1,5 % pepela (Klepo i Benčić, 2014). Lišće je usko, eliptično, tamnozeleno s gornje strane i srebrno-sivo s donje strane. Cvjetovi su sitni i bijeli, obično se nalaze u skupinama, a iz njih se razvija plod koji sadrži sjeme.

Na obalnim prostorima Hrvatske maslinovo drvo zauzima središnje mjesto među voćnim kulturama i pokriva površinu od oko 27000 ha. U Hrvatskoj se uzgajaju različite sorte maslina, ali među njima dominira oblica koja čini 75 % svih maslinovih stabala (Kovačević i Perica, 1994).

2.1.1. Istarska bjelica

Istarska bjelica autohtona je sorta karakteristična za istočnu obalu Jadranskog mora, područje Istre i Kvarnera, gdje ima posebno značenje u kulturi i gospodarstvu. Ime bjelica upućuje na svijetlu nijansu ploda koji je često svijetlo zelene do žućkaste boje. Plod je jajolik, simetričan, srednje veličine, a u fazi potpune zrelosti je svijetložute boje s brojnim pjegama, povremeno blago obogaćenim ljubičastim tonovima. Vrh ploda je blago zaobljen, dok mu je baza odrezana. Listovi su karakteristično eliptični, lagano spiralno uvijeni, zelenih nijansi i srednje veličine, kao što je prikazano na slici 1. (Maslinar, 2019).

Osobina ove sorte je kasno dozrijevanje i dosezanje tehnološke zrelosti kod promjene potkožice iz zelene u zeleno-žutu boju.

Ulje koje se dobiva iz istarske bjelice karakterizira snažna pikantnost i gorčina. Srednje je izražena voćnost, a prevladava aroma lišća, trave, radiča i aromatičnog bilja, te spada u jako izražena neharmonična ulja (Maslinar, 2019). Istarska bjelica prema Brkić i sur. (2006) sadrži 47,7 – 49,1 % ulja na suhu tvar. Ovo ulje izuzetno je bogato fenolima, te su Koprivnjak i suradnici (2012) odredili maseni udio ukupnih fenola u uzorcima ulja od 642,0±61,7 mg/kg, što je dva do četiri puta više u usporedbi sa ostalim sortama.



Slika 1. List, plod i koštica sorte istarska bjelica. (Institut i uzgoj maslina, 2020)

2.1.2. Rosulja

Rosulja je istarska sorta masline koja se najviše uzgaja u okolici Rovinja, Vodnjana i Vrsara, te raste od Linskog kanala do Bala. Plod joj je mali i simetričan, jajolikastog oblika, težina mu je oko 2,5 grama, a kada poprimi ljubičastu boju na sebi ima brojne pjege (Godena i sur., 2009). Plodovi na izboju grančica se pojavljuju u grozdovima (Sladonja i sur., 2006). Izgled lista, ploda i koštice rosulje prikazan je na slici 2.

Ova sorta masline, uz primjerenu njegu, obilno donosi plodove i igra važnu ulogu u oprašivanju ostalih domaćih sorti. Krošnja joj je gusta i okruglasta, bujnog rasta, zbog čega je nužna redovita rezidba. Plodovi rosulje sadrže oko 65 % vode (Sladonja i sur., 2006). Količina ulja u suhoj tvari tijesta prema Bubola i sur. (2012) je oko 40 % u kasnom roku berbe, te približno 30 % u ranom roku berbe. Ovi rezultati su u skladu s ranijim rezultatima istraživanja Brkić i sur. (2006) o udjelu ulja u suhoj tvari tijesta maslina sorte rosulja koji se kretao u rasponu od 43,7 do 45,4 %. Ulje je pikantno, umjereno gorko i intenzivnog mirisa.



Slika 2. List, plod i koštica sorte rosulja. (Institut i uzgoj maslina, 2020)

2.2. Karakteristike i proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja

Prema Uredbi (EU) br. 1308/2013 - zajednička organizacija tržišta poljoprivrednih proizvoda, djevičansko maslinovo ulje je ulje dobiveno od ploda masline isključivo mehaničkim ili drugim fizikalnim postupcima pod uvjetima koji ne dovode do promjena sastojaka ulja, koja nisu drugačije obrađena osim pranjem, dekantacijom, centrifugiranjem ili filtriranjem, isključujući ulja dobivena upotrebom otapala ili dodavanjem pomoćnih sredstava kemijskog ili biokemijskog djelovanja ili ulja dobivena reesterifikacijom i miješanjem s uljima drugih vrsta. Temperatura za proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja ne smije prelaziti 27°C (Marinac-Andić, 2016). Uredba (EU) br. 1308/2013 razvrstaje i opisuje djevičanska maslinova ulja na ekstra djevičansko maslinovo ulje, odnosno djevičansko maslinovo ulje koje sadrži najviše 0,8 grama na 100 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina i čija druga svojstva odgovaraju onima koja je propisala Komisija u skladu s člankom 75. stavkom 2. za ovu kategoriju, zatim djevičansko maslinovo ulje, odnosno djevičansko maslinovo ulje koje sadrži najviše 2 grama na 100 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina i čija druga svojstva odgovaraju onima koja je propisala Komisija u skladu s člankom 75. stavkom 2. za ovu kategoriju, te na maslinovo ulje lampante što znači djevičansko maslinovo ulje koje sadrži više od 2 grama na 100 grama slobodnih masnih kiselina izraženih kao oleinska kiselina i/ili čija druga svojstva odgovaraju onima koja je propisala Komisija u skladu s člankom 75. stavkom 2. za ovu kategoriju.

Djevičansko maslinovo ulje se sastoji od dviju frakcija, osapunjive koja čini 90-99% ploda masline i neosapunjive koja čini 0,4-5% ploda masline i sadrži fenolne spojeve. U sastavu masnih kiselina maslinovog ulja dominira jednostruko nezasićena oleinska kiselina (55 % do

83 %) koja ima visoku biološku i prehrambenu vrijednost i lako je probavljiva. Sadrži i manje količine zasićenih masnih kiselina poput palmitinske i stearinske, te višestruko nezasićenih masnih kiselina kao što su linolna (3,5 % do 21 %) i α -linolenska (do 0,9 %). Linolna i α -linolenska, kao esencijalne masne kiseline, daju maslinovom ulju poseban biološki značaj (Žanetić i Gugić, 2006). Koštica ploda također sadrži ulje, no sastav masnih kiselina razlikuje se od onoga u pulpi masline (Škevin, 2016).

Djevičansko maslinovo ulje smatra se korisnim za različite aspekte zdravlja, uključujući pomoć kod kancerogenih bolesti, poticanje rasta djece, usporavanje starenja, pozitivan učinak na kosti, zglobove, kožu, jetru i crijeva, te pomoć kod dijabetesa i čira na želucu, kao i kod kardiovaskularnih bolesti (Kantoci, 2006). Fenolni spojevi, poznati po svom izuzetnom antioksidativnom djelovanju, prisutni su u velikim količinama u djevičanskom maslinovom ulju. Karakterizira ih složena mješavina spojeva, koji se javljaju u obliku jednostavnih fenola, derivata lignana, sekoiridoida i flavonoida (Rodríguez-López i sur., 2020). Neki od najreprezentativnijih fenolnih spojeva su hidroksitirozol (3,4-dihidroksifeniletanol), tirozol, oleuropein i njegov aglikon, kafeinska kiselina, vanilinska kiselina, siringinska kiselina i p-hidroksifeniloctena kiselina (Visioli i Galli, 1998). Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) odobrila je 2011. zdravstvenu tvrdnju u kojoj se navodi da unos (poli)fenola djevičanskog maslinovog ulja može zaštititi lipide u krvi od oksidativnog oštećenja (Rodríguez-López i sur., 2020).

Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja obuhvaća niz operacija koje uključuju berbu, pranje plodova i uklanjanje nečistoća, mljevenje maslina, miješenje tijesta, izdvajanje ulja iz tijesta, odvajanje ulja od vegetabilne vode, skladištenje i pakiranje ulja (Juliano i sur., 2023).

Proizvodnja započinje berbom, a stabla maslina obično donose plodove kasno tijekom ljeta ili u rano u jesen. Vrijeme berbe ima značajan utjecaj na okus i kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja.

Berba obično započinje kada plodovi postignu optimalnu zrelost koja predstavlja idealan omjer između količine i kvalitete ulja koje se može dobiti iz ploda. Optimalna zrelost varira ovisno o sorti masline i području uzgoja (Škevin, 2016).

Berbu maslina možemo podijeliti na tradicionalnu ručnu, ručno-mehaniziranu i potpuno mehaniziranu berbu. Tijekom ručne berbe, plodovi se skidaju s grana pomoću grabljica i sakupljaju na mrežu postavljenu ispod krošnje maslina. Ručno branje češće se primjenjuje kod

proizvodnje visokokvalitetnog ekstra djevičanskog maslinovog ulja kako bi se minimaliziralo oštećenje plodova.

Nakon berbe, masline je potrebno transportirati na preradu. Ako se ne mogu odmah preraditi, važno je skladištiti masline na odgovarajući način kako bi se osigurala proizvodnja visokokvalitetnog ulja. Tijekom skladištenja, može doći do niza kemijskih i biokemijskih promjena koje mogu dovesti do degradacije i kvarenja ulja (Škevin, 2016).

Slijedi proces čišćenja maslina radi uklanjanja lišća, grančica i drugih nečistoća, kao i odbacivanja plodova lošije kvalitete, kako bi se izbjegla moguća oštećenja strojeva i spriječila kontaminacija proizvoda. Ovaj korak obično uključuje korištenje vibrirajućih sita i puhala (Juliano i sur., 2023). Pranje maslina pomaže u eliminaciji potencijalno štetnih metalnih ili mineralnih tvari koje bi mogle oštetiti mehaničke dijelove mlina i dekantera. Pranje vodom također doprinosi uklanjanju ostataka sredstava za zaštitu bilja, ostataka zemlje i drugih nečistoća koje bi inače mogli ostati na plodovima.

Poslije pranja i čišćenja, masline prolaze fazu mljevenja i drobljenja. Dok su se prije u tu svrhu koristili tradicionalni kameni mlinovi, suvremeni pogoni koriste mlinove od nehrđajućeg čelika ili granita. Cilj mljevenja je osloboditi što više ulja iz pulpe, ali tako da se ulje što manje rasprši u sitne kapljice kako ne bi došlo do pojave emulzije.

Sljedeća faza proizvodnje je miješenje što je proces u kojem se usitnjena masa temeljito promiješa kako bi se kapljice ulja spojile i na taj se način postiglo bolje odvajanje uljne i vodene faze. Miješanje se provodi u posudama od nehrđajućeg čelika s metalnim miješalicama i plaštem kroz koji struji topla voda 5 do 6 °C toplija od željene temperature tijesta. Proces miješenja ima ključnu ulogu u oblikovanju svojstava ulja, budući da omogućuje ravnomjernu distribuciju tvari oslobođenih iz vakuola i staničnih membrana između uljne i vodene faze (Clodoveo i sur., 2014).

Nakon miješenja, ulje se iz maslinovog tijesta prešanjem ili centrifugiranjem odvajava od komine i vegetabilne vode. Centrifugalna ekstrakcija je najčešća metoda u suvremenoj proizvodnji maslinovog ulja. Rotacija centrifuge generira centrifugalnu silu koja uzrokuje odvajanje komponenta maslinovog tijesta na temelju njihove gustoće (Vossen, 2007).

Neka maslinova ulja prolaze kroz postupak filtracije kako bi se uklonile preostale nečistoće, što rezultira bistrijim i stabilnijim proizvodom, ali filtracija nije obavezan korak u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja. Ipak, ostatci tijesta i vode moraju se ukloniti kako ne bi narušili kvalitetu djevičanskog maslinovog ulja. Osim filtracijom, mogu se ukloniti centrifugalnom

separacijom i pretakanjem mladoga ulja nakon taloženja u tankovima. Maslinovo ulje čuva se u tamnim staklenim bocama ili spremnicima od nehrđajućeg čelika kako bi bilo zaštićeno od svjetlosti i kisika, što može uzrokovati oksidaciju i narušiti kvalitetu ulja.

2.3. Centrifugalna ekstrakcija ulja iz maslinovog tijesta

Djevičansko maslinovo ulje moguće je izdvojiti iz tijesta pomoću sustava koji koriste tlak, centrifugu ili perkolaciju. Primjena tlaka je najstariji i još uvijek raširen sustav za izdvajanje djevičanskog maslinovog ulja čime se dobiva uljni mošt (maslinovo ulje i vegetabilna voda) i komina. Maslinovo tijesto nanosi se na filtrirajuće slojnice, izrađene od konoplje ili kokosa, a u novije vrijeme od sintetičkih vlakana, koji su naslagani jedan na drugi i stavljani u prešu. Na filtrirajuće slojnice se primjenjuje pritisak (u prvim godinama mehanički, a od 1795. hidraulički), kako bi se čvrsta faza zbila i na taj način izdvojila tekuća faza iz maslinovog tijesta koja se sastoji od ulja i vegetabilne vode (Kapellakis i sur., 2007). Ova metoda pokazuje neke prednosti kao što su nizak sadržaj vlage u ulju, jeftina oprema i mali volumen proizvedene otpadne vode. Međutim, diskontinuitet procesa, nizak kapacitet i visoki troškovi radne snage su nedostaci ove metode (Preziuso i sur., 2010; Veillet i sur., 2009; Caponio i sur., 2003). Perkolacija ili selektivna filtracija još je jedan stari sustav koji se još koristi, ali je centrifugiranje, sustav koji se temelji na primjeni centrifugalne sile, trenutno najrašireniji. Jedna od glavnih prednosti centrifugalnih sustava je da su kontinuirani u radu za razliku od primjene tlaka i perkolacije, koji su šaržni procesi.

Dva komercijalno dostupna centrifugalna sustava su dvofazni i trofazni sustav. Glavna razlika između njih je broj izlaza i količina vode koja se dodaje u maslinovo tijesto. Dvofazni sustav sadrži dva izlaza; jedan za ulje i jedan za kominu s većim sadržajem vode, dok trofazni sustav ima tri izlaza; za ulje, otpadnu vodu i za kominu. Primjenom dvofaznog sustava u tijesto se ne dodaje voda, ili se dodaje malo vode pod određenim uvjetima, dok u trofaznom sustavu maslinovo tijesto sadrži do 50% dodane vode na masu maslina (Di Giovacchino i sur., 2001). Strojevi za centrifugiranje mogu biti horizontalni ili okomiti. Horizontalne centrifuge su češće i koriste se u procesima kontinuirane ekstrakcije. Vertikalne centrifuge koriste se u manjim šaržnim postrojenjima.

Centrifugalna ekstrakcija je vrlo učinkovita metoda koja obično radi na nižim temperaturama u usporedbi s tradicionalnim prešanjem. S obzirom da zahtijeva manje ručnog rada i više je automatiziran sustav od prešanja, prikladniji je za proizvodnju velikih razmjera. Manjim postrojenjima tradicionalne metode prešanja mogu biti pristupačnije u smislu početnog ulaganja jer često zahtijevaju manje specijaliziranu opremu. Također, komina dobivena prešanjem može se dalje preraditi kako bi se ekstrahiralo preostalo ulje ili koristiti u druge svrhe, poput proizvodnje bioplina.

Većina provedenih istraživanja pokazala je da su osnovne kvalitativne karakteristike ulja kao što su udjel slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj i vrijednosti K-brojeva (K_{232} i K_{270}) neovisne o sustavu koji se koristi za ekstrakciju (Amirante i sur., 2010.; Caponio i sur., 2014; Di Giovacchino i sur., 2001; Gimeno i sur., 2002). Međutim, sadržaj fenola u djevičanskom maslinovom ulju ekstrahiranom trofaznim centrifugiranjem niži je nego u ulju ekstrahiranom sustavima pod tlakom, perkolacionim sustavima ili dvofaznim centrifugiranjem. To je posljedica dodatka vode u maslinovo tijesto pri korištenju trofazne centrifuge koja snižava koncentraciju fenola u vodenoj fazi zbog razrjeđivanja i smanjuje koncentraciju fenola u uljnoj fazi zbog ravnoteže raspodjele. Niti u tlačnim niti u perkolacijskim sustavima maslinovom tijestu se ne dodaje voda. Kao posljedica sadržaja fenola, vrsta korištenog sustava utjecala je i na oksidacijsku stabilnost (Amirante i sur., 2010). Razlika u koncentraciji α -tokoferola i β -karotena, koji također imaju antioksidativno djelovanje na maslinovo ulje, je vrlo mala (Gimeno i sur., 2002.).

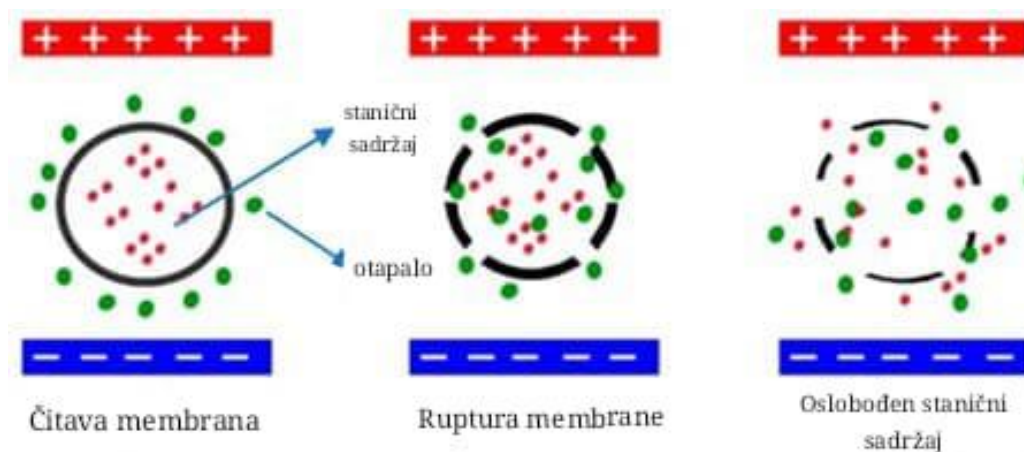
Pristup povećanju prinosa ekstrakcije u sustavima centrifugiranja je upotreba takozvanih dekantera treće generacije, koji omogućuju primjenu diferencijalnih brzina između bubnja i pužnice. Povećanjem brzine pužnice povećana je pikantnost kao i koncentracija antioksidansa i aldehida, dok je smanjenjem brzine pužnice proizvedeno više gorkih ulja s višim indeksima oksidacije (Caponio i sur., 2014). Drugi predloženi pristup je uvođenje drugog centrifugiranja maslinovog tijesta što rezultira povećanjem prinosa ulja i smanjenjem sadržaja vode u komini (Di Giovacchino i sur., 2017.). Međutim, iskorištenje tijekom druge ekstrakcije je prilično nisko (0,3%). Još jedan prijedlog koji bi mogao rezultirati većim prinosom ekstrakcije i optimizacijom kvalitete maslinovog ulja je odabir odgovarajućeg položaja dovodne cijevi dvofaznog dekantera (Caponio i sur., 2018.).

Posljednja faza ekstrakcije maslinovog ulja najčešće je separacija u vertikalnoj centrifugi koja služi za uklanjanje preostale vode i krutih tvari iz uljne faze, budući da ulje iz dekantera može sadržavati do 3% vegetabilne vode i krutih tvari (Di Giovacchino i sur., 2002).

2.4. Tehnologija pulsirajućeg električnog polja u ekstrakciji ulja

Prehrambena industrija pridaje sve više pozornosti razvijanju inovativnih tehnologija netermalne obrade prehrambenih proizvoda, poput pulsirajućeg električnog polja (PEP), visokohidrostatskog tlaka, pulsirajuće svjetlosti i ultraljubičastog zračenja jer ove tehnologije obrađuju prehrambene proizvode s minimalnim gubitkom hranjivih tvari (Li i Farid, 2016.). Početci primjene pulsirajućeg električnog polja povezani su sa Njemačkom i Doevenspeckovim patentom iz 1960-ih.

Ova tehnologija temelji se na primjeni pulsirajućeg električnog polja visokog intenziteta reda veličine 0,5–80 kV/cm (Elez-Martinez i sur., 2017). Teorija dielektričnog pucanja koju je uveo Zimmermann i koja je poznata kao elektroporacija, općenito je prihvaćena u objašnjenju interakcije između PEP i organske tvari. Prema njoj izlaganje stanične membrane električnom polju uzrokuje povećanje transmembranskog potencijala koje dovodi do stvaranja hidrofилnih pora u slabim područjima membrane. Membrana gubi svoju strukturnu funkcionalnost, što posljedično dovodi do povećanja prinosa ekstrakcije iz različitih prehrambenih proizvoda. Ovaj mehanizam prikazan je na slici 1.



Slika 3. Mehanizam elektroporacije za ekstrakciju (Ranjha AN i sur., 2021)

Prehrambeni proizvod stavlja se između elektroda i električnog polja visokog napona. Za obradu hrane, elektrode i zona za obradu trebaju biti izrađene od elektrokemijski inertnog materijala koji je pogodan za hranu, lako se čisti i može se sterilizirati. U početku su PEP elektrode bile izrađene od ugljika (grafita). Međutim, takve elektrode imaju vrlo kratak životni vijek. Najbolji materijali za izradu elektroda su plemeniti metali poput zlata i platine, koji imaju vrlo mali otpor i minimalnu eroziju pri visokim naponima. Ipak, zbog svoje visoke otpornosti na koroziju i pristupačnijih cijena, nehrđajući čelik smatra se prikladnijim i ekonomičnijim materijalom za izradu elektroda (Toepfl, Heinz i Knorr, 2006). Nehrđajući čelik je i siguran jer ne ispušta otrovne materijale (Geng i Lu, 2013).

Industrijska proizvodnja maslinovog ulja često koristi proizvodne linije koje nemaju dovoljno dobru učinkovitost i održivost. Razvoj učinkovitih proizvodnih linija smatra se ključnim za postizanje veće kvalitete proizvoda i povećanja ekstrakcije, a tehnologija pulsirajućeg električnog polja mogla bi omogućiti upravo to. Primjena PEP na uzorcima maslinovog tijesta rezultira trajnom promjenom membrana čime ovaj tretman može omogućiti veću ekstrakciju ulja iz maslinovog tijesta, kao i veće prinose nekih sastojaka maslinovog ulja. Predtretman PEP također može smanjiti vrijeme ekstrakcije (Devkota i sur., 2022; Barba i sur., 2015).

Nekoliko skorijih istraživanja pokazalo je pozitivan utjecaj primjene tehnologije pulsirajućeg električnog polja na tijesto masline. Tamborrino i sur. (2020) svojim su istraživanjem pokazali da primjena PEP jačine 2 kV/cm na maslinovo tijesto značajno povećava ekstrakciju, bez narušavanja zakonski propisanih primarnih parametara kvalitete proizvoda ekstra djevičanskog maslinovog ulja. U istraživanju Veneziani i sur. (2019), utjecaj PEP ispitan je na tri talijanske sorte maslina; carolea, coratina i ottobratica. Rezultati su pokazali pozitivan utjecaj ove tehnologije na prinos ulja, s povećanjem u rasponu od 2,3 do 6 %.

Navarro i sur. (2022) testirali su pilot postrojenje i industrijsku ekstrakciju djevičanskog maslinovog ulja kako bi procijenili učinak PEP tehnologije na prinos ulja te na senzorsku i funkcionalnu kvalitetu ulja. Najbolji rezultati postignuti su kombinacijom PEP obrade (2 kV/cm) s kratkim vremenima miješenja i niskom temperaturom obrade (ispod 20 °C). Uz ove uvjete obrade i korištenje plodova sorte manzanilla ubranih u optimalnoj točki sazrijevanja, PEP tehnologija povećala je prinos ulja do 25 %. Dobiveni rezultati potvrdili su pozitivan učinak tehnologije na prinos ulja i poboljšanje ekstrakcije manjih komponenti kao što su

fenolni i hlapljivi spojevi. Rezultati su također pokazali ovisnost o sorti masline, indeksu zrelosti i uvjetima prerade.

Ipak, budući da se radi o novoj tehnologiji s nedovoljno industrijskih ispitivanja, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se procijenili učinci PEP korištenjem maslina različitih sorti i indeksa zrelosti te mijenjanjem strojeva i procesnih parametara postrojenja za ekstrakciju. Razvoj optimalnog protokola za tretman PEP ključan je za osiguranje vidljivog povećanja iskorištenja procesa.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Masline

Kao eksperimentalni materijal u ovom radu korištene su masline istarskih sorti istarska bjelica i rosulja. Ukupno 80 kg maslina ručno je pobrano u listopadu 2022. na OPG Vandelić smještenom u Istri između Bala i Rovinja. Indeks zrelosti za istarsku bjelicu iznosio je 0,82, a za rosulju 2,19.

3.1.2. Laboratorijska oprema

Za potrebe laboratorijske proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja u ovom radu korišteni su sljedeći uređaji:

- Mlin čekičar, Oleum 30 Compact (Enotecnica Pillan Oleum 30 Compact, Camisano, Italija)
- Miješalica, Velp Scientifica (Usmate, Italija)
- Vodena kupelj, Stuart SBS80 (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, SAD)
- Centrifuga, Hettich Rotina 380 (Hettich, Tuttlingen, Njemačka)
- Centrifuga, Hettich Rotina 380R (Hettich, Tuttlingen, Njemačka)
- Uređaj za tretman PEP, HVG60/1 PEF (Impel d.o.o., Zagreb, Hrvatska)

3.2. Metode

3.2.1. Čišćenje i pranje maslina

Nakon berbe, masline korištene u ovom radu transportirane su u plastičnim gajbama kapaciteta 20-25 kg na Prehrambeno-biotehnološki fakultet u Zagrebu i odmah korištene za preradu. Lišće i grančice od maslina ručno je uklonjeno te su odbačeni plodovi lošije kvalitete. Masline su

potom oprane vodovodnom vodom.

3.2.2. Mljevenje i drobljenje

Nakon pranja i čišćenja, masline su prošle fazu mljevenja i drobljenja. Za mljevenje maslina korišten je mlin čekičar, Oleum 30 Compact (Enotecnica Pillan Oleum 30 Compact, Camisano, Italija). Mljevenje je trajalo nekoliko minuta te je tijesto sakupljeno na izlazu.



Slika 4. Mlin čekičar (Enotecnica Pillan, 2023)

3.2.4. Obrada maslinovog tijesta pulsirajućim električnim poljem

Kao predtretman procesu miješenja tijesta maslina izvršen je tretman pulsirajućim električnim poljem na uređaju HVG60/1 PEP (Impel d.o.o., Zagreb, Hrvatska). Za parametre PEP odabrani su jakost električnog polja u rasponu 1 do 8 kV/cm te vrijeme 18 do 102 sekunde, prema dizajnu eksperimenta prikazanom u tablicama 1. i 2. Uzorak 2 za rosulju i uzorak 18 za istarsku bjelicu, proizvedeni su bez predtretmana i korišteni kao kontrola.

Jakost električnog polja E između električno nabijenih ploča ovisna je o električnom naponu U koji između njih vlada i o udaljenosti d između ploča, koja je u ovom radu iznosila 3 cm.

$$E = \frac{U}{d} \quad [1]$$

Obzirom na razmak između ploča za postizanje željenih uvjeta korišten napon u rasponu 3 do 24 kV.

Tablica 1. Opis uvjeta predtretmana pulsirajućim električnim poljem za proizvodnju uzoraka ulja iz sorte rosulja

Oznaka uzorka	Jakost električnog polja (kV/cm)	Vrijeme (s)
2	-	-
4	1	60
5	2	30
6	2	90
7	4,5	18
8	4,5	60
9	4,5	60
10	4,5	60
11	4,5	60
12	4,5	60
13	4,5	102
14	7	30
15	7	90
16	8	60

Tablica 2. Opis uvjeta predtretmana pulsirajućim električnim poljem za proizvodnju uzoraka ulja iz sorte istarska bjelica

Oznaka uzorka	Jakost električnog polja (kV/cm)	Vrijeme (s)
18	-	-
20	1	60
21	2	30
22	2	90
23	4,5	18
24	4,5	60
25	4,5	60
26	4,5	60
27	4,5	60
28	4,5	60
29	4,5	102
30	7	30
31	7	90
32	8	60



Slika 5. Obrada maslinovog tijesta PEP uređajem (vlastita fotografija, 2022)

3.2.5. Miješenje

Sljedeća faza proizvodnje je miješenje koje se odvijalo u Stuart SBS80 (Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, SAD) vodenoj kupelji napunjenoj sa 35 L destilirane vode uz dodatak obične vode kako bi se spriječilo hrđanje kupelji. Kupelj je zagrijana na 30,5 °C te su u nju stavljene posude za miješenje sa dvostrukim plaštom čija je stijenka također napunjena vodom. U posudu za miješenje stavljeno je 2 kg tijesta maslina nakon PEF tretmana, ili bez tretmana u slučaju kontrolnog uzorka. Miješalica koja je korištena je Velp Scientifica (Usmate, Italija) postavljena na 2,5 okretaja. Miješenje je trajalo 40 minuta nakon čega je miješalica isključena, posuda za miješenje uklonjena iz kupelji i sadržaj posude prebačen u posudice za centrifugiranje. Za vrijeme miješenja povremeno je kontrolirana temperatura tijesta koja je 20 do 25 minuta nakon postavljanja na kupelj trebala iznositi 27 °C.



Slika 6. Vodena kupelj (Cole-Parmer, 2019) (A) i mješalica (Velp Scientifica, 2023) (B)

3.2.6. Izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta

Ulje iz maslinovog tijesta izdvojeno je procesom centrifugiranja. Centrifugiranje je vršeno u dvije faze; prva faza je faza odvajanja komine provedena u velikim kivetama od 250 g na Hettich Rotina 380 (Hettich, Tuttlingen, Njemačka) centrifugi, i druga faza, odvajanje ulja i vegetabilne vode, provedena u falkonicama od 50 ml na Hettich Rotina 380R (Hettich,

Tuttlingen, Njemačka) centrifugi. Velike kivete napunjene maslinovim tijestom centrifugirane su 5 minuta na 5000 okretaja nakon čega je tekući dio (ulje i vegetabilna voda) odvojen u laboratorijsku čašu od 400 ml. U drugoj fazi centrifugiranja falkonice od 50 ml su napunjene s tekućim dijelom i centrifugirane 5 minuta na 5000 okretaja. Vegetabilna voda ostala je u donjem sloju dok se ulje prelijeva iz gornjeg sloja. Ulje je skladišteno u tamnim staklenim bocama od 250 ml.



Slika 7. Centrifuga (Hettich Rotina, 2023)

3.2.7. Određivanje indeksa zrelosti

Indeks zrelosti određen je prema metodi Međunarodnog vijeća za masline (IOC, 2011). Proces zrenja kod maslina se može vizualno promatrati jer sazrijevanjem maslina postupno mijenja boju pokožice. Pokožica obično prelazi iz tamnozeleno u ljubičastu i crnu boju. Boja i tekstura pulpe također se mijenja tijekom ovih faza kao i boja i senzorske karakteristike ulja.

Prema ovoj metodi, potrebno je nasumično pobrati plodove maslina s vanjskog dijela krošnje u visini očiju te odvojiti 100 plodova i podijeliti ih u 8 kategorija na osnovu boje pokožice i pulpe. Svaka kategorija nosi određeni broj bodova, a karakteristike kategorija su sljedeće (slika 8):

- kategorija 0 - pokožica intenzivno zelene boje
- kategorija 1 - pokožica žućkasto-zelene boje

- kategorija 2 - pokožica zelene boje sa crvenkasto-modrim sjajem na krajnjem dijelu ploda pokrivajući 1/4 površine ploda (početak pigmentacije ploda)
- kategorija 3 - pokožica crvenkaste ili tamno crvene boje na više od polovice površine ploda (završetak pigmentacije ploda)
- kategorija 4 - pokožica crne boje i pulpa svijetle boje
- kategorija 5 - pokožica crne boje i pulpa na manje od polovice dubine tamne boje
- kategorija 6 - pokožica crne boje i pulpa na više od polovice dubine tamne boje, ali ne i do koštice
- kategorija 7 - pokožica crne boje i pulpa tamne boje do koštice



Slika 8. Kategorije na osnovu boje pokožice i pulpe (IOC, 2011)

Indeks zrelosti dobije se primjenom sljedeće formule, gdje A, B, C, D, E, F, G i H predstavljaju broj plodova u svakoj od kategorija (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) :

$$\text{indeks zrelosti} = \frac{A \cdot 0 + B \cdot 1 + C \cdot 2 + D \cdot 3 + E \cdot 4 + F \cdot 5 + G \cdot 6 + H \cdot 7}{100} \quad [2]$$

Formula koja je korištena razvijena je na eksperimentalnoj stanici Venta del Llano, IFAPA, Mengíbar (Jaén, Španjolska). Preporučljivo je uzorkovanje započeti oko mjesec dana prije tradicionalnog početka berbe i obavljati ga u razmacima od 7-10 dana.

3.2.8. Određivanje udjela vode u plodovima masline

Udio vode određen je prema modificiranoj HRN EN ISO (665:2004) metodi. Uzorak plodova maslina zdrobljen je u tarioniku s tučkom. U prethodno izvaganom Petrijevoj zdjelici na analitičkoj vagi izvagano je oko 50 g homogene smjese uzorka. Uzorak je sušen u sušioniku na 80 °C 24 sata, a potom na 103 °C 24 sata. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu u eksikatoru uzorak je izvagan. Postupak sušenja pri 103 °C po sat vremena, hlađenja na sobnu temperaturu i vaganja ponavljan je sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,005 g.

Udio vode u uzorku izračunat je prema formuli:

$$\text{udio vode (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad [3]$$

Gdje je m_0 masa Petrijeve zdjelice, m_1 masa Petrijeve zdjelice s homogenom smjesom uzorka prije sušenja, m_2 masa Petrijeve zdjelice s homogenom smjesom uzorka nakon sušenja.

3.2.9. Određivanje udjela ulja u plodovima maslina

Udio ulja u suhom tijestu masline određen je prema ISO 659 (2010) metodi ekstrakcije po Soxhletu. Metoda ekstrakcije po Soxhletu je standardna referentna metoda te se primjenjuje na osušeno, samljeveno maslinovo tijesto.

Osušeno tijesto samljeveno je i odvagano je 20-30 g tijesta koje je stavljeno u čahuru za ekstrakciju. Čahura je stavljena u ekstraktor, a kao otapalo korišten je heksan.

Uzorak je 4 h ekstrahiran uz cirkulaciju otapala. Tijesto je potom ponovo samljeveno i vraćeno u ekstraktor na 2 h. Iz tikvice je zatim otpareno otapalo, a izdvojeno ulje je sušeno u sušioniku

pri na $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ do konstantne mase.

Udio ulja izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$\text{udio ulja (\%)} = \frac{m(\text{ulje})}{m(\text{tijesto})} \cdot 100 \quad [4]$$

3.2.10. Određivanje iskorištenja laboratorijskog postupka proizvodnje

Iskorištenje laboratorijskog postupka proizvodnje (Y) izračunato je prema Peres i sur. (2014):

$$Y (\%) = \frac{V(\text{ulje}) \cdot \rho}{m(\text{tijesto})} \cdot 100 \quad [5]$$

U formuli V (ulje) predstavlja volumen proizvedenog djevičanskog maslinovog ulja (mL), ρ gustoću djevičanskog maslinovog ulja koja iznosi $0,915 \text{ g/cm}^3$ te m (tijesto) masu tijesta maslina korištenu za proizvodnju (g).

3.2.11. Određivanje ekstratibilnosti

Indeks ekstraktabilnosti EI izračunat je prema sljedećoj formuli (Peres i sur., 2014):

$$EI = Y/OC, \quad [6]$$

gdje je Y iskorištenje proizvodnje, a OC predstavlja udjel ulja u svježem plodu masline (%) i računa se na sljedeći način:

$$OC = \text{suha tvar (tijesto) (\%)} \cdot \text{udjel ulja u suhom tijestu (\%)} \quad [7]$$

Suha tvar tijesta izračunata je na sljedeći način:

$$\text{suha tvar} = \frac{m(\text{suho tijesto})}{m(\text{svježe tijesto})} \quad [8]$$

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj pulsirajućeg električnog polja, kao predtretmana miješenju, na iskorištenje procesa proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja. Ulje je ekstrahirano iz sorti istarska bjelica i rosulja, branih u listopadu 2022., sa indeksima zrelosti 0,82 za istarsku bjelicu i 2,19 za rosulju. U plodu rosulje određen je udio ulja u iznosu od 10,30 %, dok istarska bjelica pokazuje viši udio ulja u plodu, 12,10 % (tablica 3.). Indeksi zrelosti su prilično niski, osobito za sortu istarska bjelica čiji je indeks manji od 1. Međutim, u istraživanju Koprivnjak i sur. (2012), bjelica je također pokazala niski indeks zrelosti (0,7), kao i u istraživanju Koprivnjak i sur. (2011) gdje je indeks zrelosti bio ispod 1, ali je udjel ulja u plodu bio 22 do 25 %. Možemo pretpostaviti da su plodovi istarske bjelice korišteni u ovom radu stoga bili zreli, ali udio ulja u plodovima može varirati ovisno o klimatskim uvjetima, geografskom položaju maslinika, brizi o masliniku, kao i godini berbe. Rezultati ovog rada vezani uz rosulju slažu se sa istraživanjem Koprivnjak i sur. (2016) gdje je iz rosulje sa indeksom zrelosti 2,5 do 3 izdvojeno 8,1 do 8,9 % ulja. U istraživanju Bubola i sur. (2012), rano pobrana rosulja pokazala je indeks zrelosti 1,67, a kasno pobrana 3,79, te je u suhom tijestu udio ulja iznosio 30 (rana berba) do 40 % (kasna berba), dok u ovom radu suho tijesto rosulje sadrži 29,34 % ulja, što je niži udio u usporedbi sa literaturom s obzirom da je indeks zrelosti 2,19. Raniji rezultati istraživanja Brkić i sur. (2006) o udjelu ulja u tijestu sorte rosulja pokazali su udio u rasponu od 26,5 do 45,4 %, što opet pokazuje niži udio ulja u tijestu rosulje korištene kao materijal u ovom radu.

Tablica 3. Udjel ulja u tijestu maslina iz istarske bjelice i rosulje

Uzorak	Mokro tijesto (g)	Suho tijesto (g)	Ulje u suhom tijestu (%)	Suha tvar (%)	Ulje u plodu masline (%)
Rosulja	50,03	17,57	29,34	35,12	10,30
Istarska bjelica	50,11	18,83	32,20	37,58	12,10

Kontrolni uzorak sorte rosulja, uzorak 2, pokazuje iskorištenje u iznosu od 5,71 %, odnosno izdvojeno je 125 mL ulja iz 2004,38 g maslinovog tijesta (tablica 4.). Kod kontrolnog uzorka

sorte istarska bjelica izdvojeno je 114,5 mL ulja iz 1999,67 g maslinovog tijesta, što predstavlja iskorištenje od 5,24 % (tablica 5.). Iskorištenja laboratorijske proizvodnje djevičanskog maslinovog ulja kreću se u rasponu 6,28 do 8,03 % za rosulju (tablica 4.) i 4,55 do 6,74 % za istarsku bjelicu (tablica 5.). Indeks ekstaktibilnosti za kontrolni uzorak rosulje iznosi 0,55, što je viša vrijednost u usporedbi s vrijednosti određenom za sortu rosulja u istraživanju Poljuha i sur. (2008) koja je iznosila 0,40. Kontrolnom uzorku istarske bjelice određen je indeks ekstaktibilnosti 0,43. Literatura pokazuje viši indeks ekstaktibilnosti istarske bjelice, i to u vrijednosti 0,56 (Poljuha i sur., 2008). Rosulja pokazuje bolju ekstraktibilnost, dok istarska bjelica ima viši udio ulja u plodu. Rosulja stoga pokazuje nešto više iskorištenje od sorte istarska bjelica.

Primjena pulsirajućeg električnog polja na tijesto maslina prije procesa miješenja imala je za cilj povećati iskorištenje procesa ekstrakcije. Ukupno je korišteno po 14 uzoraka za svaku sortu, od kojih je po jedan uzorak korišten kao kontrola, odnosno nije tretiran pulsirajućim električnim poljem, a po 13 uzoraka svake sorte je tretirano PEP uređajem pri različitim uvjetima jakosti električnog polja i vremena trajanja obrade (tablica 3. i 4.). Prilikom planiranja eksperimenata korišten je centralni kompozitni plan. Ovaj plan omogućava smanjenje broja potrebnih eksperimentalnih pokusa dok se i dalje mogu istražiti složeni odnosi između faktora i odgovora. Naime, puni faktorski pokus s 2 faktora i 5 nivoa rezultirao bi s 25 uzoraka za svaku sortu dok je u ovom slučaju za pokus bilo predviđeno 13 uzoraka. Kako bi se broj uzoraka reducirao, a zadržala robustnost pokusa korišten je plan s 5 centralnih točaka odnosno pet uzoraka je tretirano jednakom jačinom električnog polja (4,5 kV/cm) pri jednakom trajanju obrade (60 s).

Tablica 4. Iskorištenje i indeks ekstraktabilnosti (EI) laboratorijske proizvodnje ulja iz rosulje

Parametri PEP		Uzorak	Ulje (mL)	Tijesto (g)	Iskorištenje (%)	EI
Jakost električnog polja (kV/cm)	Vrijeme (s)					
Kontrola		2	125,00	2004,38	5,71	0,55
1	60	4	161,50	1849,25	7,99	0,78
2	30	5	161,00	1851,89	7,95	0,77
2	90	6	134,50	1861,99	6,61	0,64
4,5	18	7	140,50	1861,26	6,91	0,67
4,5	60	8	173,00	1971,89	8,03	0,79
4,5	60	9	174,00	1987,89	8,01	0,78
4,5	60	10	158,50	1980,40	7,32	0,71
4,5	60	11	146,00	1987,90	6,72	0,65
4,5	60	12	142,00	1851,34	7,02	0,68
4,5	102	13	131,50	1864,83	6,45	0,63
7	30	14	141,50	1868,68	6,93	0,67
7	90	15	138,50	1865,27	6,79	0,66
8	60	16	68,00	991,32	6,28	0,61

Svaki od uzoraka rosulje tretiranih pulsirajućim električnim poljem pokazuje veće iskorištenje u odnosu na kontrolni uzorak, u rasponu od 6,28 do 8,03 %, što je za 9,98 do 40,63 % više od kontrolnog uzorka. Najveće iskorištenje pokazao je uzorak 8, tretiran jakosti električnog polja u iznosu 4,5 kV/cm u trajanju od 60 sekundi. Svi uzorci tretirani PEP tehnologijom imaju veći indeks ekstraktabilnosti u usporedbi sa kontrolnim uzorkom, u rasponu od 0,61 do 0,79 (tablica 4.). Uzorak 8 pokazuje najviši indeks ekstraktabilnosti od svih uzoraka (0,79).

Pet uzoraka tretiranih jednakim uvjetima (4,5 kV/cm i 60 s) pokazuju odstupanja u postotku iskorištenja i indeksu ekstraktibilnosti, gdje najviše iskorištenje ima uzorak 8 sa 173 mL izdvojenog ulja iz 1971,89 g tijesta, što je iskorištenje od 8,03 %, a najmanje iskorištenje pokazao je uzorak broj 12 sa 142 mL izdvojenog ulja iz 1851,34 g tijesta (iskorištenje 7,02 %). Razlog ovom mogla bi biti značajnija varijabilnost u postupku laboratorijske proizvodnje maslinovog ulja. Najniži postotak iskorištenja pokazao je uzorak 16 tretiran jakosti električnog polja u iznosu od 8 kV/cm u trajanju od 60 sekundi.

Tablica 5. Iskorištenje i indeks ekstraktibilnosti (EI) laboratorijske proizvodnje ulja iz istarske bjelice

Parametri PEP		Uzorak	Ulje (mL)	Tijesto (g)	Iskorištenje (%)	EI
Jakost električnog polja (kV/cm)	Vrijeme (s)					
Kontrola		18	114,5	1999,67	5,24	0,43
1	60	20	121,00	1859,46	5,95	0,49
2	30	21	120,00	1854,90	5,92	0,49
2	90	22	128,50	1852,56	6,35	0,52
4,5	18	23	71,00	992,35	6,55	0,54
4,5	60	24	137,50	2035,20	6,18	0,51
4,5	60	25	101,50	2042,26	4,55	0,38
4,5	60	26	109,50	1992,13	5,03	0,42
4,5	60	27	136,50	1863,16	6,70	0,55
4,5	60	28	130,00	1987,76	5,98	0,49
4,5	102	29	134,50	1868,54	6,59	0,54
7	30	30	138,00	1873,65	6,74	0,56
7	90	31	127,00	1871,54	6,21	0,51
8	60	32	131,50	1866,67	6,45	0,53

Uzorci istarske bjelice tretirani pulsirajućim električnim poljem, poput uzoraka sorte rosulja, pokazuju više iskorištenje u odnosu na kontrolni uzorak, sa izuzetkom uzoraka broj 25 i 26. Povećanje iskorištenja je u rasponu od 12,98 do 28,63%. Najveće iskorištenje pokazuje uzorak broj 30 tretiran jakosti električnog polja u iznosu od 7 kV/cm u trajanju od 30 sekundi. Uzorcima tretiranim PEP tehnologijom određen je viši indeks ekstaktibilnosti u odnosu na kontrolni, u rasponu od 0,49 do 0,56, sa izuzetkom uzoraka 25 i 26 koji pokazuju manji indeks ekstaktibilnosti, u vrijednosti 0,38 i 0,42 (tablica 5.).

Većina dosadašnjih istraživanja utjecaja pulsirajućeg električnog polja na povećanje prinosa ulja provedeno je na laboratorijskoj razini te se povećanja prinosa ulja kreću u rasponu sličnom rezultatima u ovom radu, kao na primjer u istraživanju Abenoza i sur. (2012) gdje je opisano povećanje prinosa ulja do 1,7% iz plodova arbequina. Radeći na laboratorijskoj razini (oko 1 kg ploda masline), povećanje prinosa ulja od oko 1% također je opisano za grčke sorte maslina anfisis i manaki u istraživanju Andreou i sur. (2017), iako primjena PEP tehnologije nije imala utjecaja na sorta masline tsounati. Na polu-pilot i pilot postrojenjima, u istraživanju Tamborrino i sur. (2019) i Veneziani i sur. (2019) pozitivni rezultati dobiveni su s talijanskim sortama carolea, coratina i nocellara del Belice, ali sa sortom ottobratica u sličnim uvjetima dobiveni su negativni rezultati.

Može se zaključiti da je predtretman PEP tehnologijom doveo do povećanja prinosa ulja kod sorti istarska bjelica i rosulja. Ipak, s obzirom na različite rezultate među različitim sortama, korištenje PEP tehnologije mora se posebno prilagoditi različitim karakteristikama plodova masline raznih sorti. Postotak povećanja prinosa ulja ovisi o sorti i različitim omjerima sastavnih dijelova ploda, na što uglavnom utječu genetsko podrijetlo masline i faza zrenja. Također se može pretpostaviti da sadržaj vode i ulja utječu su na učinak PEP ekstrakcije.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata i provedene rasprave, može se zaključiti:

1. Tretiranjem maslinovog tijesta pulsirajućim električnim poljem prije faze miješenja postignuto je povećanje iskorištenja procesa kod sorti istarska bjelica i rosulja.
2. Najveće iskorištenje (6,74 %) kod sorte istarska bjelica imao je uzorak tretiran jakosti električnog polja u iznosu od 7 kV/cm u trajanju od 30 sekundi, a kod sorte rosulja uzorak tretiran jakosti električnog polja u iznosu 4,5 kV/cm u trajanju od 60 sekundi (8,03 %).
3. Istarska bjelica ima viši udio ulja u plodu dok rosulja pokazuje bolju ekstraktibilnost, te rosulja stoga pokazuje više iskorištenje od sorte istarska bjelica.
4. Povećanje iskorištenja procesa ovisi o sorti masline i različitim omjerima sastavnih dijelova ploda te uvjetima obrade PEP tehnologijom.
5. Korištenje PEP tehnologije mora se posebno prilagoditi različitim karakteristikama plodova masline raznih sorti.

6. POPIS LITERATURE

Abenoza M, Benito M., Saldaña G, Álvarez I, Raso J, Sánchez-Gimeno AC (2012) Effects of Pulsed Electric Field on Yield Extraction and Quality of Olive Oil. *Food and Bioprocess Technology* 6, 1367–1373 <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0817-6>

Amirante P, Clodoveo ML, Leone A, Tamborrino A, Vinood BP (2010) Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention U: Preedy VR, Watson RR (ured.) Influence of Different Centrifugal Extraction Systems on Antioxidant Content and Stability of Virgin Olive Oil, Academic Press, 85-93 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00010-3>

Andreou V, Dimopoulos G, Alexandrakis Z, Katsaros G, Oikonomou D, Toepfl S, Heinz V, Taoukis P (2017) Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from olives subjected to nonthermal pretreatments for yield increase. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 40, 52-57 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.009>

Barba F, Parniakov O, Pereira SA, Wiktor A, Grimi N, Boussetta N, Saraiva GA, Raso J, Martin-Belloso O, Witrowa-Rajchert D, Lebovka N, Vorobiev E (2015) Current Applications and New Opportunities for the Use of Pulsed Electric Fields in Food Science and Industry. *Food Research International* 77, 773-798 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.015>

Brkić K, Radulović M, Sladonja B, Lukić I, Šetić E (2006) Application of Soxtec apparatus for oil content determination in olive fruit. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* 83(3), 115-119 https://www.researchgate.net/publication/220022952_Application_of_Soxtec_apparatus_for_oil_content_determination_in_olive_fruit

Bubola K, Koprivnjak O, Sladonja B, Škevin D, Belobrajčić I (2012) Utjecaj roka berbe na sastav i kvalitetu djevičanskih maslinovih ulja sorte Rosinjola. *Croatian Journal of Food Science and Technology* 4, 9-18 https://www.researchgate.net/publication/236882216_Utjecaj_roka_berbe_na_sastav_i_kvalitetu_djevicanskih_maslinovih_ulja_sorte_Rosinjola

Caponio F, Gomes T, Summo C, Pasqualone A (2003) Influence of the type of olive-crusher used on the quality of extra virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **105**, 201-206 <https://doi.org/10.1002/ejlt.200390041>

Caponio F, Summo C, Paradiso VM, Pasqualone A (2014) Influence of decanter working parameters on the extra virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **116**, 1626-1633 <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400068>

Caponio F, Squeo G, Brunetti L, Pasqualone A, Summo C, Paradiso VM, Catalano P, Bianchi B (2018) Influence of the feed pipe position of an industrial scale two-phase decanter on extraction efficiency and chemical-sensory characteristics of virgin olive oil. *J. Sci. Food Agric* **98** 4279-4286 <https://doi.org/10.1002/jsfa.8950>

Clodoveo ML, Hbaieb RH, Kotti F, Mugnozza GS, Gargouri M (2014) Mechanical Strategies to Increase Nutritional and Sensory Quality of Virgin Olive Oil by Modulating the Endogenous Enzyme Activities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**, 135-154 <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12054>

Delegirana uredba komisije (EU) (2022), Službeni list Europske unije, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32022R2104&from=EN>

Devkota L, He L, Bittencourt C, Midgley J, Haritos VS (2022) Thermal and Pulsed Electric Field (PEF) Assisted Hydration of Common Beans. *LWT* **158**, 113-163 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113163>

Di Giovacchino L, Costantini N, Serraiocco A, Surricchio G, Basti C (2001) Natural antioxidants and volatile compounds of virgin olive oils obtained by two or three-phases centrifugal decanters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **103**, 279-285 [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200105\)103:5<279::AID-EJLT279>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200105)103:5<279::AID-EJLT279>3.0.CO;2-I)

Di Giovacchino L, Preziuso SM, Di Serio MG, Mucciarella MR, Di Loreto G, Lanza B (2017) Double extraction of olive oil in large oil mills of Southern Italy: Effects on extraction

efficiency, oil quality, and economy of the process. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **119**
<https://doi.org/10.1002/ejlt.201600161>

Di Giovacchino L, Sestili S, Di Vincenzo D (2002) Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **104**, 587-601 [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200210\)104:9/10<587::AID-EJLT587>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<587::AID-EJLT587>3.0.CO;2-M)

Elez-Martínez P, Odriozola-Serrano I, Oms-Oliu G, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O (2017) Effects of Pulsed Electric Fields Processing Strategies on Health-Related Compounds of Plant-Based Foods - Food Engineering Reviews. *Food Engineering Reviews* **9**, 213–225
<https://doi.org/10.1007/s12393-017-9162-x>

Geng T, Lu C (2013) Microfluidic electroporation for cellular analysis and delivery. *Lab Chip* **13**, 3803-3821 <https://doi.org/10.1039/C3LC50566A>

Gimeno E, Fitó M, Lamuela-Raventós R, Castellote A, Covas M, Farré M, la Torre-Boronat MD, López-Sabater M (2002) Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *European Journal of Clinical Nutrition* **56**, 114-20 <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601293>

Godena S, Damijanić K, Miličić A (2009) Morfološke karakteristike masline sorte Rosinjola u Istri. *Pomologia Croatica* **15 (1-2)**, 27-36 <https://hrcak.srce.hr/50634>

Gugić A, Ordulj I (2006) Prerada plodova maslina i kvaliteta djevičanskog maslinovog ulja. *Glasnik Zaštite Bilja* **29 (6)**, str. 16 <https://hrcak.srce.hr/164199>

HRN EN ISO 665:2004, Uljarice - Određivanje količine vode i hlapljivih tvari

HRN EN ISO 659:2010, Uljarice - Određivanje količine ulja (Referentna metoda)

Institut i uzgoj maslina (2020) Institut I Uzgoj Maslina. http://www.iptpo.hr/index.php?option=com_content&view=article&id=747:maslina&catid=87&Itemid=435&lang=hr pristupljeno 20. siječnja 2023.

International Olive Council (2011) COI/OH/Doc. No 1 - Guide for the determination of the characteristics of oil-olives

Juliano P, Gaber MAFM, Romaniello R (2023) Advances in Physical Technologies to Improve Virgin Olive Oil Extraction Efficiency in High-Throughput Production Plants. *Food Eng Reviews* **15**, 1-18 <https://doi.org/10.1007/s12393-023-09347-1>

Kantoci D (2006) Maslina. *Glasnik zaštite bilja* **29(6)**, 4-14. <https://hrcak.srce.hr/file/241986>

Kapellakis IE, Tsagarakis KP, Crowther JC (2007) Olive oil history, production and by-product management - Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **7**, 1-26 <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>

Kiritsakis A, Markakis P (2008) Olive Oil: A Review. *Advances in Food Research* **31**, 453-482 [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60170-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60170-6)

Klepo T i Benčić Đ (2014) Genotype impact on the chemical composition of olive oil. *Glasnik Zaštite Bilja* **37(5)**, str. 53 <https://hrcak.srce.hr/162617>

Koprivnjak O, Vrhovnik I, Hladnik T, Prgomet Ž, Hlevnjak B, Majetić Germek V (2012) Characteristics of Nutritive Value of Virgin Olive Oils from Buža, Istarska bjelica, Leccino and Rosulja Cultivars. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, **7(3-4)**, 172-178 <https://hrcak.srce.hr/95033>

Koprivnjak O, Kriško A, Valić S, Carić D, Krapac M, Poljuha D (2016) Antioxidants, radical-scavenging and protein carbonylation inhibition capacity of six monocultivar virgin olive oils in Istria (Croatia). *Acta Alimentaria* **45**, 427-433 <https://doi.org/10.1556/aalim.2015.0018>

Koprivnjak O, Majetić V, Bubola KB, Kosić US (2011) Variability of Phenolic and Volatile Compounds in Virgin Olive Oil from Leccino and Istarska Bjelica Cultivars in Relation to Their Fruit Mixtures. *Food Technology and Biotechnology* **50(2)**, 216-221
<https://hrcak.srce.hr/83935>

Kovačević I, Perica S (1994) *Suvremeno maslinarstvo*. Avium, Split

Li X, Farid M (2016) A Review on Recent Development in Non-conventional Food Sterilization Technologies. *Journal of Food Engineering* **182**, 33-45
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.02.026>

Marinac Anđić I (2016) Utjecaj zagrijavanja maslinovog ulja na sadržaj polifenolnih tvari (diplomski rad) Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb
<https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:180482>

Maslinar (2019) Istarska bjelica kasno rađa. *Maslinar, časopis za maslinare i uljare*,
<https://www.maslinar.com/istarska-bjelica-kasno-rada/>

Međunarodni sporazum o maslinovu ulju i stolnim maslinama (2015), Ured za publikacije
Europske unije, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=LEGISSUM%3A4401803>

Navarro A, Ruiz-Méndez MV, Sanz C, Martínez M, Rego D, Pérez AG (2022) Application of Pulsed Electric Fields to Pilot and Industrial Scale Virgin Olive Oil Extraction: Impact on Organoleptic and Functional Quality. *Foods* **11(14)** <https://doi.org/10.3390/foods11142022>

Peres F, Martins LL, Ferreira-Dias S (2014) Laboratory-scale optimization of olive oil extraction: Simultaneous addition of enzymes and microtalc improves the yield. *Eur J Lipid Sci Technol* **116**, 1054-1062. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400060>

Poljuha D, Sladonja B, Brkić Bubola K, Radulović M, Brščić K, Šetić E, Krapac M, Milotić A (2008) A Multidisciplinary Approach to the Characterisation of Autochthonous Istrian Olive (*Olea europaea* L.) Varieties. *Food Technology and Biotechnology* **46(4)**, 347–354

<https://hrcak.srce.hr/file/48111>

Preziuso SM, Di Serio MG, Biasone A, Vito R, Mucciarella MR, Di Giovacchino L (2010) Influence of olive crushing methods on the yields and oil characteristics. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **112**, 1345-1355 <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000303>

Ranjha MMAN, Kanwal R, Shafique B, Arshad RN, Irfan S, Kieliszek M, Kowalczewski PŁ, Irfan M, Khalid MZ, Roobab U (2021) A Critical Review on Pulsed Electric Field: A Novel Technology for the Extraction of Phytoconstituents. *Molecules* **26(16)**, 4893. <https://doi.org/10.3390/molecules26164893>

Rodríguez-López P, Lozano-Sanchez J, Borrás-Linares I, Emanuelli T, Menéndez JA, Segura-Carretero A (2020) Structure–Biological Activity Relationships of Extra-Virgin Olive Oil Phenolic Compounds: Health Properties and Bioavailability. *Antioxidants* **9**, 685 <https://doi.org/10.3390/antiox9080685>

Sladonja B, Brkić K, Radulović M, Lukić I, Šetić E, Krapac M (2006) Oil content in fruits of leading autochthonous olive varieties in Istria. *Pomologia Croatica* **12(2)**, 153-158 <https://hrcak.srce.hr/4508>

Škevin D (2016) Proces prerade maslina i kontrola kvalitete proizvoda (interna skripta), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 14-32

Tamborrino A, Urbani S, Servili M, Romaniello R, Perone C, Leone A (2020) Pulsed Electric Fields for the Treatment of Olive Pastes in the Oil Extraction Process. *Appl. Sci.* **10**, 114 <https://doi.org/10.3390/app10010114>

Toepfl S, Heinz V, Knorr D (2006) High Intensity Pulsed Electric Fields Applied for Food Preservation. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **46(6)**, 537-546 <https://doi.org/10.1016/j.cep.2006.07.011>

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

Veillet S, Tomao V, Bornard I, Ruiz K, Chemat F (2009) Chemical Changes in Virgin Olive Oils as a Function of Crushing Systems: Stone Mill and Hammer Crusher. *Comptes Rendus Chimie* **12(8)**, 895-904 <https://doi.org/10.1016/j.crci.2009.01.003>

Veneziani G, Esposto 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** <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00134>

Visioli F, Galli C (1998) Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46(10)**, 4292–4296 <https://doi.org/10.1021/jf980049c>

Vossen P (2007) Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils. *HortScience horts* **42(5)**, 1093-1100. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1093>

Žanetić M, Gugić M (2006) Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja. *Pomologia Croatica*, **12(2)**, 159-173 <https://hrcak.srce.hr/4509>

Izjava o izvornosti

Ja Sara Šapina 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.

Sara Šapina
Vlastoručni potpis