



**UNIVERZITET U NOVOM SADU**

**TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**Katedra za inženjerstvo konzervisane hrane**

**Tehnologija prerade uljarica**



**Karakterizacija kvaliteta, nutritivne vrednosti i stabilnosti  
devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u različitim regionima  
Libije**

**Doktorska disertacija**

**MENTOR:**

**Prof. dr Etelka Dimić**

**KANDIDAT:**

**Seddiq Mrihil Ali Esalami**

**Novi Sad, Jun 2018.godine**

## ZAHVALNOST

Veoma sam zahvalan Bogu, koji me je blagoslovio zdravljem, ljubavlju porodice, odanošću prijatelja i mogućnostima da započnem i završim svoj doktorat na Univerzitetu u Novom Sadu. Želeo bih da izrazim svoju iskrenu zahvalnost prema svom mentoru, Prof. dr Etelki B. Dimić, koja mi je dala priliku da steknem znanje pod njenim vođstvom, a naročito za njenu podršku u izradi doktorske disertacije i mogućnostima da dostignem ovaj cilj u mojoj karijeri. Veoma sam zahvalan. Danijela Relić za njenu veliku zainteresovanost u mojoj karijeri i brigu o meni, od prvog dana rada na mojoj disertaciji. Želeo bih da izrazim posebnu zahvalnost svojim roditeljima, braći i sestrama za podršku i pruženu moralnu snagu tokom mog života. Zaista duboko verujem da sam dostigao ovu fazu u svom životu samo zbog njihove pomoći, ljubavi i podrške. Moja posebna zahvalnost, od srca, ide mojoj ženi, Safa. Ona je iskreno i predano posvetila svoju energiju da bi mi omogućila da radim rasterećeno kroz dane i noći tokom četiri godine.

## POSVETA

Ova disertacija je posvećena mom ocu, koji me je naučio da je najkvalitetnije znanje ono koje stičemo zbog sebe. Takođe je posvećena mojoj majci, koja me je naučila da čak i najveći zadatak može da se ostvari, ako se radi korak po korak. Posvećujem svoju disertaciju i supruzi, Safa, kao i mojoj divnoj deci, Marwa, Wasseem i Mohamed. Dajem svoju najdublju zahvalnost za podršku koju ste mi pružili i volju koju ste uložili tokom mog doktorskog programa. Mojoj braći i sestrama hvala na podršci. Posvećujem ovu disertaciju svima onima koji me znaju.

Seddiq Esalami

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD**

**Ključna dokumentacijska informacija**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Seddiq Mrihil Ali Esalami
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof.dr. Etelka B. Dimić
Naslov rada: NR	Karakterizacija kvaliteta, nutritivne vrednosti i stabilnosti devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u različitim regionima Libije
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srpski /engleski
Zemlja publikovanja:	Republika Srbija

ZP	
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2018
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Republika Srbija, 21000 Novi Sad, Bulevar Cara Lazara 1
Fizički opis rada: FO	(6 broj poglavlja / 199 stranica / 73 slika /30 grafikona / 271referenci / priloga)
Naučna oblast: NO	Prehrambena tehnologija
Naučna disciplina: ND	Inženjerstvo konzervisane hrane
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Maslinovo ulje, masne kiseline, boja, oksidativna stabilnost, fenolna jedinjenja, antioksidativni kapacitet, fluorescentni test, senzorska analiza.
UDK	665.327.3 (397) (043.3)
Čuva se: ČU	Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Bulevar Cara Lazara 1
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	U ovoj tezi, uz pomoć literaturnih podataka prezentovano je geografsko poreklo masline i maslinovog ulja, njegova upotreba tokom istorije, proizvodni proces, senzorska svojstva, nutritivna vrednost i sastav masnih kiselina i održivost. U eksperimentalnom delu teze

detaljno je analizirano pet uzoraka devičanskih maslinovih ulja-DMU proizvedenih na različitim maslinarskim područjima Libije tokom dve uzastopne proizvodne godine. Karakteristike ovih ulja su upoređene sa karakteristikama ekstra devičanskih maslinovih ulja najpoznatijih svetskih proizvođača, Italije, Španije i Grčke. Najvažnije masne kiseline u maslinovom ulju su sedam glavnih masnih kiselina- MK koje su detektovane u uzorcima DMU. Oleinska, palmitinska i linolna kiselina su dominantne, dok su druge MK detektovane u malim količinama. Najveći procenat palmitinske kiseline nadjen je u DMU sa područja Tripoli ( $P \leq 0,05$ ). Oleinska kiselina je dominantna u svim uzorcima DMU. Ustanovljeno je da je Libijsko DMU sa područja Gharyan poseduje najvišu koncentraciju oleinske kiseline, mononezasićenih masnih kiselina, najviši sadržaj bioaktivnih jedinjenja i najbolju nutritivnu vrednost. Bioaktivna jedinjenja u maslinovom ulju su tokoferoli, fenoli i pigmenti. Ova jedinjenja čine maslinovo ulje veoma zdravim. Ispitivana je, takođe, i fotostabilnost DMU pod uticajem fluorescentnog svetla u periodu od 35 dana. Ovi eksperimenti su sprovedeni sa tri uzorka DMU sa poreklom iz Libije u poređenju sa uljem iz Italije. Uzorci su bili izloženi fluorescentnom svetlu u providnoj i tamno smeđoj staklenoj ambalaži. Posmatrane su izmene karakteristika boje i rezultati su pokazali da fluorescentna svetlost utiče na smanjenje kvaliteta DMU više u uzorcima u transparentnoj ambalaži u poređenju sa onima u tamno smeđoj ambalaži. Osim toga, ispitana je i termostabilnost boje DMU primenom Schaal-Oven testa pod uticajem umerene temperature od  $63 \pm 2^\circ\text{C}$  tokom perioda od 28 dana. Najmanje promene karakteristika i parametri najboljeg kvaliteta zabeležene su uzorku Gharyan DMU. Uzorak je sadržavao više pigmenata i fenolnih jedinjenja u poređenju sa uzorkom iz Italije i gubitak je bio najmanji za parametre boje. Pozitivna veza između jednog broja i polinezasićenih masnih kiselina je registrovana sa koeficijentom korelacije  $r = +0,927$ . Primećena je i snažna pozitivna veza između sadržaja hlorofila i ( $a^*$ ) vrednosti boje, ( $r = + 0,859$ ). Snažna pozitivna veza između

	TPC i AC ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ) je takodje primećena, r je bio + 0,511. S druge strane, ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ) je pokazao pozitivnu umerenu korelaciju sa TTC, (r = + 0,587).
Datum prihvatanja teme od strane Senata:  DP	16.02.2018
Datum odbrane:  DO	
Članovi komisije:  (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)  KO	predsednik: Dr Natalija Džinić, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu  član: Dr Etelka B. Dimić, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu  član: Dr Biljana Pajin, redovni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu  član: Dr Biljana Rabrenović, vanredovni profesor, Poljoprivedni fakultet, Univerzitetu u Beogradu

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF TECHNOLOGY NOVI SAD**

**Key words documentation**

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Seddiq Mrihil Ali Esalami
Mentor: MN	Prof.dr Etelka B. Dimić
Title: TI	Characterization of the quality, nutritive value and stability of virgin olive oils produced in different regions of Libya
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	Serbian/ English
Country of publication:	Republic of Serbia

CP	
Locality of publication: LP	AP Vojvodina
Publication year: PY	2018
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Serbia, 21000 Novi sad, Bulevar cara Lazara 1
Physical description: PD	6 Chapters, 199 Pages, 73 Figures, 30 Tables, 271 References
Scientific field SF	Food Technology
Scientific discipline SD	Engineering of Canned Food
Subject, Key words SKW	Olive oil, Fatty acid, Color, oxidative stability, Phenolic compounds, Antioxidant capacity, Fluorescent test, Sensory analysis.
UC	665.327.3 (397) (043.3)
Holding data: HD	Library (Faculty of Technology), 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Note: N	None
Abstract: AB	In this thesis, with the help of literature data, the geographical origin of olive and olive oil, its use during history, production process, sensory properties, nutritive value and composition of fatty acids and sustainability were presented. In the experimental part of the thesis, five samples of virgin olive oils-VOO produced in various



olive growing regions of Libya were analyzed in detail over the two consecutive production years. The qualities of these oils are compared with the characteristics of extra virgin olive oils of the world's most famous producers, Italy, Spain and Greece. The most important fatty acids in olive oil are the seven major fatty acids - FA that are detected in the VOO samples. Oleic, palmitic and linolenic acid are dominant, while other FAs are detected in small amounts. The largest percentage of palmitic acid was found in the VOO from the Tripoli area ( $P \leq 0.05$ ). Oleic acid is dominant in all VOO samples. It has been found that the Libyan VOO from the Gharyan region has the highest concentration of oleic acid, monounsaturated fatty acids, the highest content of bioactive compounds and the best nutritional value. Bioactive compounds in olive oil are tocopherols, phenols and pigments. These compounds make olive oil very healthy. The VOO's photostability under the influence of fluorescent light for a period of 35 days was also examined. These experiments were carried out with three samples of VOO originating in Libya in comparison with oil from Italy. Samples were exposed to fluorescent light in transparent and dark brown glass containers. Changes in color characteristics were observed and the results showed that fluorescent light influences the quality of VOO more in samples in transparent packaging compared to those in dark brown packaging. In addition, the VOO color thermostability was tested using a Schaal-Oven test under the influence of a moderate temperature of  $63 \pm 2^\circ\text{C}$  over a period of 28 days. The smallest changes in characteristics and parameters of the best quality were recorded in the Gharyan VOO sample. The sample contained several pigments and phenolic compounds compared to the sample from Italy and the loss was the smallest for the color parameters. The positive relationship between iodine and polyunsaturated fatty acids is registered with the coefficient of correlation  $r = + 0.927$ . A strong

	<p>positive relationship between the content of chlorophyll and (a*) of the color value was noted, (<math>r = + 0.859</math>). A strong positive association between TPC and AC (<math>1/EC50^{DPPH}</math>) was also observed, <math>r</math> was <math>+ 0.511</math>. On the other hand, (<math>1/EC50^{DPPH}</math>) showed a positive moderate correlation with TTC, (<math>r = + 0.587</math>).</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>Feb 16<sup>th</sup>, 2018</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	<p>president: Dr Natalija Džinić , Full professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad.</p> <p>member: Dr Etelka B. Dimić, full professor, Faculty of Tecnology, University of Novi Sad.</p> <p>member: Dr Biljana Pajin, Full professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad.</p> <p>member: Dr Biljana Rabrenović, assoicate professor, Faculty of Agriculture, University of Belgrade.</p>

# SADRŽAJ

<b>1.0.UVOD</b> .....	1
<b>2.0.PREGLED LITERATURE</b> .....	3
<b>2.1. Drvo masline</b> .....	3
2.1.1. Sorte maslina .....	3
2.1.2. Istorija, prinos i raširenost maslina.....	6
<b>2.2. Oznake i definicije maslinovih ulja</b> .....	9
2.2.1. Kategorije kvaliteta maslinovog ulja.....	11
2.2.2. Sastav maslinovog ulja .....	13
<b>2.3. Globalna proizvodnja maslinovog ulja</b> .....	28
2.3.1. Proizvodnja maslinovog ulja u Libiji .....	32
<b>2.4. Opis i struktura ploda masline</b> .....	33
<b>2.5. Nutritivna vrednost maslinovog ulja</b> .....	36
<b>2.6. Maslinovo ulje kao komponenta za funkcionalnu hranu</b> .....	38
2.6.1. Fenolna jedinjenja .....	38
2.6.2. Antioksidantni profil maslinovog ulja .....	41
2.6.3. Zdravstveni značaj maslinovog ulja .....	43
<b>2.7. Senzorske karakteristike maslinovog ulja</b> .....	47
2.7.1. Boja ulja .....	51
<b>2.8. Oksidativna stabilnost - rok trajanja maslinovog ulja</b> .....	53
2.8.1. Test oksidativne stabilnosti - užeglosti.....	57
2.8.2. Test u sušnici (Schaal test) .....	57
2.8.3. Fluorescentni test (FLT test) .....	58
<b>3.0. MATERIJALI I METODE</b> .....	61
<b>3.1. Hemikalije</b> .....	61
<b>3.2. Biljni materijali</b> .....	61
<b>3.3. Tehnološki proces proizvodnje DMU</b> .....	63
3.3.2. Prerada maslina – proizvodnja ulja .....	63
<b>3.4. Analitičke metode ispitivanja</b> .....	67
3.4.1. Određivanje bioaktivnih komponenata u DMU .....	67
3.4. 2. Ispitivanje senzorskih osobina ulja.....	71
3.4.3. Fizičko-hemijske karakteristike DMU .....	73
3.4.4. Ispitivanje oksidativne stabilnosti ulja - rok trajanja.....	78

3.5. Statistička obrada rezultata.....	80
<b>4.0. REZULTATI I DISKUSIJA .....</b>	<b>81</b>
4.1.1. Evaluacija senzorskih osobina.....	81
4.1.2. Kolorimetrijska merenja boje (vrednosti <i>CIE</i> , $a^*$ , $b^*$ i $L^*$ ).....	84
4.1.3. Test transparentnosti ulja.....	87
4.1.4. Prirodni pigmenti u ulju.....	89
<b>4.2. Hemijska i fizička svojstva DMU .....</b>	<b>94</b>
4.2.2. Kiselost – slobodne masne kiseline .....	95
4.2.3. Sadržaj vlage .....	97
4.2.4. Relativna gustina .....	98
4.2.5. Indeks refrakcije .....	99
4.2.6. Fosfolipidi .....	101
4.2.7. Anisidinski broj ( <i>Abr</i> ) .....	102
4.2.8. Jodni broj ( <i>Jbr</i> ) .....	103
4.2.9. Saponifikacioni broj ( <i>Sbr</i> ) .....	105
4.2.10. Neosapunjive materije.....	106
<b>4.3. Sadržaj nutritivnih komponenata u DMU .....</b>	<b>107</b>
4.3.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja .....	107
4.3.2. HPLC analiza sastava fenolnih jedinjenja .....	109
4.3.3. Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola ( <i>TTC</i> ).....	117
4.3.4. HPLC analiza sastava tokoferola.....	118
4.3.5. Sastav masnih kiselina ( <i>MK</i> ).....	120
4.3.6. Određivanje bioaktivnosti DMU .....	127
<b>4.4. Procena oksidativne stabilnosti - rok trajanja.....</b>	<b>132</b>
4.4.1. Test na bazi fluorescentnog svetla.....	133
4.4.1. Fluorescentni test.....	133
4.4.2. Održivost ulja - Rancimat test .....	153
4.4.3. Ispitivanje održivost ulja primenom Schaal-Oven testa .....	155
<b>4.5. Korelacija (<i>r</i>) među fitohemikalijama i antioksidativnim kapacitetima u uzorcima DMU .....</b>	<b>163</b>
<b>4.6. Korelacija (<i>r</i>) među <i>Jbr</i> i PUFA u uzorcima DMU.....</b>	<b>166</b>
<b>4.7. Korelacija (<i>r</i>) među hlorofila i (<math>a^*</math>) vrednost u uzorcima DMU .....</b>	<b>168</b>
<b>5.0. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>170</b>
<b>6.0. LITERATURA .....</b>	<b>175</b>

## SKRAĆENICA

<b>DMU</b>	Devičansko maslinovo ulje
<b>MK</b>	Masne kiseline
<b>PC</b>	Fenolna jedinjenja
<b>TPC</b>	Ukupna fenolna jedinjenja
<b>TTC</b>	Ukupni tokoferoli i tokotrienoli
<b>AC</b>	Anti oksidativni kapacitet
<b>Jbr</b>	Jodni broj
<b>SV</b>	Vrednost saponifikacije
<b>HPLC</b>	Hromatografija visokih performansi
<b>DPPH</b>	2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>Ch</b>	Hlorofil
<b>Pbr</b>	Peroksidni broj
<b>Kbr</b>	Kiselost
<b>UF</b>	Nesaponifikujuća frakcija
<b>MC</b>	Sadržaj vlage
<b>Abr</b>	Anisidinski broj
<b>ANOVA</b>	Analiza varijacije
<b>EDMU</b>	Ekstra devičansko maslinovo ulje
<b>HSD</b>	Vrlo značajne razlike
<b>SMK</b>	Slobodne masne kiseline
<b>IR</b>	Refraktivni indeks
<b>TC</b>	Sastav tokoferola

<b>MUFA</b>	Mononezasićene masne kiseline
<b>PUFA</b>	Polinezasićene masne kiseline
<b>SFA</b>	Zasićene masne kiseline
<b>ARP</b>	Antiradilski potencijal
<b>OS</b>	Oksidativna stabilnost
<b>G14</b>	Gharyan 2014 uzorak
<b>T14</b>	Tarhuna 2014 uzorak
<b>M14</b>	Msallata 2014 uzorak
<b>TR14</b>	Tripoli 2014 uzorak
<b>Q14</b>	Q. B. Ghashir 2014 uzorak
<b>I14</b>	Italija 2014 uzorak
<b>S14</b>	Španija 2014 uzorak
<b>GR14</b>	Grčka 2014 uzorak
<b>G15</b>	Gharyan 2015 uzorak
<b>T15</b>	Tarhuna 2015 uzorak
<b>M15</b>	Msallata 2015 uzorak
<b>TR15</b>	Tripoli 2015 uzorak
<b>Q15</b>	Q. B. Ghashir 2015 uzorak

## 1.0.UVOD

Devičansko maslinovo ulje (DMU) se dobija iz plodova maslina (*Olea europaea* L.) isključivo mehaničkim ili drugim fizičkim sredstvima pod uslovima, naročito termičkim uslovima koji ne dovode do promene u sastavu ulja (IOOC, 2003). Presovanje, centrifugiranje i ekstrakcija su uobičajene metode za dobijanje maslinovog ulja. Pravilno izdvojeno maslinovo ulje iz plodova dobrog kvaliteta može se konzumirati u sirovom obliku, tj. bez primene naknadne rafinacije (Petrakis, 2006, Visioli, 2006).

Maslinovo ulje, jedno od najstarijih poznatih biljnih ulja je „voćni sok“ od plodova drveta *Olea europaea*. Kada se plodovi maslina beru u optimalnoj fazi zrelosti i pravilno obrađuju, dobije se maslinovo ulje sa delikatnim i jedinstvenim ukusom. Neke sorte maslina daju ulje sa boljim kvalitetom ukusa od drugih (Kiritsakis i sar., 1998; Aparicio i sar., 1999). Maslinovo ulje, koje je hiljadama godina glavna hrana na području Mediterana je u fazi znatnog povećanja potrošnje i na širem međunarodnom nivou, zbog prepoznatljive jedinstvene arome i nutritivne vrednosti, pre svega zbog visoke mononezasićenosti (oleinska kiselina je glavna masna kiselina maslinovog ulja) i prisustva fenola, tokoferola, skvalena i dr. (Bendini i sar., 2007; Cerretani i sar., 2007).

Devičansko i ekstra devičansko maslinovo ulje su među malobrojnim uljima koja se konzumiraju bez rafinacije i koja zbog toga, osim tokoferola, sadrže razna fenolna jedinjenja. Ova jedinjenja imaju antioksidativna svojstva, koja značajnu ulogu imaju korist zdravlja konzumenta (Silva i sar., 2010). Važnost devičnog maslinovog ulja odnosi se prvenstveno na visok nivo mononezasićenih masnih kiselina (uglavnom oleinske kiseline) i nekoliko tipova antioksidanata. Ulje sa višim sadržajem mononezasićenih masnih kiselina (MNMK) i nižim sadržajem zasićenih masnih kiselina (ZMK) je poželjno zbog dokazanog pozitivnog efekta MNMK na nivo serumskog holesterola (Hashempour i sar., 2010). Danas je dobro poznato da su efekti dijetetskih MNMK na zdravlje u suštini bili pripisani smanjenoj aktivaciji endotela i LDL osetljivosti na oksidaciju (Dabbou i sar., 2011).

Opšte je poznato da na kvalitet DMU utiču različiti agronomski faktori, kao što su sorta maslina, klimatski uslovi, stepen sazrevanja i agronomske prakse vezane za navodnjavanje. U stvari, maslina je jedna od najvažnijih biljnih kultura u čitavom mediteranskom basenu. Vrsta

uključuju hiljade sorti, većina dobijenih od empirijskih selekcija tokom mnogo vekova, sada dobro prilagođenih različitim lokalnim uslovima (Besnard i sar., 2001; Dabbou i sar., 2010).

Libija je jedan od glavnih proizvođača maslinovog ulja u Severnoj Africi, gde je maslinovo ulje osnovna kultura. Između 2008/09 i 2013/14, prosečna proizvodnja ulja u zemlji iznosila je 15 000 tona godišnje. Korišćenje maslinovog ulja u Libiji je deo kulture i veliki je broj pojedinačnih proizvođača koji proizvode ulje koristeći proces hladnog presovanja (Elbeidi & Hamuda, 2016). Jedan deo ovih proizvođača koristi ulje za vlastitu upotrebu, deo prodaje, a ulja slabijeg kvaliteta se isporučuju jedinoj rafineriji u zemlji radi prerade. Glavni problem koji se odnosi na proizvodnju maslinovog ulja u severno-afričkoj zemlji je vrlo nizak nivo proizvodnje, nedovoljno istražen kvalitet i nedostatak standardizovanog kvaliteta ulja po evropskim propisima. Međutim, Libija u svakom slučaju ima dobre prirodne uslove i druge mogućnosti za razvoj proizvodnje maslina i povećanja proizvodnje maslinovog ulja.

Glavni ciljevi ove disertacije su vezani za sveobuhvatno sagledavanje kvaliteta devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u različitim regionima Libije. U tom smislu postavljeni zadatak je:

- istražiti profil fenola, tokoferola i masnih kiselina;
- odrediti *in vitro* biološki potencijal (antioksidativni kapacitet);
- ispitati senzorske karakteristike ulja (boju, ukus, miris i izgled);
- istražiti prirodne pigmente (hlorofil i karotenoide);
- utvrditi stabilnost i odrediti rok trajanja ulja libijskih DMU.



## 2.0.PREGLED LITERATURE

### 2.1. Drvo masline

Maslina (*Olea europaea* L.) (Slika 1) je jedno od veoma važnih hortikulturnih useva u sušnim i poluaridnim područjima gde su biljke često podložne visokoj temperaturi i oskudici vode (Arzani i Arji, 2002). Kvalitet i sastav ulja plodova iz ovih stabala zavise od faktora okoline, kao što su temperatura, geografska širina, vetar, svetlost i dostupnost vode (Cimato i sar., 2001), od genetskih faktora, kao što su sorta i od stadijuma zrelosti plodova (Aguilera i sar., 2005; Ranalli i sar., 2012). Maslinovo drvo poznato je u mediteranskom regionu hiljadama godina jer je uzgajano zbog svojih plodova. Kako plodovi masline tako i ulje iz njega čine sastavni deo ishrane za stanovnike Mediterana, posebno u Grčkoj, Italiji i Španiji, tri najveća svetska proizvođača maslina



**Slika 1.** Tipična stabla maslina (google.wikipedia)

#### 2.1.1. Sorte maslina

Maslina ima mnoge sorte koje pokazuju veće ili manje fenotipske i genetske razlike. Danas je većina razlika zabeležena u veličini, boji, sadržaju ulja, sastavu masnih kiselina i drugim svojstvima posmatranim tokom uzgajanja maslina. Proizvodnja masline za ulje je u

početku bila ograničena na proizvodne regione uglavnom oko Sredozemnog mora. Međutim, danas se uzgajanje masline proširilo na Severnu i Južnu Ameriku, pa čak i na Australiju. Maslina je član botaničke porodice *Oleaceae*, koja sadrži 30 vrsta, kao što su jasmin, jasen i kalina. Jedina jestiva vrsta je *Olea europaea* L., koja se kultiviše zbog svojih velikih mesnatih plodova koji sadrže ulje. 850 miliona maslina na svetu su razvrstane u gotovo 1000 registrovanih sorti (Fausto, 2002). Postoje različite sorte *Olea europaea*, svaka sa specifičnim fizičkim i biohemijskim karakteristikama, dajući maslinovom ulju specifičan sastav i senzorska svojstva. Za razliku od gotovo svih kultivisanih vrsta koje imaju tendenciju da izgube svoj biodiverzitet, kao rezultat kombinovanog selektivnog procesa uzgoja i intenzivne eksploatacije, *Olea europaea* ima ogromno genetsko nasleđe, procenjeno na oko 1200 sorti (Bartolini i sar., 2005). Plodovi masline su sirovina za brojne proizvode, naročito maslinovo ulje i masline. Masline se beru krajem jeseni ili zime, u zavisnosti od vrste i željenih karakteristika finalnog proizvoda. Za proizvodnju maslinovog ulja često se koriste masline koje se sakupljaju u različitim fazama zrenja, tj. zelena, crvenkaste ili crne boje za određene sorte. Za bolje razumevanje teksturnih promena koje se javljaju u finalnom proizvodu, veoma je važno znati karakteristike sirovine (Mafra i sar., 2006). U velikoj meri sorta će diktirati prinos plodova, prinos ulja, profil masnih kiselina i karakteristike boje i ukusa zasnovan na profilu i koncentraciji pigmenata, fenola, isprljivih materija i drugih prisutnih fitohemikalija. Idealno je da svaki genetički kapacitet svake sorte bude usklađen sa klimom i opštim okruženjem kako bi se povećala proizvodnja i kvalitet.

Tradicionalno, sorte se razlikuju po svojim fenotipskim karakteristikama. Ovo uključuje bezbrojne osobine od veličine, mase, oblika i boje ploda (Slika 2) do vremena sazrevanja, odnosa pulpe/koštice, veličine lišća, prinosa ulja, otpornosti na bolesti itd. (Pinheiro i Silva, 2005).



**Slika 2.** Različite sorte maslina (Psaltopoulou i sar., 2004)

Zadatak identifikacije i klasifikacije različitih sorti maslina je prilično izazovan (Vossen, 2007). Postoji oko 2500 poznatih sorti maslina, od kojih su 250 klasifikovane kao komercijalne sorte od strane Međunarodnog saveta za maslinovo ulje, kako je opisano u tabeli 1. (IOOC, 2011). Ove komercijalne sorte se koriste za proizvodnju maslinovog ulja ili maslina za jelo ili oboje. Specifičnu upotrebu date sorte određuje veličina ploda i sadržaj ulja. Sorte maslina sa sadržajem ulja manjim od 12%, kao što su Ascolano, Calamata i Manzanillo, skoro se isključivo koriste za proizvodnju maslina za jelo, dok su one sa višim prinosom ulja (oko 20%), kao što su Hojiblanca, Verdial, Picual, Gemlik, Niyhati, Kalamonand, Arauco, se koriste u svrhu proizvodnje maslinovog ulja (Ryan i Robards, 1998; Fernandez i sar., 1997; Ghanbari i sar., 2012).

Pored svoje glavne uloge i korisnosti u karakterizaciji sorti, na ove markere može uticati prirodna sredina, što može predstavljati problem ukoliko se koriste za identifikaciju. Sa pojavom specifičnih hemijskih metodologija, hemijski sastav lišća, maslina i maslinovog ulja su počeli da se koriste kao mogući markeri. Hemijski sastojci koji su korišćeni u ovu svrhu uključuju tokoferole, sterole, masne kiseline i fenolna jedinjenja (Matos i sar., 2007).

Danas se maslina uglavnom kultiviše u mediteranskim zemljama, uključujući Španiju, Italiju, Grčku, Tunis, Tursku, Maroko, Siriju, Alžir, Egipat, Izrael, Libiju, Jordan, Liban, Kipar, Hrvatsku i Sloveniju, kao i u Argentini, Čileu, Meksiku, Peru, Sjedinjenim Državama i Australiji (Boskou, 2009).

**Tabela 1.** Lista nekih tipičnih sorti maslina i njihovog porekla u svetu (Fernández i sar., 1997)

Poreklo	Sorta
<b>Grčka</b>	Adramitini, Amigdalolia, Amphissis, Chalkidikis (Chondrolia), Daphnoelia Doppia, Frantoio, Gordal, Koroneiki, Karidolia, Lianolia, Patrini, Chondrolia (akaThroumbolia), Tsounati, Valanolia
<b>Italija</b>	Biancolilla, Bosana, Canino, Casaliva, Cellina di Nardo, Coratina Dolce Agogio, Dritta, Moraiolo, Rosciola, Pisciotana, Grignan, Ottobratica
<b>Španija</b>	Alfajara, Arbequina, Bical, Blanqueta, Empeltre, Farga, Gordal, Lechin, Hojiblanca, Manzanilla de Jaén, Morrut Palomar, Picual, Sevillena Verdiell, Vilallonga
<b>Francuska</b>	Aglandau, Amellau, Cayon, Germaine, Picholine, Lucques, Sabine, Salonenque, Picholine, Zinzala
<b>Portugalija</b>	Cobrançosa, Galega
<b>Hrvatska</b>	Oblica i Leccino
<b>Tunis</b>	Chemlali, Chetoui, Gerbouli, Meski, Oueslati

U Libiji maslina se uglavnom kultiviše na severnim lokacijama i to najčešće sledeće sorte Gargashi, Nab-Elgamal, Oskolana, Endori, Shemlalis, Roghiani, Frantoio, Rasli, Morillino, Coratina, Mignolo, Marino, Oslati, Hammodi, Amboti, Shemlali Gosbat, Marari, Jaboji, Zafarani, Grosso Di Sardegna, Coco, Morillino, Grosso Di Spagna, Karmiltana i Sant Agostino.

### 2.1.2. Istorija, prinos i raširenost maslina

Prvi dokaz o kultivaciji dobijen je oko doline Jordana gde su na arheološkim lokalitetima pronađene maslinove koštice. Kasnije, njegova upotreba proširila se na Feniciju, Kipar, Krit, drevnu Grčku i Rimsko carstvo. U šesnaestom i sedamnaestom veku, njegova kultivacija se širila u Ameriku i Australiju/Pacifik (Kuiles i sar., 2006). Trenutno *Olea europaea* L. se smatra botaničkim kompleksom koji obuhvata šest podvrsta (*cerasiformis*, *cuspidata*, *europaea*, *guanchica*, *laperrinei* i *maroccana*) (Besnard i sar., 2009) i više od 350 tipičnih sorti.

Maslina (*Olea europaea* L.) je klasifikovana u botaničku porodicu *Oleaceae*, koja pripada Angiospermae ili cvetnim biljkama. Ime masline proizilazi iz drevne grčke reči *e'laia* (elaia), a potom i latinske reči *olea*. Derivativne reči koje znače "ulje" na oba jezika su *e'laion* (elaion) i *oleum*, respektivno. Maslinovo ulje je glavno jestivo biljno ulje mediteranskih zemalja. Maslinovo ulje se dobija mlevenjem i presovanjem plodova kultivisane masline, koja je bila domestifikovana pre oko 6000 godina u istočnom mediteranskom području. Krajem rimskog perioda, uzgoj maslina i tehnika proizvodnje maslinovog ulja proširio se na sve delove mediteranskog basena (Grigg, 2001; Kapellakis i sar., 2008).

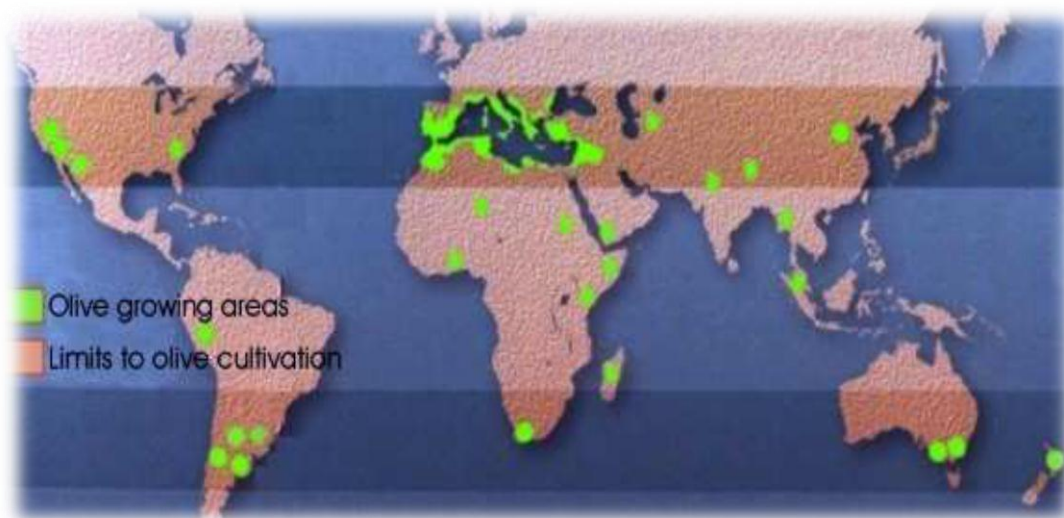
Poreklo masline datira iz drevnih vremena. Njegova ekspanzija se susreće sa civilizacijama koje su se razvile na Mediteranu od istoka ka zapadu. Većina fosilizovanih maslina i ostataka koji se odnose na neolitsko i bronzano doba pokazuju da je bilo maslina u 6 milenijumu p.n.e. (Vossen, 2007).

Neki istraživači su tvrdili da kultivisana maslina potiče iz Male Azije, između sadašnje Sirije, Libana i Izraela. Njena kultivacija je možda započela u feničanskim kolonijama sadašnjih teritorija Palestine i Libana, mnogo bliže Mediteranu, na početku neolitskog perioda, tj. oko 6000 p.n.e. Od ovog izvora, maslinovo stablo se širilo prema zapadu. Prvo, širi se na obale Egipta i ostrvo Krit; zatim u Libiju, Grčku, Siciliju i južnu Italiju u četvrtom milenijumu pre nove ere. Grci i Rimljani su proširili kultivaciju na severne mediteranske obale. Feničani iz Libana su poboljšali kultivaciju na jugu, od Libije i Tunisa do Alžira, Maroka i Španije (Harwood i Aparicio, 2000; Vossen, 2007).

Domestikacija masline se desila od četvrtog milenijuma pre nove ere u mediteranskom basenu u područjima koja se nalaze između Male Azije i Bliskog istoka (Zohari i Spiegel Roi, 1975; Lipschitz i sar., 1991). Mnogi dokazi ukazuju na to da se u protekla dva milenijuma promenilo širenje kultivisane površine maslina, a klima je bila glavna varijabla koja je pokrenula ovaj proces (Moriondo i sar., 2008). U stvari, moguće je videti trend, koji se lako može povezati sa širenjem plantaža. Istorijski dokazi pokazuju širenje kultura maslina koju su Rimljani sproveli u severnom delu Italije (Neumann, 1985). Dalja ekspanzija uzgoja dogodila se tokom toplijeg, srednjevekovnog perioda (950-1200 n.e.), nakon čega je sledilo Malo ledeno doba (1550-1850 n.e.) (Holzhauser, 1997; Pfister i sar., 1998), što je uzrokovalo smanjenje maslina pa i u južnim mediteranskim regionima (Ksoplaki i sar., 2001), sa izuzetkom samo nekoliko zaštićenih područja (Toniolo, 1914, Moriondo i sar., 2008). Geografske granice širenja maslina između 30° i 45° N su zbog toga uslovljene klimom

(Morettini, 1972) zbog osetljivosti biljke na niske temperature i ekstremni nedostatak vode (Slika 3).

Zapravo, u Evropi, severna granica u januaru je grubo pokrivena izotermom  $4^{\circ}$  (Pfister i sar., 1998), dok se južna granica preklapa sa predсахarskim područjem (Moriondo i sar., 2008). Danas je većina proizvodnje masline još uvek koncentrisana u mediteranskom basenu (Mattingli, 1996), ali od otkriće Amerike 1492. godine maslinarstvo se proširilo van svojih mediteranskih granica, stiglo je do suvih područja Meksika i kasnije u Peru, Kaliforniju, Čile i Argentinu, gde je jedna od biljki koja je doneta tokom osvajanja, staro maslinovo Arauca drvo i danas živi (Viesman, 2009).



**Slika 3.** Geografska distribucija područja gde se uzgajaju masline  
(<http://www.internationaloliveoil.org/projects/paginas/Section-a.htm>)

Stanovnici Krita tokom minojske civilizacije uzgajali su masline već 2500 p.n.e. Kuhinjski predmeti poput tegli pronađeni u palati Knosos verovatno su bili namenjeni za čuvanje maslinovog ulja. Botaničko poreklo drveća i početak njegovog uzgoja bio je predmet i spora (Anon, 1983; Loukas i Krimbas, 1983; Blazkuez, 1996). Arheolozi veruju da bi transformacija u kultivisano drvo trebalo da bude postavljena u rano bronzano doba. Tokom ovog perioda, bavljenje maslinama se sastojalo od namernog i selektivnog obrezivanja, verovatno je primenjivano za pomlađivanje masline u cilju podsticanja cvetanja i proizvodnje voća. Od 35 poznatih vrsta roda *Olea* onaj koji se smatra pretkom maslinovog ulja je *O. Chrisophilla*, a pronađen je u Aziji i Africi.

Međutim, postoji još jedna teorija prema kojoj je progenitor mediteranska divlja maslina, *Olea oleaster* (Loukas i Krimbas, 1983). Drugi smatraju da je *Olea oleaster* prelaz u razvoju od divljih maslina *Olea chrisophillato* prema *Olea europaea* (Blazkuez, 1996; Lavee, 1996).

Širenje maslina na zapad je zbog Feničana koji su trgovali sa drugim pomorskim centrima. Od šesnaestog vekap.n.e., maslina je počela da stiže do grčkih ostrva i takođe do Libije i Kartagine. Grci su unapredili maslinarstvo i širili ga u svoje kolonije putevima kojima su plovili njihovi moreplovci. Ostrvo Samos nazvano je "Elaeophitos", što znači "zasađeno maslinama". Prvo značajno poboljšanje uzgajanja maslina i bolja organizacija dogodili su se u sedmom veku p.n.e. (Fiorino i Nizzi - Griffi, 1992). Kasnije su Rimljani otkrili masline preko svojih kontakata sa grčkim kolonijama u Italiji. Iako nisu bili ljubitelji maslina i maslinovog ulja, Rimljani su raširili masline kroz svoje ogromno carstvo. Koristili su maslinovo ulje u kupatilu i kao gorivo, ali su za prehrambene svrhe smatrali da je to roba umerenog kvaliteta. Rast Rimske imperije i osvajanje Grčke, Male Azije i Egipta povećali su kanale trgovanja oko Sredozemnog mora, a maslinovo ulje je postalo mnogo važnije, ne samo kao hrana, već i kao farmaceutik i izvor energije (Chazau-Gilling, 1994). Proširenje proizvodnje maslina je trajalo do 5. veka n.e. i ponovo je oživelo kada su pomorski gradovi počeli da rastu. Između dvanaestog i šesnaestog veka n.e., u Italiji je zabeležen impresivan napredak maslinjaka za proizvodnju maslinovog ulja (Fiorino i Nizzi - Griffi, 1992).

## 2.2. Oznake i definicije maslinovih ulja

Maslinovo ulje dobija se iz celog ploda ili komine masline (Boskou, 2009). Svaka zemlja koja uzgaja maslinu ima svoje tipične sorte maslina.

Maslinovo ulje je jedno od najstarijih poznatih biljnih ulja uglavnom proizvedenih u zemljama oko Sredozemnog mora. To je prirodni voćni sok, dobijen iz plodova drveta *Olea europea*, sa jedinstvenom sastavom i kvalitetom (Bartolini i sar., 1998). Maslinovo ulje je jedno od malobrojnih ulja koje se mogu konzumirati u njegovoj prirodnoj formi, čime se čuvaju svi prirodni sastojci. Maslinovo ulje je glavni izvor masnoće u "mediteranskoj ishrani". Postoje i sve više istraživanja koja ukazuju na to da konzumiranje maslinovog ulja umesto drugih masti i ulja može imati blagotvorno dejstvo na ljudsko zdravlje (Beardsell i sar., 2002). Iz tog razloga nastao je popularan "zamah" udaljenja od životinjskih i naročito,

svih lipida sa visokim sadržajem zasićenih masti, prema maslinovom ulju i sličnim uljima koji sadrže više mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina. Delimično zbog ovih otkrića i delimično zbog medijske pažnje koja ih okružuje, potrošnja maslinovog ulja raste po celom svetu.

Devičansko maslinovo ulje (DMU) se dobija mehaničkim ili drugim fizičkim sredstvima pod uslovima, posebno toplotnim, koji ne dovode do promena u sastavu ulja i koje nije podvrgnuto nikakvom tretmanu osim pranja, dekantiranja, centrifugiranja i filtracije. Postoji nekoliko kvaliteta DMU: ekstra devičansko (najviši kvalitet), kao što je prikazano na slici 4. Devičansko, obična devičansko, rafinisano i maslinovo ulje (mešavina rafiniranih i devičanskih maslinovih ulja). Obično se ne dozvoljava stavljati aditive u rafinisano i maslinovo ulje, osim alfalfa-tokoferola do maksimalno 200 mg/kg. Razlike među vrstama maslinovog ulja su u senzorskim karakteristikama, maksimalno dozvoljenoj kiselosti, sastavu sterola i triterpenski dialkohola, sadržaju voskova, peroksidnoj vrednost (peroksidnom broju) i sastavu masnih kiselina (Boskou, 2007).

Hemijski sastav maslinovog ulja sastoji se od glavnih i sporednih komponenti. Gotovo 98% ukupne mase ulja čine glavne komponente koje obuhvataju triacilglicerole dok manje važne komponente, kao što su alifatski i triterpenski alkoholi, steroli, ugljovodonici, isparljiva jedinjenja i antioksidanti, predstavljaju 2% ukupne mase ulja. Osnovni antioksidanti DMU su karotenoidi i fenolna jedinjenja, koja imaju i lipofilna i hidrofilna svojstva. Tokoferoli su poznati kao lipofilni, a fenolni alkoholi i kiseline, hidroksi-izohromanoli, flavonoidi, secoiridoidi i lignani čine hidrofilna jedinjenja (Servili i sar., 2002).

DMU se dobija od plodova maslina isključivo mehaničkim ili drugim fizičkim sredstvima pod uslovima, naročito termičkim uslovima koji ne dovode do promena ulja, a ulje se ne podvrgava bilo kakvom tretiranju osim pranja, dekantacije, centrifugiranja i filtracije. Maslinovo ulje ima nekoliko različitih razreda, određenih sadržajem kiseline. Najcenjenije je ekstra devičansko, koje mora da sadrži 0 do 1 procenat kiselosti. Kada se kiselina penje na između 1 i 2 %, označava se kao devičansko maslinovo ulje, a ulje sa tri % kiselosti se klasifikuje kao "polufino". Nakon polufinog, sledeći nivo je čisto maslinovo ulje. Čisto maslinovo ulje ocenjuje se ne samo po kiselosti već i metodom obrade i mnogo je ispod ekstra devičanskog ili devičanskog po stilu, boji i ukusu Krasnera, (2002).





**Slika 4.** Izgled ekstra devičanskog maslinovog ulja pri proizvodnji

### **2.2.1. Kategorije kvaliteta maslinovog ulja**

Maslinovo ulje je ulje dobijeno isključivo iz plodova maslina (*Olea europaea* L.) i prodaje se u skladu sa sledećim oznakama i definicijama:

#### **2.2.1.1. Devičansko maslinovo ulje (DMU)**

Ulja dobijena od plodova maslina isključivo mehaničkim ili drugim fizičkim sredstvima pod uslovima, posebno toplotnim uslovima, koji ne dovode do promena ulja, i koja nisu prošla bilo kakav tretman osim pranja, dekantacije, centrifugiranja i filtracije.

#### **2.2.1.2. DMU su pogodna za direktnu potrošnju i uključuju sledeće kategorije:**

**Ekstra devičansko maslinovo ulje:** je ulje koje sadrži slobodne masne kiseline, izražene kao oleinska kiselina, ne više od 0,8 grama na 100 grama i ostale karakteristike koje odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju ulja prema standardu.

**Devičansko maslinovo ulje:** je ulje koje sadrži slobodne masne kiseline, izražene kao oleinska kiselina, ne više od 2 grama na 100 grama i ostale karakteristike koje odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju ulja prema standardu.

**Obično devičansko maslinovo ulje:** je ulje koje sadrži slobodne masne kiseline, izražene kao oleinska kiselina, ne više od 3,3 grama na 100 grama i ostale karakteristike koje odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju ulja prema standardu.

#### **2.2.1.3. DMU koje nije za potrošnju:**

Devičansko maslinovo ulje koje ima slobodne masne kiseline, izražene kao oleinska kiselina, više od 3,3 grama na 100 grama i/ili senzorske i druge karakteristike koje ne odgovaraju onima utvrđenim po standardu. Namijenjeno je za preradu ili za tehničku upotrebu.

#### **2.2.1.4. Rafinisano maslinovo ulje:**

Maslinovo ulje dobijeno od devičanskih maslinovih ulja metodom rafinacije (prečišćavanja) koja ne dovodi do izmena u inicijalnoj triacilgliceridnoj strukturi. Ima kiselost, izraženu kao oleinska kiselina, ne više od 0,3 grama na 100 grama, a ostale karakteristike odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju po standardu.

#### **2.2.1.5. Maslinovo ulje:**

Ulje koje se sastoji od mešavine rafinisanog maslinovog ulja i devičanskih maslinovih ulja pogodnih za konzumiranje kakva jesu. Ima kiselost, izraženu kao oleinska kiselina, propisanu za ovu kategoriju po standardu.

#### **2.2.1. 6. Ulje od komine masline:**

Ulje dobijeno tretiranjem komine masline sa rastvaračima ili drugim fizičkim tretmanima, uz isključivanje ulja dobijenih postupcima re-esterifikacije i bilo koje mešavine sa uljima drugih vrsta. Prodaje se u skladu sa sledećim oznakama i definicijama:

##### **2.2.1.6.1. Maslinovo ulje od sirove komine:**

Maslinovo ulje čija karakteristika odgovara onima utvrđenim za ovu kategoriju po standardu. Namijenjeno je za rafinaciju radi upotrebe za ljudsku potrošnju ili je namenjeno za tehničku upotrebu.

#### 2.2.1.6.2. Rafinisano ulje od komine masline:

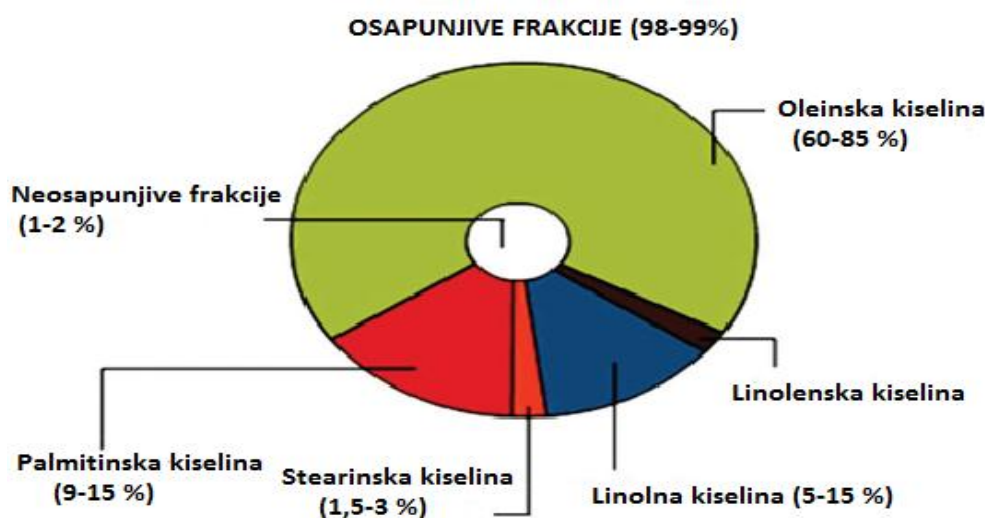
Ulje dobijeno od sirovog ulja komine masline metodom rafinacije koja ne dovodi do promena početne strukture. Ima kiselost, izraženu kao oleinska kiselina, ne više od 0,3 grama na 100 grama i njegove druge karakteristike odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju po standardu.

#### 2.2.1.6.3. Ulje od komine masline:

Ulje koje se sastoji od mešavine rafinisanog ulja od komine i devičanskih maslinovih ulja pogodnih za potrošnju kakve jesu. Ima slobodne masne kiseline ne više od 1 grama na 100 grama, a ostale karakteristike odgovaraju onima utvrđenim za ovu kategoriju po standardu (IOC, 2003).

### 2.2.2. Sastav maslinovog ulja

Maslinovo ulje se uglavnom sastoji od triglicerida ili triacilglicerola (TAG) i malih količina slobodnih masnih kiselina (SMK), glicerola, fosfatida, pigmenata, aromatičnih jedinjenja, sterola, neidentifikovanih supstanci i drugih sastojaka. Svi sastojci maslinovog ulja mogu se podeliti u dve frakcije: frakcija koja se može saponifikovati i koja uključuje TAG, SMK, fosfatide i neosapunjiva frakcija, koja uključuje ugljovodonike, masne alkohole i sterole. U devičanskom maslinovom ulju neosapunjiva frakcija čini od 0,5 do 1,5% ulja, dok se u uljima od maslinove komine nivo povećava na 2,5% (IOOC, 2003), kao što je prikazano na slici 5.



**Slika 5.** Hemijski sastav nesaponizirajućih i saponizirajućih frakcija maslinovog ulja (Andrikopoulos i sar., 2001)

Hemijski sastav maslinovog ulja sastoji se od TAG i slobodnih masnih kiselina, mono i diacilglicerola i jedinjenja kao što su ugljovodonici, steroli, alifatski alkoholi, tokoferoli, pigmenti i dr. U sastav masnih kiselina maslinovog ulja ulaze palmitinska (C16:0), palmitoleinska (C16:1), stearinska (C18:0), oleinska (C18:1), linolna (C18:2) i alfa-linolenska (C18:3) kiselina (Boskou i sar., 2006). Fenolna jedinjenja su manje prisutna jedinjenja u maslinovim uljima, međutim, ona imaju visoku antioksidativnu aktivnost koja obezbeđuje nutritivne i senzorske osobine. Karotenoidi pokazuju antioksidativni efekat u devičanskim maslinovim uljima hvatanjem singlet kiseonika inhibirajući fotosenzitizovanu oksidaciju (Koseoglu i sar., 2016).

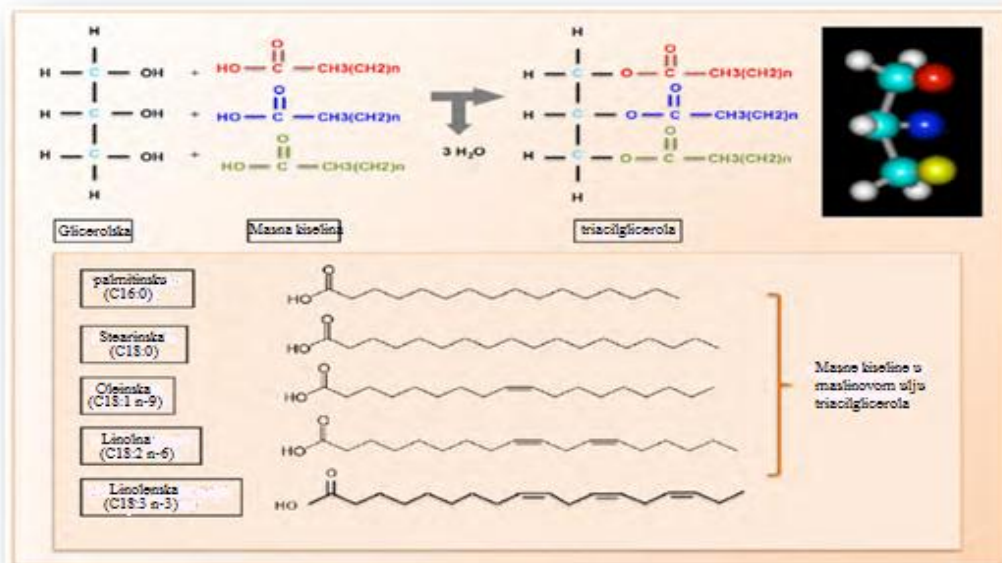
### **2.2.2.1. Osapunjive frakcije**

Osapunjiva frakcija maslinovog ulja (98% do 99% ukupne mase), sastoji se od supstanci sposobnih da formiraju sapune pri određenim uslovima. Ova frakcija uključuje slobodne masne kiseline ili esterifikovane masne kiseline sa glicerolom u obliku triglicerida, diglicerida i monoglicerida, koji sadrže od 75% do 85% nezasićenih masnih kiselina (uglavnom oleinske i linolne kiseline) i 15% do 25% zasićenih masnih kiselina (palmitinske i stearinske kiseline) (Andrikopoulos i sar., 2001).

#### **2.2.2.1.1. Triacilgliceroli**

Maslinovo ulje se uglavnom sastoji od triacilglicerola (TAG) (> 95%), mono i diacilglicerola sa manjim sadržajem (1 - 3%) i slobodnim masnim kiselinama (0,5 - 3%). Sadržaj SMK u različitim vrstama ulja regulisan je u mnogim zemljama, a međunarodne organizacije pružaju standarde kvaliteta (Boskou, 2007).

TAG maslinovog ulja sastoje se od tri masne kiseline povezane sa glicerolom (slika 6) kao i kod drugih uobičajenih biljnih ulja. Tehnički posmatrano, to je vrsta glicerolipida. Za kvalitetno ulje, tri masne kiseline treba da su vezane i ostati kao TAG. Glicerolska jedinica može imati tri bilo koje od nekoliko masnih kiselina koje se vezuju da formiraju TAG. Lanci ugljenika mogu biti različitih dužina, a masne kiseline mogu biti zasićene, mononezasićene ili polinezasićene. Glavni triacilgliceroli maslinovih ulja su oleinska-oleinska-oleinska, palmitoleinska-oleinska, oleinska-oleinska-linolna i palmitinska-oleinska-linolna (Ranalli i sar., 2003).



**Slika 6.** Molekula triacilglicerola (iz maslinovog ulja) sa tri različite masne kiseline (Mailer, 2006)

#### 2.2.2.1.2. Sastav masnih kiselina

Mediteranska ishrana, u kojoj je maslinovo ulje glavni izvor masti, povezuje sa smanjenjem ukupne i kardiovaskularne bolesti. Ishrane bogate mononezasićenim masnim kiselinama (MUFA) koriste se za upravljanje rizikom od kardiovaskularnih bolesti, pod uslovom da ne prelaze preporuku za zasićene masne kiseline (SFA) i kompromituju kontrolu telesne mase. Sa druge strane, dijete bogate maslinovim uljem pokazale su smanjenje lipoproteina niske gustine (LDL). Maslinovo ulje je bogato MUFA i antioksidantnim jedinjenjima (Fito i sar., 2005).

Masne kiseline prisutne u maslinovom ulju uključuju palmitinsku (C16:0), palmitoleinsku (C16:1), stearinsku (C18:0), oleinsku (C18:1), linolnu (C18:2) i linolensku (C18:3). Miristinska (C14:0), margarinska (C17:0) i gadoleinska (C20:1) kiselina se nalaze u tragovima (Tabela 2).

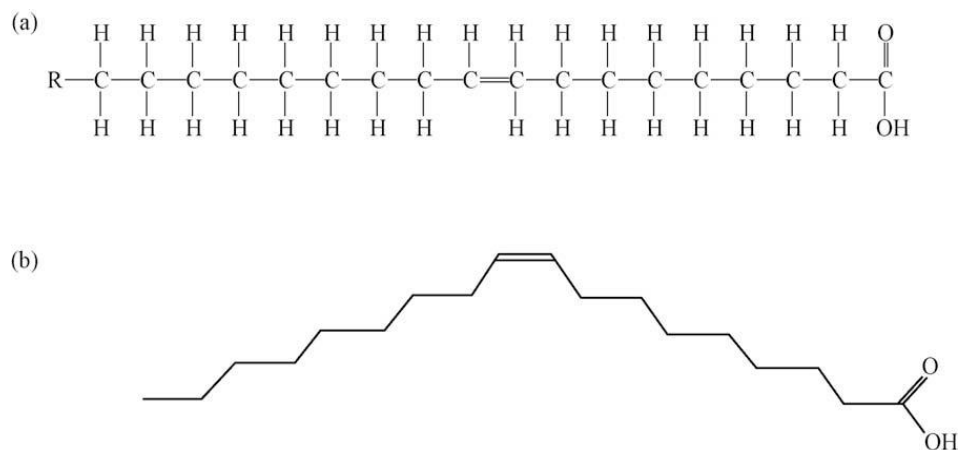
Skoro sve sorte maslinovog ulja imaju C16:0, C18:0, C18:1 i C18:2 kao glavne komponente; C16:1, C18:3 i C20:0 su prisutne u malim količinama, dok su C22:0, C20:1 i C24:0 na nivou često manjim od 0,2%. Glavna komponenta je uvek oleinska kiselina, koja doprinosi oko 55-75% ukupnih masnih kiselina.

**Tabela 2.** Sastav masnih kiselina maslinovog ulja (IOOC, 2011)

Masna kiselina	Sadržaj (% m/m)
Miristinska	< 0,05
Palmitinska	7,5–20,0
Palmitoleinska	0,3–3,5
Heptadekanska	< 0,3
Stearinska	0,5–5,0
Oleinska	55,0–83,0
Linolna	3,5–21,0
Linolenska	< 1,0
Arahidonska	< 0,6
Gadoleinska	< 0,4
Behenska	< 0,2
Lignocerinska	< 0,2

Neki parametri, kao što su područje proizvodnje, geografska širina, klima, sorta i faza zrelosti plodova, značajno utiču na sastav masnih kiselina maslinovog ulja. Na primer, sorte maslinovog ulja iz Grčke, Italije i Španije imaju niske nivoe linolne i palmitinske kiseline, ali imaju visok procenat oleinske kiseline, dok je tunisko maslinovo ulje bogato u linolnom i palmitinskom kiselinom, a ima nešto niži sadržaj u oleinske kiseline (Boskou, 2006). Maslinovo ulje sadrži visok procenat mononezasićenih masnih kiselina. Najčešći procentni udeo po tipu masne kiseline predstavlja: zasićene masne kiseline (14%), mononezasićene masne kiseline (72%) i polinezasićene masne kiseline (14%).

Hemijski posmatrajući masna kiselina je karboksilna kiselina, najčešće sa karboksilnom grupom na jednom kraju i sa dugim nerazgranatim alifatskim lancem, koji je ili zasićen ili nezasićen. Već je pomenuto da se većina masnih kiselina maslinovog ulja javljaju kao triacilgliceroli, ali TAG jedinica može izgubiti jednu masnu kiselinu kako bi postala diacilglicerol (DAG) sa dve masne kiseline ili da postane monoacilglicerol (MAG) sa jednom masnom kiselinom. Glavna masna kiselina koja predstavlja triacilglicerole u maslinovom ulju je oleinska (C18:1) (C17H33COOH ili CH<sub>3</sub> (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub> CH = CH (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub> COOH) (Slika 7).



**Slika 7.** Struktura oleinske masne kiseline, 18:1 n-9, (a) strukturna formula, (b) šematski prikaz (Quiles i sar., 2003)

DMU se sastoji od mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) (uglavnom oleinske kiseline i palmitooleinske kiseline) (73,8-78,5%), polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) (linolne i linolenske kiseline) (5-10%), zasićenih masnih kiselina (SFA) (palmitinska kiselina, stearinska kiselina, arahidonska kiselina, miristinska kiselina) (Ivonne i sar., 2004).

Masne kiseline u kojima se prva nezasićena dvostruka veza nalazi iza trećeg ili šestog ugljenikovog atoma od terminalnog metil kraja se nazivaju omega-3 (n-3) i omega-6 (n-6) masne kiseline, respektivno. Maslinovo ulje sadrži i omega-3 i omega-6 masne kiseline. Linolenska kiselina (C18:3) i linolna (C18:2) masna kiselina su uobičajene omega-3 i omega-6 masne kiseline u maslinovim uljima (Kuiles i sar., 2003).

Maslinovo ulje poseduje poseban masnokiselinski sastav, posebno obogaćeno mononezasićenom oleinskom masnom kiselinom čiji sadržaj postići procentualno do 75-80% ukupnih masnih kiselina, dok linolna palmitinska, stearinska i alfa linolenska kiselina predstavljaju procentualno manje komponente. Konačni kiselinski sastav maslinovog ulja enormno varira među sortama. Ekološki faktori, kao što su temperatura i svetlost tokom zrenja plodova, mogu jako uticati na ravnotežu između zasićenih i nezasićenih masnih kiselina (Beltran i sar., 2004; Khaleghi i sar., 2015).

### 2.2.2.1.3. Fosfolipidi

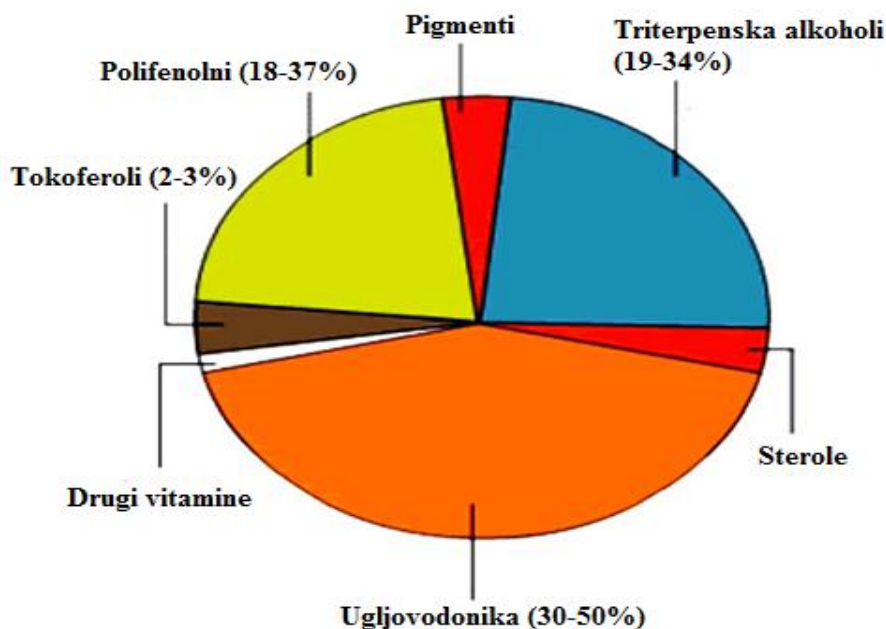
Sadržaj fosfolipida u maslinovom ulju su prilično ograničeni. Kao fosfatidilholin, fosfatidiletanolamin, fosfatitalinozitol i fosfatidilserin su glavni fosfolipidi prisutni u maslinovom ulju (Alter i Gutfinger, 1982). Boukhchina i sar. (2004) identifikovali su glicerofosfolipide prisutne u maslinovom ulju gasno-hromatografskom masenom spektrometrijom (GC-MS). Uzorak se direktno unosio u maseni spektrometar kroz elektrolitski kapilar, dok su informacije o sastavu masnih kiselina svake fosfolipidne klase dobile preko masenih spektara dobijenih za negativno naelektrisane lipide. Fosfatidiletanolamin, fosfatidilholin, fosfatidilinositol, fosfatidna kiselina, kao i fosfatidil-glicerol su identifikovani i kvantifikovani fosfolipidi. Fosfatidilserin nije detektovan. Međutim, studija je zasnovana samo na jednom uzorku ulja sa maloprodajnog tržišta. Nivo fosfolipida može biti važan jer ova jedinjenja imaju antioksidantnu aktivnost. Prema tvrdnji Pokorni i Korczak (2001), ovi fosfolipidi mogu delovati kao sinergisti (regeneracija antioksidanata kao što je alfa-tokoferol ili drugi fenoli) ili kao inaktivatori metala. Međutim, na visokim temperaturama, fosfolipidi mogu prouzrokovati pojavu pene ili promenu boje (zatamnjenje), npr. tokom procesa prženja. Mogući doprinos fosfolipida oksidativnoj stabilnosti maslinovog ulja nije potpuno razjašnjen. Koidis i Boskou (neobjavljeni podaci) određivali su sadržaj fosfora u zamućenim maslinovim uljima, filtriranim i rafiniranim uljima. Dobijene vrednosti su bile u opsegu od 1-6 mg P/kg ulja (n = 26), što odgovara približno 20-156 mg fosfolipida/kg ulja. Veći nivo fosfolipida u nefiltriranim uljima može biti dodatni antioksidativni faktor za fenole. Ova zamućena ulja su bila stabilnija na oksidaciju i to se pripisalo višim nivoima polarnih fenola (Tsimidou i sar., 2004).

### 2.2.2.2. Neosapunjiva frakcija

Neosapunjive frakcije maslinovog ulja (1-2%) su formirane od strane mikrokomponentata koje ne mogu obrazovati sapune pri uobičajenim uslovima alkalne saponifikacije. Iako su prisutne u malim količinama, ova frakcija je veoma važna sa nutritivne i analitičke tačke gledišta, kako bi se proverila autentičnost ulja i njegova stabilnost. Neosapunjiva frakcija sadrži uglavnom sterole, vitamine rastvorljive u mastima, voskove, alifatske alkohole, aromatična jedinjenja i antioksidante (slika 8) (Andrikopoulos i sar., 2001; Cardeno i sar., 2014; Orozco i sar., 2011). Prirodno maslinovo ulje mora sadržati najmanje



1,5% (15g/kg ulja) neosapunjive materije; maslinovo ulje od komine može sadržati do 30g/kg ukupne neosapunjive materije (IOOC, 2003).



**Slika 8.** Hemjski sastav neosapunjivih frakcija maslinovog ulja (Andrikopoulos i sar., 2001)

Neosapunjiva frakcija nije relevantna samo sa senzorskog aspekta ulja, već i u pogledu kvaliteta DMU. Jedinjenja kao što su triterpeni i fitosteroli korišćena su kao parametar čistoće da bi se otkrile prevare gde se koristilo maslinovo ulje od komine ili ulje lešnika (De Medina i sar., 2013).

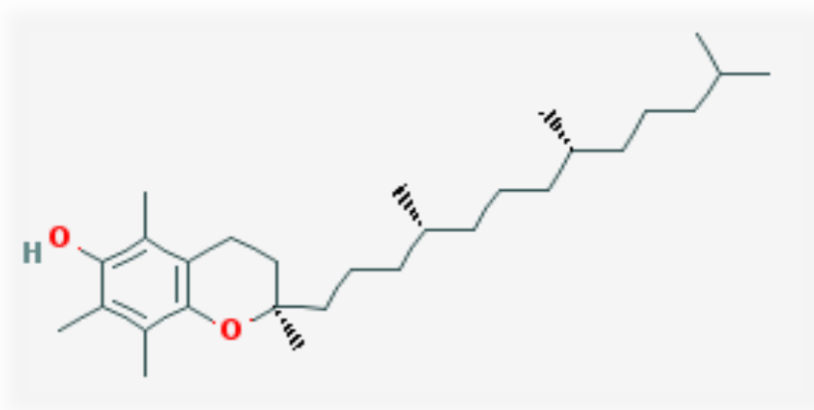
#### 2.2.2.2.1 Tokoferoli i tokotrienoli

Tokoferoli i tokotrienoli, koji pripadaju lipofilnoj grupi, su derivati 2-metil-6-hromanola sa bočnim lancem tri terpenke jedinice pričvršćene na C2 atomu. Odlikuju ih bočni lanci. Terpenoidni bočni lanac se javlja u zasićenom obliku u tokoferolima i u nezasićenom obliku u tokotrienolima, sa dvostrukim vezama u položajima 3', 7' i 11'. Tokoferoli i tokotrienoli se dalje klasifikuju u pojedinačna jedinjenja označena grčkim prefiksima  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  u zavisnosti od broja i položaja metil supstitucije na hromanolnom prstenu (Gregori, 1996).

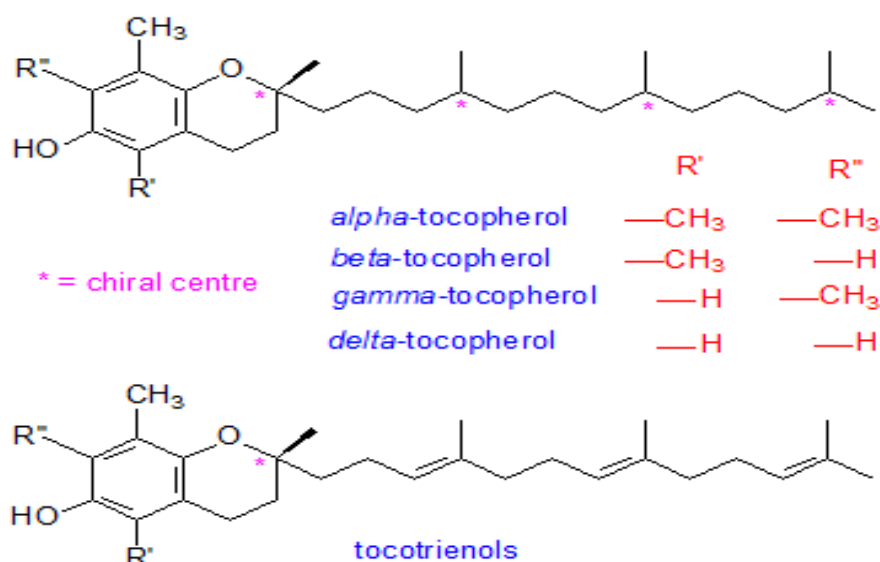
U tokoferolima maslinovog ulja, kao i tokotrienolima, analozi se javljaju u četiri različite forme:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$ , u zavisnosti od broja i položaja metil grupe; konfiguracija na tri

hiralna centra, 2', 4' i 8', je R. Sva ta jedinjenja i diastereomeri imaju vitaminsku aktivnost, kao što je prikazano na slici 9, koja ima najvišu aktivnost. Ukupni tokoferoli u maslinovom ulju su uglavnom predstavljeni  $\alpha$ -tokoferolom, sa oko 90% ukupnih tokoferola, i malim količinama  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferola. Koncentracija tokoferola u ulju se kreće između 23 i 751 mg/kg (Servili, 2014).

Vitamin E je opšti izraz koji se koristi za označavanje tokoferola i tokotrienola, uključujući vrste  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$  (slika 10). Struktura tokotrienola se razlikuje od tokoferola prisustvom tri *trans* dvojne veze u ugljovodoničnom bočnom lancu, ali obe serije sadrže polarni hromanolni prsten povezan sa izoprenoidnim derivatom ugljovodonika. Tokotrienoli nisu prisutni u devičanskom maslinovom ulju, dok su samo prva tri tokoferola kvantifikovani u procentima koji variraju od 52-87% za  $\alpha$ -tokoferol do 15-20% i 7-23% za  $\beta$ - i  $\gamma$ -tokoferole.



**Slika 9.** Hemijska struktura  $\alpha$ -tokoferola (Servili, 2014)



**Slika10.** Hemijske strukture tokoferola i tokotrienola

([http://wps.aw.com/bc\\_thompson\\_son\\_2/134/34392/8804426.cw/index.html](http://wps.aw.com/bc_thompson_son_2/134/34392/8804426.cw/index.html), 2015)

Tokoferoli doprinose antioksidativnim osobinama devičanskog maslinovog ulja, a njihov profil i sastav često predstavljaju kriterij čistoće (Saiago i sar., 2007).

Studije su pokazale da su  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol četiri izomera tokoferola, poznatog i kao vitamin E, koji su prisutni u maslinovim uljima. Oni se javljaju u opsegu od 12-150 mg/kg u većini devičanskih maslinovih ulja, pri čemu  $\alpha$ -izomer čini oko 90% ukupnih tokoferola, dok neke studije izveštavaju o stopi od čak 95% u uljima iz tradicionalnih područja za maslinarstvo kao što su Španija, Grčka i Portugalija (Psomiadou i sar., 2003; Cunha i sar., 2006).

Proizvodnja devičanskog maslinovog ulja se povećala u posljednje dve decenije u celom svetu. Podaci ukazuju na nivoe tokoferola ( $\geq 250$  mg  $\alpha$ -tokoferol/kg) kod visoko kvalitetnih devičanskih maslinovih ulja analiziranih odmah nakon proizvodnje i čak na neuobičajeno više nivoe ( $>350$  mg/kg) u određenim monovarietalnim proizvodima dobijenim od zdravih maslina iz različitih sorti ili regiona u uslovima laboratorijske ekstrakcije. Niži nivoi se očekuju u komercijalnim uzorcima ili u domaćoj pripremi ulja (Psomiadou i sar., 2000). Tri druga vitamera,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferoli su prisutni u neznatnim količinama (manje od 5% tokoferolne frakcije). Stoga je interesovanje za analizu tokoferola u maslinovom ulju fokusirano na određivanje  $\alpha$ -izomera, osim ako je cilj određivanje autentičnosti (Dionisi i sar., 1995; Tsimidou, 2010).

#### 2.2.2.2.2. Pigmenti

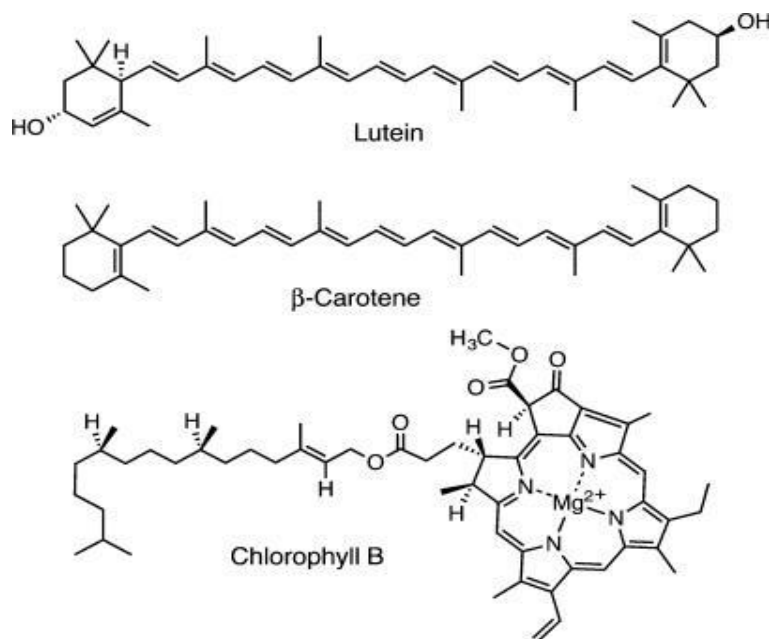
Pigmenti otkriveni u DMU su hlorofili a i b, lutein,  $\beta$ -karoten, kao što je prikazano na slici 11, violaksantin, neoksantin, anteraksantin i  $\beta$ -kriptoksantin. Svi oni dolaze iz svežeg ploda, zajedno sa onima formiranim tokom procesa ekstrakcije, feofitini  $\alpha$  i  $\beta$ , luteoksantin, auroksantin, neohrom i mutatoksanin. U proseku, svega oko 20% hlorofila i oko 50% karotenoida prisutnih u maslinovim plodovima prenose se u DMU. Nedavne studije ističu da većina pigmenata (60% za hlorofile i 25% za karotenoide) ostaje u pulpi masline (Gallardo-Guerrero i sar., 2002).

Boja ploda masline potiče od hlorofila i karotenoida, iako je prisutan i visok sadržaj polifenola. Boja plodova se menja od intenzivno zelene do žuto-zelene tokom sazrevanja i konačno, ljubičasto, a zatim crno, dok plod postaje potpuno zreo. Antocijani su glavna jedinjenja odgovorna za boju u fazama ljubičastog i crnog zrenja maslina; međutim, hlorofili i karotenoidi su i dalje prisutni (Fernandez-Orozco i sar., 2011).

Boja DMU je rezultat zelenih i žutih nijansi zbog prisustva hlorofila i karotenoida. Na nju utiču sorta masline, indeks sazrevanja, proizvodna zona, sistem ekstrakcije i uslovi skladištenja. Stoga se smatra indeksom kvaliteta, iako ne postoji standardizovana metoda za merenje boje. Zbog toga je važno povećati broj studija koje istražuju sastav pigmenata u različitim sortama devičanskih maslinovih ulja proizvedenih od maslina različitih sorti i koje rastu u različitim geografskim područjima.

Hlorofili i karotenoidi su vrlo uobičajeni pigmenti, koji daju boju povrću i nekih voća, gde igraju ključne uloge u fotosintezi. Ni hlorofili ni karotenoidi se ne mogu sintetisati u životinjskim tkivima, mada ih ćelije životinja mogu hemijski modifikovati za asimilaciju. Prema tome, ovi molekuli se moraju dobiti iz hrane (Giuffrida i sar., 2011).

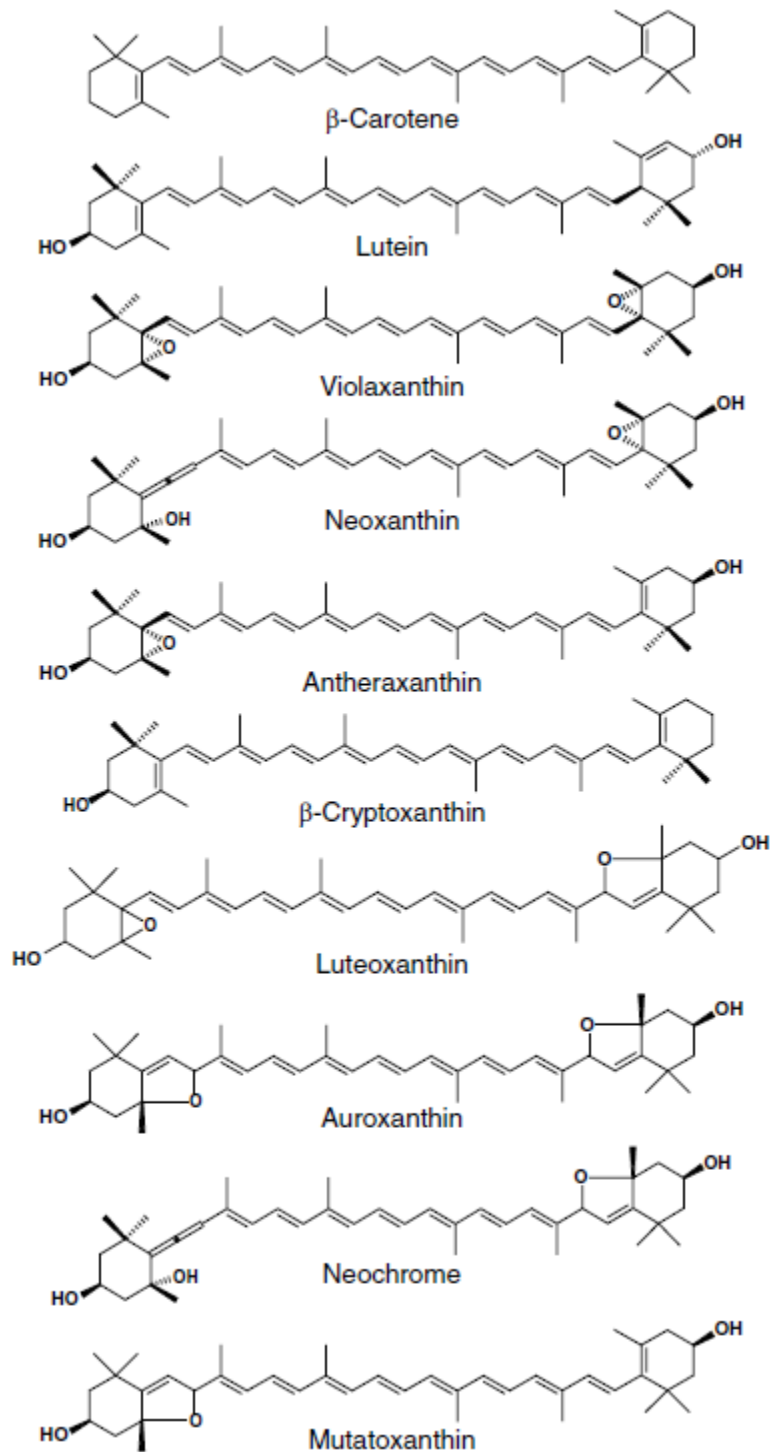
Hlorofil i karotenoidni pigmenti su odgovorni za boju DMU, u rasponu od žuto-zelene do zelenkasto zlatne boje. Hlorofilni pigmenti su odgovorni za zelenkaste nijanse DMU, a feofitin je glavno jedinjenje. Glavni žuti pigmenti su karotenoidi, lutein i  $\beta$ -karoten. Količina pigmenata u velikoj meri zavisi od sorte, sazrevanja maslina i sistema za obradu maslinovog ulja i uslova skladištenja. Ova jedinjenja takođe igraju važnu ulogu u očuvanju zdravlja konzumenta, identifikaciji, kao i oksidativnoj stabilnosti (delujući kao antioksidanti u mraku i prooksidanti na svetlosti). Karotenoidi su pigmenti sa strukturom tetraterpenoida, a njihova koncentracija obično ne prelazi 10 mg/kg ulja (Boskou, 2002; Khaleghi i sar., 2015).



**Slika 11.** Najzastupljeniji pigmenti u maslinovom ulju (Blatchly i sar., 2014)

Karotenoidi i hlorofili su veoma uobičajeni pigmenti u biljnom carstvu, koji igraju ključnu ulogu u fotosintetičkom procesu. Kako se povećava zrelost ploda, nivoi oba hlorofila i karotenoida se smanjuju progresivno (Criado i sar., 2004).

Karotenoidi se karakterišu dugim ugljovodoničnim lancem. Prema prisustvu ili odsustvu kiseonika u lancu, karotenoidi su podeljeni u dve klase: ksantofili (kiseonik u ugljovodoničnom lancu) i karoteni, koji su čisti ugljovodonici. Glavni karotenoidi prisutni u maslinovom ulju su lutein i  $\beta$ -karoten (Minguez-Mosquera i sar., 1990; Ranalli, 1992; Rahmani i Csallani, 1991; Gandul-Rojas i Minguez-Mosquera, 1996). Prisustvo karotenoida u maslinovom ulju tesno je povezano sa zelenim pigmentima i pod uticajem je istih faktora. Karotenoidna frakcija može takođe sadržati i nekoliko ksantofila (violaksantin, neoksantin, luteoksantin, anteraksantin, mutatoksanin i  $\beta$ -kriptoksanin) (Slika 12). Odnos između dva glavna karotenoida je verovatno zavisano od sorte (Gandul-Rojas i Minguez-Mosquera, 1996; Psomiadou i Tsimidou, 2001).

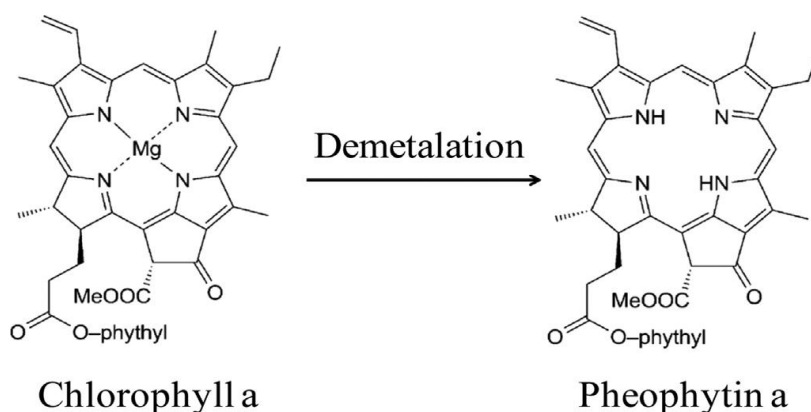


**Slika 12.** Strukture ksantofila prisutnih u maslinovom ulju (Aparicio i Harwood, 2013)

Prema Mercadante i sar. (2004) karotenoidi su podjeljeni u dve glavne grupe: karotene, koji, strogo gledano, predstavljaju ugljovodonike, i ksantofile, izvedene iz karotena i koje sadrže oksigenovane funkcije. Ksantofili se mogu naći esterifikovani i sa masnim kiselinama.

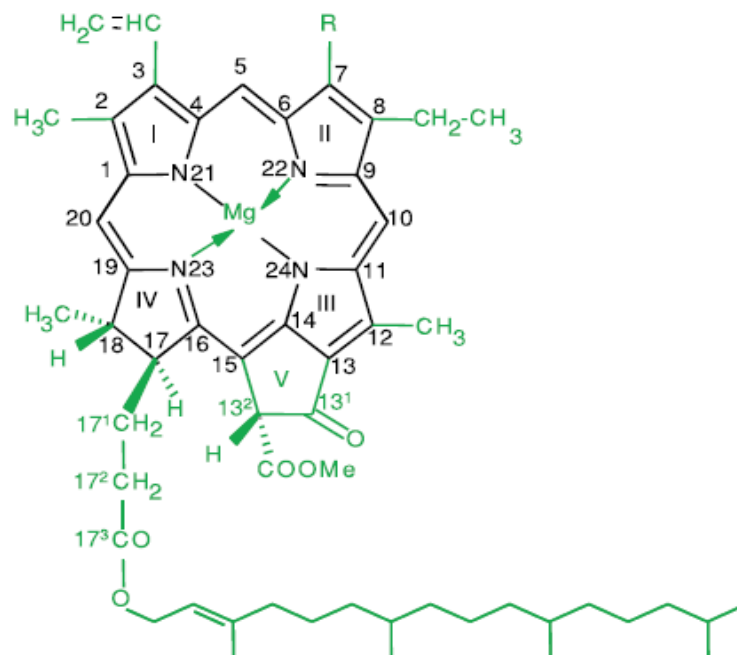
Karotenoidi mogu imati acikličnu strukturu, ili sadrže prsten od pet ili šest ugljenika na jednom ili oba kraja.

Najvažniji hlorofilni pigmenti su hlorofil a i b, koji se razlikuju u jednom od bočnih lanaca (hlorofil b ima aldehidnu grupu). Na slici 13 je prikazana struktura hlorofila a. Tokom proizvodnje maslinovog ulja hlorofil je sa magnezijumskim jonom u centru prstena, međutim mogu da se transformišu u njihove derivate bez magnezijuma. Oni su kvantifikovani u maslinovom ulju u koncentracijama između 10 mg/kg i 30 mg/kg (Boskou, 2002).



**Slika 13.** Demetalizacija molekula hlorofila (feofitinizacija) (Mercadante i sar., 2004)

Proces ekstrakcije prouzrokuje gubitke pigmenata iz ulja, uglavnom hlorofila, zahvaljujući strukturalnoj transformaciji pigmenata uzrokovanih oslobađanjem kiselina, odnosno transformacijom hlorofila u feofitine uklanjanjem  $Mg^{2+}$  jona. Hlorofilski pigmenti su odgovorni za zelenkaste boje devičanskog maslinovog ulja (Giuffrida i sar., 2011). Hlorofil a, zeleno-plave boje, formira feofitin sive boje, a u slučaju hlorofila b, njegova zeleno-žuta boja postaje braon i naziva se feofitin b, kao što je prikazano na slici 14. Ponovno uvođenje  $Mg^{2+}$  jona u tetra-pirolski prsten je teška reakcija; međutim, drugi dvovalentni metali kao što su Zn i Cu se lakše ubacuju, obnavljaju zelenu boju i daju veću stabilnost.



**Slika 14.** Strukture porfina (*crno*) i hlorofila (*zeleno*), R=CH<sub>3</sub> za hlorofil *a* i R=CHO za hlorofil *b* (Aparicio i Harwood, 2013)

Hlorofil i karotenoidi igraju važnu ulogu u oksidativnoj stabilnosti prehrambenih proizvoda, zbog njihove antioksidativne prirode u tami i prooksidantnoj aktivnosti na svetlosti (Fakourelis i sar., 1987). Zelene boje plodova masline i maslinova ulja obezbeđuju hlorofili i jedan je od parametara kvaliteta za maslinova ulja (Giuliani i sar., 2011; Tekaija i sar., 2016). Štaviše, karotenoidi, zajedno sa polifenolima i tokoferolima, obezbeđuju oksidativnu stabilnost maslinovim uljima i imaju sinergističku antioksidativnu i antikancerogenu aktivnost pri fiziološkoj koncentraciji (Giuffrida i sar., 2011).

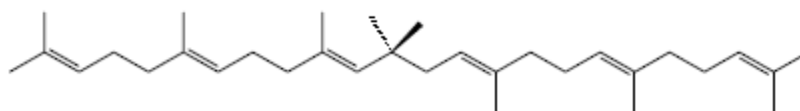
Glavni "žuti" pigmenti DMU su lutein i beta-karoten. Kombinacija hlorofila i karotenoida značajno utiče na boju maslinovog ulja (Moiano i sar., 2008).

#### 2.2.2.2.3. Ugljovodonici

Dva ugljovodonika su prisutna u značajnim količinama u maslinovom ulju, a to su skvalen i steroli. Kao što je prikazano na slici 15 skvalen (2,6,10,15,19,23-heksametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexsaene) je poslednji metabolit koji prethodi formiranju sterolnih prstena. Njegovo prisustvo se smatra delimično odgovornim za korisne efekte maslinovog ulja na zdravlje i njegovo preventivno dejstvo protiv određenih karcinoma (Rao i sar., 1998;



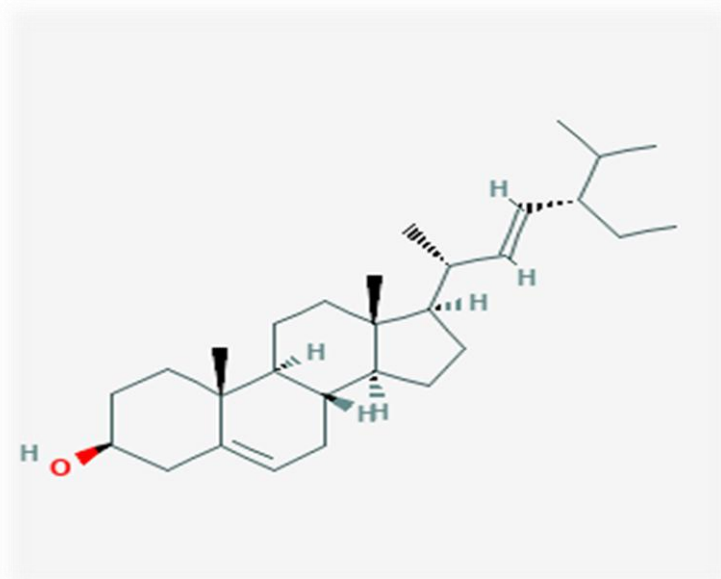
Smith i sar., 1998). To je glavni sastavni deo neosapunjivih materija (Lanzon i sar., 1994). Njegov sadržaj se kreće od 200 do 7500 mg/kg ulja (Perrin, 1992) i čini više od 90% frakcije ugljovodonika (Perrin, 1992). Takođe su objavljeni i viši nivoi čak do 12 000 mg/kg (Lanzon i sar., 1994). Sadržaj skvalena zavisi od sorte masline (De Leonardis i sar., 1998; Manzi i sar., 1998), tehnologije za izdvajanje ulja (Nergiz i Unal, 1990) i dramatično se smanjuje tokom procesa rafinisanja (Mariani i sar., 1992; Lanzon i sar., 1994). Varijacije u prijavljenim nivoima delimično su posledica različitih analitičkih procedura korišćenih, kao što su komentarisali Nenadis i Tsimidou (2002.) Osim skvalena, frakcija ugljovodonika devičanskog maslinovog ulja sastoji se od diterpena i triterpenskih ugljovodonika, izoprenoidnih poliolefina i n-parafina (Lanzon i sar., 1994).



**Slika15.** Deo hemijske strukture skvalena (Tsimidou, 2010)

#### 2.2.2.2.4. Steroli

Steroli su važni lipidni sastojci vezani za kvalitet ulja i široko se koriste za proveru autentičnosti. Četiri klase sterola se javljaju u maslinovom ulju: obični steroli (4-desmetilsteroli),  $4\alpha$ -metilsteroli, triterpenski alkoholi (4,4-dimetilsteroli) i triterpenski dialkoholi. Maslinovo ulje sadrži obične sterole uglavnom u slobodnom i esterifikovanom obliku (Grob i sar., 1990). Međutim, ovi steroli su takođe pronađeni kao sterilglukozidi i lipoproteini (Homberg i Bielefeld, 1985). Glavne komponente ove frakcije sterola su  $\beta$  sitosterol,  $\Delta^5$ -avenasterol i kampesterol (Itoh i sar., 1973a, Boskou i Morton, 1975, Kornfeldt, 1981). Ostali steroli prisutni u manjim količinama ili u tragovima su stigmasterol, holesterol, brassicasterol, ergosterol, sitostanol, kampestanol,  $\Delta^7$ -avenasterol,  $\Delta^7$ -holestenol,  $\Delta^7$ -kampestenol,  $\Delta^7$ -stigmastenol,  $\Delta^5,23$ -stigmastadienol,  $\Delta^5,24$ -stigmastadienol, 7,22-ergostadienol, 7,24-ergostadienol, 24-metilen-holesterol i 22,23-dihidrobrassicasterol (Itoh i sar., 1981; Calapa i sar., 1993; Mariani i sar., 1995; Mariani, 1998). Strukturna formula sterola je prikazana na slici 16.



**Slika16.** Hemijska struktura sterola (www.oliveoilsource.com)

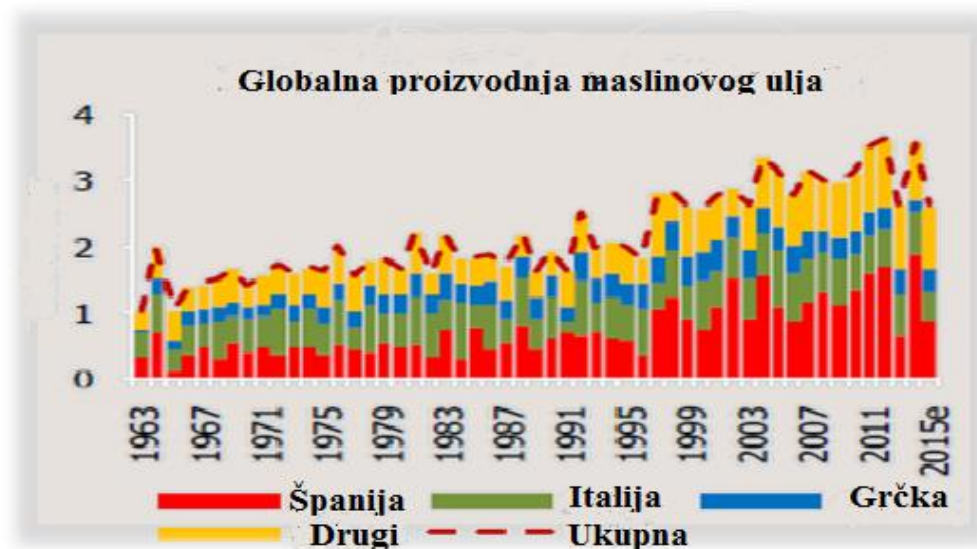
Ukupan sadržaj sterola u DMU varira uglavnom između 1000 mg/kg, što je donja granica koju je odredila Komisija Evropske Unije (Uredba EC 2568, 1991) i 2000 mg/kg (Morchio i sar., 1987; Aparicio i Luna, 2002). Lampante maslinova ulja sadrže veće količine ukupnih sterola (Morchio i sar., 1987; Grob i sar., 1990). Rafinisana maslinova ulja sadrže ukupne sterole na nižim nivoima jer proces rafinisanja dovodi do značajnih gubitaka sterola, koji mogu biti čak i do 25%. Sadržaj celokupnog sterola u maslinovim uljima ekstrahovanim sa rastvaračima je do tri puta veći nego kod devičanskih maslinovih ulja (Morchio i sar., 1987).

### 2.3. Globalna proizvodnja maslinovog ulja

S obzirom na svetsku proizvodnju svih biljnih ulja u periodu 2008/2009, maslinovo ulje zauzima deveto mesto među njima (Gunstone, 2011). Zapravo, proizvodnja maslinovog ulja danas predstavlja manje od 3% ukupne količine proizvedenih biljnih ulja, prema podacima Ministarstva poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država (USDA, 2012). Prema statističkim podacima koje je objavio Međunarodni savet za masline (MSM) (statistički rezultati MSM o proizvodnji maslinovog ulja u 2011. godini), procenjena proizvodnja maslinova ulja za žetvu 2010/2011.

god. u celom svetu je iznosila oko 3 miliona tona, od kojih je oko 2 miliona tona proizvedeno u Evropskoj uniji (EU). Španija je lider u proizvodnji, sa 64% od ukupne EU proizvodnje (oko 1,4 miliona tona). Italija ima proizvodnju blizu 440 hiljada tona (20% EU). Posle njih, Grčka proizvodi 15% EU proizvodnje (300 hiljada tona). Među novim proizvodnim područjima interesantan je i porast u australijskoj proizvodnji maslinova ulja (u 2010./2011.) pri čemu procenjena proizvodnja iznosi oko 18 hiljada tona.

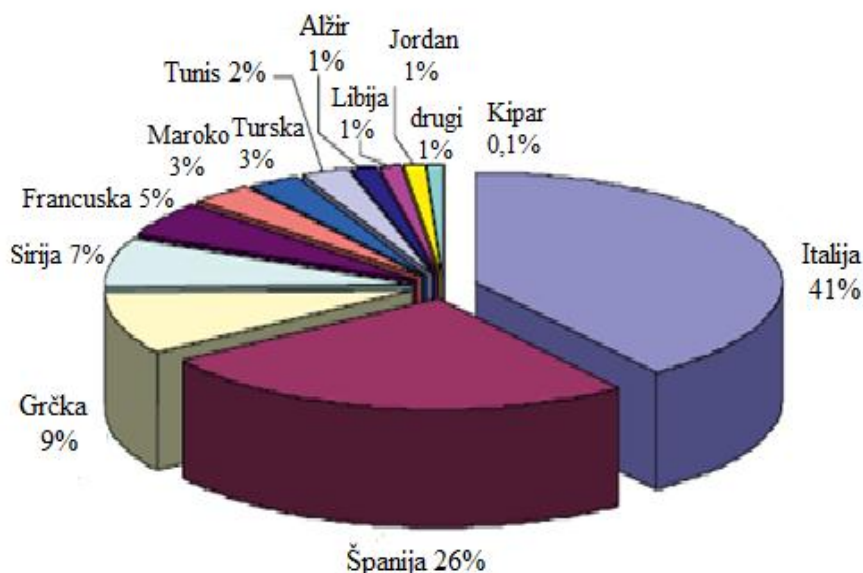
Proizvodnja maslinovog ulja intenzivirana je u zemljama Mediteranskog basena: Španiji, Italiji, Grčkoj, Portugaliji, Tunisu, Turskoj i Maroku. Samo ovih sedam zemalja proizvode 90 % svetske proizvodnje. Trend proizvodnje po zemljama se povećava, ali posebno su dve vodeće zemlje proizvođača najvažnije za proizvodnju maslinovog ulja. Zapravo, nivo prinosa u Italiji (25%) i Španiji (36%) je viši od drugih zemalja proizvođača. Grčka, Tunis i Turska imaju 18,8% i po 5% svetske proizvodnje, respektivno (Međunarodni savet za masline). Prema podacima (FAOSTAT, IOOC 2015) za globalnu proizvodnju maslinovog ulja, jasno je vidljivo da su Španija, Italija i Grčka na vrhu, kao što je prikazano na slici 17.



**Slika17.** Globalna proizvodnja maslinovog ulja (FAOSTAT, IOOC 2015)

Na slici 18 prikazani su podaci i za deset afričkih ili azijskih zemalja Mediterana - Maroko, Alžir, Tunis, Libija, Egipat, Liban, Sirija, Izrael i Jordan. Budući da ove zemlje čine manje od 3,5% svetske proizvodnje maslinovog ulja, fokusirali smo se na proizvodnju samo u mediteranskim zemljama, koristeći podatke o proizvodnji koje je obezbedila Organizacija za

hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (Food and Agriculture Organization-FAO, 2008). kao što je prikazano na slici 18.



**Slika18.** Proizvodnja maslinovog ulja (% u periodu 2001–2003) (FAO, 2008)

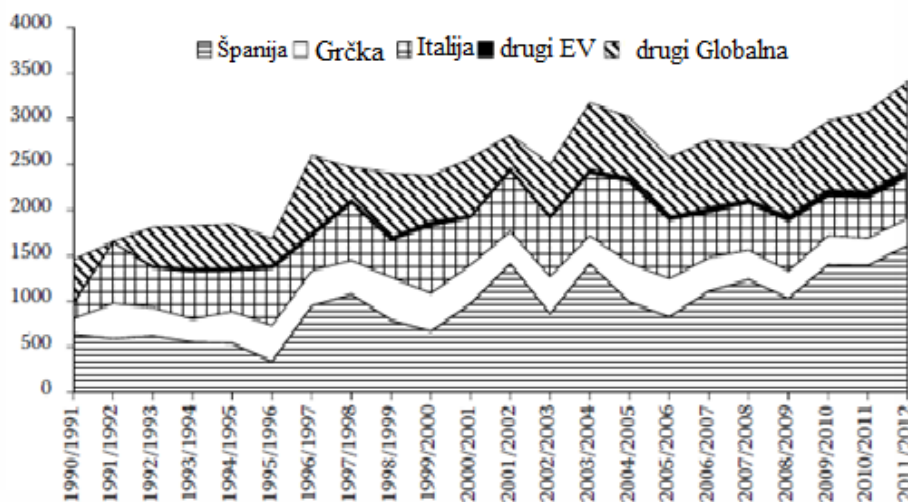
Prema podacima FAO, deset glavnih zemalja za proizvodnju maslina nalazi se u regionu Mediterana, koje proizvode 95% svjetskih maslina, kao što je prikazano u Tabeli 3.

U poslednjih 50 godina, životinjske masti u svim svojim oblicima su imale ubrzan pad njihovog relativnog udela svetske potražnje za mastima i uljima. Kao i druga biljna ulja, maslinovo ulje je profitiralo ovim razvojem događaja, a njegova proizvodnja je u porastu od 1,032 miliona tona 1958/1959. godine do oko 3 miliona tona u 2009/2010. godini, a za 2011/2012. godinu iznosi 3,4 miliona tona (Slika 19). To čini oko 3% svetske proizvodnje biljnih masti i ulja (Aparicio i Harwood, 2013). Proizvodnja se distribuira u tri grupe zemalja: 27 članica EU, koja dominira svjetskom proizvodnjom, čiji je udeo u proseku 76% u poslednjih 50 godina; ostalih 16 zemalja članica MSM-a (Albanija, Alžir, Argentina, Hrvatska, Egipat, Iran, Irak, Izrael, Jordan, Liban, Libija, Crna Gora, Maroko, Sirija, Tunis i Turska) sa prosekom od 22%; i ostatak sveta, sa 2%.

Tabela 3. Glavni proizvođači maslina 2009 godine (FAOSTAT, 2011)

Zemlja	Proizvodnja (tone)	Obradeno područje (hektar)	Prinos (kvintal <sup>a</sup> /hektar)
Svet	18,241,809	9,922,836	18,383
Španija	6,204,700	2,500,000	24,818
Italija	3,600,500	1,159,000	31,065
Grčka*	2,444,230	765,000	31,40
Turska	1,290,654	727,513	17,740
Sirija	885,942	635,691	13,936
Maroko	770,000	550,000	14,000
Tunis	750,000	2,300,000	3,260
Egipat	500,000	110,000	45,454
Alžir	475,182	288,442	16,474
Portugalija	362,600	380,700	9,524
Libija	180,000	Na**	Na
Argentina	160,000	52,000	30,769

\*Podaci za Grčku su za 2007, \*\*Na: nema podataka; <sup>a</sup>kvintal (q) = 100 kg



Slika 19. Globalna proizvodnja maslinovog ulja (u hiljadama tona)

(International Olive Council, 2013)

Prosečni prinos po hektaru širom sveta u uslovima uzgajanja maslina (s kišom kao navodnjavanjem) kreće se u rasponu od 0,5 do 4 tona maslina/ha. Ogromna varijabilnost u proizvodnji je zbog snažne tendencije maslinovog drveta prema alternativnom rastu (veliki plodovi svake druge godine) i jake zavisnosti od sezonskih padavina i uskladištene vlage u tlu, kako bi se stvorili uslovi za proizvodnju sledeće godine. Mnogi od ovih maslinjaka su na strmom terenu i imaju velika stabla sa kojih se plodovi ne mogu mehanički sakupljati što ih čini ekonomski veoma marginalnim. Moderni maslinjaci sa srednjom do visokom gustinom zasada i koji se navodnjavaju, mogu proizvesti od 5 do 12 tona ploda/ha (Vossen, 2013).

Proizvodnja maslinovog ulja ostvarila je trend rasta u proteklih 28 godina - dostigla je 2,8 miliona tona u 2014. godini, skokom sa oko 1,5 miliona tona 1990. godine. Svetska proizvodnja uglavnom je koncentrisana u mediteranskom basenu gde je klima povoljna. Konkretno, glavni proizvođači su Španija, Italija i Grčka, koji čine oko 66% svetske proizvodnje, kao što je prikazano u Tabeli 4.

**Tabela 4.** Deset najvećih svetskih proizvođača maslinovog ulja (IOOC, 2015)

2013 / 2014. godine					
Mesto	Zemlja	Količina (1000 tona)	Udeo od deset proizvođača (%)	Udeo svetske proizvodnje (%)	Udeo EU proizvodnje (%)
1.	Španija	1536,6	53,0 %	49,6 %	66,6 %
2.	Italija	450	15,5 %	14,5%	19,5 %
3.	Grčka	230	7,9 %	7,4 %	10,0 %
4.	Turska	180	6,2 %	5,8 %	
5.	Sirija	135	4,7 %	4,4 %	
6.	Maroko	120	4,1 %	3,9 %	
7.	Tunis	80	2,8 %	2,6 %	
8.	Portugalija	76.2	2,6 %	2,5 %	3 %
9.	Alžir	62	2,1 %	2,0 %	
10.	Čile	32	1,1 %	1,05	
	<b>UKUPNO</b>	<b>2901.8</b>	<b>100 %</b>	<b>94 %</b>	<b>99 %</b>

### 2.3.1. Proizvodnja maslinovog ulja u Libiji

Kao mediteranska zemlja, Libija je prirodno mesto za masline, a njena sušna klima je pogodna za njihovu kultivaciju. Maslinovo ulje je jedan od najvećih useva u Libiji i komponenta libijske ishrane. Iako je upotreba maslinovog ulja uglavnom bila ograničena na regione sveta gde se i proizvodilo, njegova potrošnja na netradicionalnim tržištima se

povećala od devedesetih godina (Mtimet, 2008). Maslinovo ulje je skuplje od drugih vrsta biljnog ulja jer stabla postaju produktivna tek nakon pet godina rasta.

Na osnovu važnosti maslinovog ulja u libijskoj ishrani i zadovoljavanju domaće potražnje, industrija maslinovog ulja je ciljana kao strateški sektor za rast i razvoj od strane vlade Libije. Ukupan broj maslina u Libiji procenjen je na 5,67 miliona u 2001. godini, a do 2007. godine povećao se na 5,79 miliona. Uzgoj maslina je koncentrisan u zapadnom regionu (Poljoprivredni popisi, 2007), koji obuhvata 205,000 hektara od ukupno 1,716 miliona hektara obradivog zemljišta. Između 2001. i 2010. godišnja proizvodnja ploda masline porasla je sa 150 hiljada tona na 205 hiljada tona, dok je prosečna godišnja proizvodnja maslinovog ulja smanjena je sa 30 na 15 hiljada tona (Elbeidi i Hamuda, 2016).

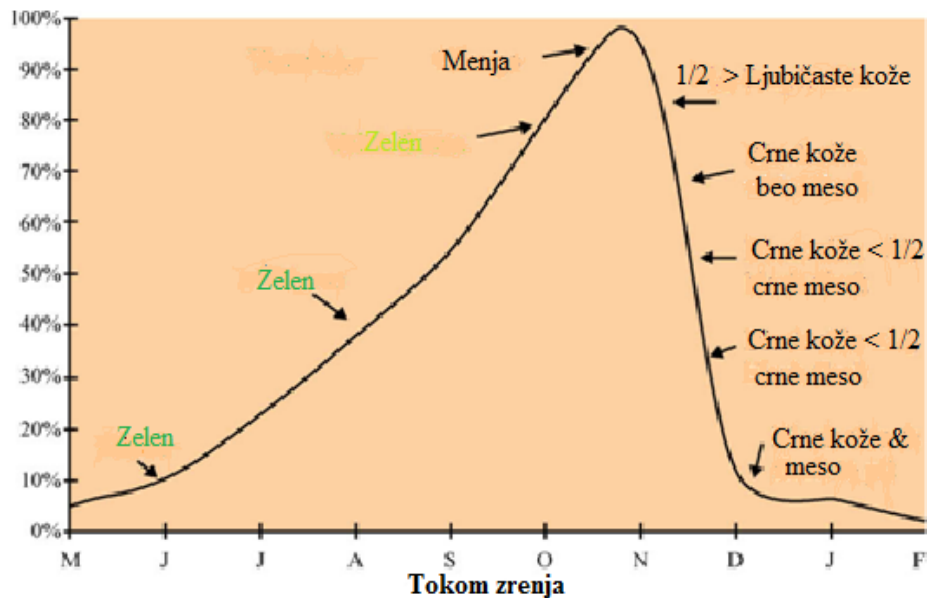
Između 2008/09 i 2013/14, prosečna proizvodnja ulja u zemlji iznosila je 15,000 tona godišnje, odnosno 0,5% od ukupne svetske proizvodnje maslinovog ulja. Korišćenje maslinovog ulja u Libiji je deo kulture i veliki je broj pojedinačnih proizvođača koji proizvode ulje koristeći proces hladnog presovanja. Prema podacima iz 2010. godine (ARC Tripoli Libija), broj pojedinačnih proizvođača je bilo više od 250. Jedan deo ovih proizvođača koristi ulje za vlastitu upotrebu, deo prodaje, ulje nižeg kvaliteta se isporučuje jedinoj rafineriji u zemlji za preradu. Glavni problemi vezani za proizvodnju maslinovog ulja u zemljama severa Afrike su vrlo nizak nivo proizvodnje i nedostatak standardizovanog kvaliteta ulja po evropskim propisima. Međutim, Libija u svakom slučaju ima dobre prirodne uslove i druge mogućnosti za razvoj proizvodnje maslina i povećanja proizvodnje maslinovog ulja.

## **2.4. Opis i struktura ploda masline**

Plod masline je ovalnog oblika i poseduje tipičnu veličinu od 2 - 3 cm (širina i dužina) i pulpu (mesnati deo ploda) prema koštici u odnosu od 3,0 - 6,5. Plod masline je u suštini sastavljen od 3 dela: epikarpa ili kožice, mezokarpa ili pulpe i endokarpa ili koštice. Epikarp (kožica) je prekriven voskom; tokom faze rasta boja kože prelazi od svetlo zelene do ljubičaste i smeđe ili crne, kao što je prikazano na slici 20.

Prema Hashim i sar. (2005) plod masline je koštuničav, ima ovalni oblik i sastoji se od dva osnovna dela; perikarpa i endokarpa (koštice). Perikarp je sastavljen od epikarpa (kože) i mezokarpa (pulpe) kao što je prikazano na Slici 21. Perikarp sadrži 96% do 98% ukupne

količine ulja, a preostalih 2% do 4% se nalazi u koštici. Plod masline koji sadrži košticu uglavnom se sastoji od tri dela: epikarpa, mezokarpa i endokarpa. Epikarp, koji je koža ili epidermis, prekriven je voskom i obično ostaje zelen u toku faze rasta. Tokom zrenja, ili kad je zreo, može postati ljubičast, smeđ ili crn, u zavisnosti od sorte.



**Slika 20.** Boja i nivoi polifenola ploda masline tokom zrenja (Vossen, 2004)

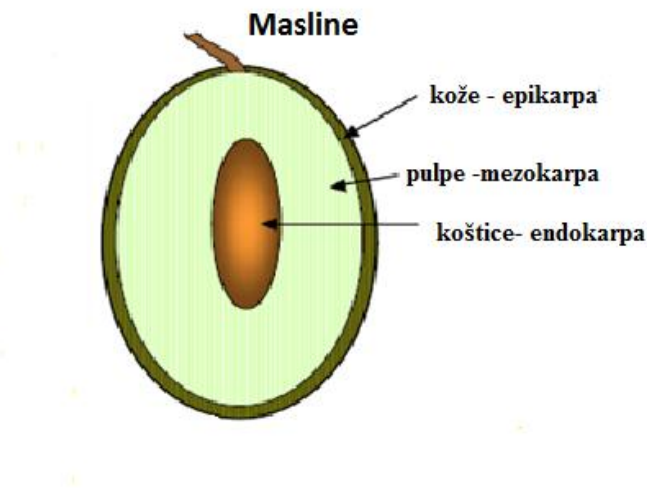
Mezokarp, koji je pulpa ili meso, obično ima sadržaj ugljenih hidrata od 3-7,5% i visok sadržaj ulja u opsegu od 15-30%. Sastav ploda uglavnom zavisi od sorte, uslova sredine i stepena zrelosti. Endokarp je tvrdi deo ploda i sačinjen je od vlaknastog lignina. Njegov jajast/ovalni oblik i stepen do kojeg je zaobljen su varijantne karakteristike. Endokarp obuhvata maslinovu košticu, što čini oko 3% mase ploda i sadrži 2-4% od ukupnog sadržaja ulja ploda. Maslinova koštica teži od 1 do 5 g i ima prosečan hemijski sastav od 30% vode, 27% ulja, 27% šećera, 2% celuloze, 10% proteina, 1,5% minerala i 2% pepela (Niaounakis i Halvadakis, 2006).

Mezokarp, sa mekim mesom, čini 84 - 90% (od ukupne mase ploda) dok tvrdi endokarp (koštica) koji sadrži seme može biti od 13 do 30% mase ploda. Seme sadrži 2 - 4 g ulja/100 g. Masa ploda masline može se kretati od 2 do 12 g, iako neke sorte mogu težiti čak i 20 g (Ghanbari i sar., 2012).

Rast i sazrevanje plodova masline predstavlja dugačak proces, koji traje oko 5 meseci u uobičajenim klimatskim uslovima. Međutim, u hladnim klimatskim uslovima, rast je sporiji.



Prosečan sastav ploda masline uključuje vodu (50%), proteine (1.6%), ulje (22%), ugljene hidrate (19,1%), celulozu (5,8%), neorganske supstance (1,5%) i fenolna jedinjenja (1-3%). Ostala važna jedinjenja prisutna u maslinovom plodu su pektin, organske kiseline i pigmenti (Boskou, 2015).



**Slika 21.** Presek ploda masline sa ovalnom košticom u sredini (Zeb i Murkovic, 2011)

Kvalitet ulja od ploda masline u početku prati povećanje sadržaja ulja, ali dostiže vrh i počinje da opada pre nego što se postigne maksimalni prinos ulja. Sila za odvajanje ploda od grane se neprekidno smanjuje, kako plod sazreva i naglo pada kada plodovi postignu potpunu zrelost i povećava se broj opadnutih plodova. Boja maslina se menja od zelene do blede "slama" zelene, dok plod sazreva, a zatim od ljubičaste do crne, kad plod postaje potpuno zreo (Salvador i sar., 2004), kao što je prikazano na slici 22.



**Slika 22.** Različiti stadijumi pigmentacije maslina: zelena (I), zeleno-crvena (II), crvena (III), crveno-ljubičasta (IV) i ljubičasta (V) (Agati i sar., 2005)

## 2.5. Nutritivna vrednost maslinovog ulja

Većina istraživanja je sprovedena na komponentama klasične "mediteranske dijeta", jer se pokazalo da ljudi koji se hrane prema ovom načinu ishrane trpe znatno niže stope srčanih oboljenja i raka, pored ostalih bolesti (Keis, 1995; Vahrburg i sar., 1998). Ovi ljudi imaju tendenciju da žive duži i zdraviji život nego oni koji slede druge različite dijetе.

Ekonomski gledano, plod maslina je važan proizvod jer daje hranljivo jestivo ulje sa potencijalnim medicinsko-zdravstvenim funkcijama. Masline se retko koriste u svojoj prirodnoj formi kao takve zbog izražene gorčine; ipak, one se upotrebljavaju u bilo kojoj od dve forme, kao za proizvodnju ulja ili masline za jelo.

Zbog sve veće svesti o korisnim efektima optimalne ishrane i funkcionalne hrane među današnjim kosmopolitskim društvima koja vode računa o zdravlju, svetska potrošnja maslina i proizvoda od maslina značajno je porasla, posebno u zemljama sa visokim standardom kao što su SAD, Evropa, Japan, Kanada i Australija, što je rezultiralo brzim razvojem proizvoda na bazi maslina.

Nutritivne vrednosti DMU-a se pripisuju prisustvu velike količine mononezasićenih masnih kiselina (MMK), kao što su oleinska kiselina i vredne minorne komponente, uključujući alifatske i triterpenske alkohole, sterole (uglavnom  $\beta$ -sitosterol), ugljovodonike

(skvalen), isparljiva jedinjenja, tokoferole (uglavnom  $\alpha$ -tokoferol), pigmente, kao što su hlorofili, karotenoide ( $\beta$ -karoten i lutein) i antioksidante.

Nutricionisti preporučuju ujednačeni unos lipida koji odgovara ukupnoj količini masti od 25 do 30% od ukupnih unetih kalorija sa sledećim odnosom u masnim kiselinama: a) - zasićene (6 - 8%), b) - mononezasićene (12 - 14%), c) - polinezasićene kao omega-6 (6 - 7%) i d) - polinezasićene kao omega-3 (0,5 - 1,5%). Biološka fenolna jedinjenja imaju potencijalnu moć antioksidanata i igraju važnu ulogu u hemijskim, senzorskim i hranjivim svojstvima devičanskog maslinovog ulja (DMU) i maslina za jelo.

DMU je jedno od retkih ulja koje se može konzumirati neposredno čim se proizvodi bez rafinisanja ili industrijske prerade, što mu osigurava da zadrži brojne supstance, antioksidante i vitamine koji povećavaju nutritivnu vrednost. Mononezasićene masne kiseline u maslinovom ulju čine ga otpornijim na toplotu nego polinezasićene masne kiseline, koje se lakše degradiraju jer imaju dodatne dvostruke veze u svojim molekulima. Shodno tome, maslinovo ulje može ponovo da se koristi za prženje bez da njegove masne kiseline prolaze kroz procese hidrogenacije ili izomerizacije, što bi poništilo njegove korisne efekte na lipidni metabolizam. To je najtraženija mast za prženje (Choe i Min, 2007). Maslinovo ulje značajno poboljšava korišćenje glukoze u ćeliji i smanjuje nivo triglicerida, a i po ukusu je prijatnije nego dijeta sa visokim sadržajem ugljenih hidrata koja sadrži istu količinu vlakana. Maslinovo ulje je veoma zdrava hrana koja ima visoku kaloričnu vrednost, što bi moglo da utiče na to da njegova potrošnja podstiče gojaznost. Iskustvo pokazuje, međutim, da mediteranski narodi, koji troše najviše maslinovog ulja, imaju manje gojaznosti nego ljudi u zemljama engleskog govornog područja. Dokazano je da, u poređenju sa dijetom sa malo masti, dijeta sa maslinovim uljem dovodi do većeg i trajnijeg gubitka mase. Dobro se toleriše jer ima dobar ukus i čini konzumiranje povrća ukusnijim (Sacks, 2002).

Maslinovo ulje pomaže apsorpciji određenih supstanci koje su korisne za telo, kao što su omega-3 masne kiseline u ribama ili likopen u paradajzu. Kada se konzumira sa ovom hranom, dvostruko je korisno jer poboljšava njihovu biorasploživost. Takođe vrši sinergijski efekat belog i crvenog luka. Pored toga, vitamin C u pomorandžama ima komplementarni efekat sa vitaminima E i A u maslinovom ulju. Svetska zdravstvena organizacija preporučuje doručak mleko + sok od pomorandže + delić tosta sa maslinovim uljem za zdrav početak dana (Aparicio, 2013).

## 2.6. Maslinovo ulje kao komponenta za funkcionalnu hranu

### 2.6.1. Fenolna jedinjenja

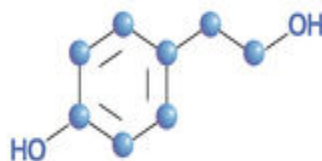
Fenolna jedinjenja prisutna u maslinovom ulju mogu se klasifikovati u lipofilnu grupu i hidrofilnu grupu (Boskou, 2000). Maslinovo ulje je izvor od najmanje 30 fenolnih jedinjenja koja pripadaju hidrofilnoj grupi (Tuck i Haiball, 2002). Ukupni polifenolni sadržaj maslinovog ulja kreće se od 50 do 1000 mg/kg ((Boskou i sar., 2006). Nivoi ukupnih fenola i pojedinačnih fenola u maslinovom ulju zavise od agronomskih faktora, zrelosti maslina, obrade, pakovanja i skladištenja. Glavna fenolna jedinjenja u maslinovom ulju su kiseline kao što su galna, kafeinska, vanilinska, p-kumarinska, siringinska, ferulinska, homovanilinska, p-hidroksibenzoeva i protokatehinska kiselina, zatim tirosol i hidroksitirosol (Montedoro i sar., 1992; Mannino i sar., 1993). Fenolna jedinjenja koja su prisutna u maslinovom ulju su jaki antioksidanti i „hvatači“ radikala. Postoji nekoliko radova koji pokazuju dobru korelaciju ukupnog sadržaja polarnog fenola sa stabilnošću maslinovog ulja (Blekas i sar., 2002; Bakhouché i sar., 2013.) Fenolna jedinjenja su važna u pogledu kvaliteta DMU-a zbog njihovog doprinosa ukusu i aromi, a takođe štite maslinovo ulje od oksidacije kroz njihove antioksidativne osobine (Chtourou i sar., 2013).

Fenolna jedinjenja značajno doprinose nutritivnim svojstvima, senzorskim karakteristikama i roku trajanja maslinovog ulja. Jedinjenja koja potiču iz hidrolize oleuropeina doprinose intenzitetu gorčine DMU, a naročito hidroksitirozol, tirozol, kafeinska kiselina, kumarna kiselina i p-hidroksibenzoeva kiselina utiču na senzorske karakteristike DMU (Kiritsakis, 1998; Riachi i sar., 2012). Fenolna jedinjenja igraju važnu ulogu u održavanju ljudskog zdravlja zbog njihovih antiinflamatornih, antialergijskih, antimikrobnih, antikarcinogenih i antivirusnih aktivnosti (Tripoli i sar., 2005). Oni sprečavaju peroksidaciju lipida i oksidativnu modifikaciju lipoproteina niske gustine (LDL) pomoću njihovih antioksidativnih aktivnosti (Servili i sar., 2004; Rian i sar., 1998).

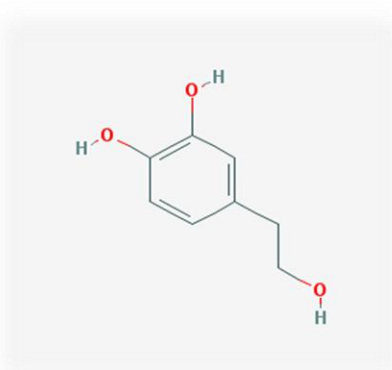
Fenolna frakcija DMU se uglavnom sastoji od fenolnih alkohola (hidroksitirozola, tirozola) i njihovih derivata secoiridoida (Mazzotti i sar., 2012), povezanih sa aldehidnim i dialdehidnim formama elenolne kiseline (kao što je oleuropein, dialdehidna forma dekarboksimetilenolinske kiseline povezane sa hidroksitirozolum (3,4-DHPEA-EDA), 4-(acetoksietil) -1,2-dihidroksi-benzen (3,4-DHPEA- AC), dialdehidne forme dekarboksimetil elenolne kiseline povezane sa tirozolum (p-HPEA-EDA), p-4-hidroksifeniletanol-elenolna

kiselina, izomer ligostrozidnog aglikona (p-HPEA-EA), 3,4-dihidroksifeniletanol-elenolna kiselina, izomer oleuropein aglikona (3,4-DHPEA-EA) i njegovog metilovanog oblika (metil 3,4-DHPEA-EA). Neke druge manje komponente su takođe često prisutne, kao što su: lignani (pinorezinol i 1- acetoksinorezinol), flavonoidi (rutin, luteolin i apigenin), fenolne kiseline (kao što su galijumska, kafeinska, vanilinska, ferulinska, cimetna, homovanilinska, p-kumarinska, o-kumarinska, m-kumarinska, protokatehinska, sinapinska, p-hidroksifenilacetat i p-hidroksibenzoeva kiselina) i aldehidi (vanilin). Sva ova jedinjenja doprinose stabilnosti i dugom roku trajanja koji se obično posmatraju u DMU u poređenju sa drugim biljnim uljima (Becerra-Herrera i sar., 2014; Angerosa i sar., 2000).

Fenoli, koji su jaki čistači/hvatači slobodnih radikala i odgovorni za očuvanje i održavanje senzorskih svojstava maslinovog ulja, dostižu koncentraciju do 300 mg/kg; među njima, hidrositirozol (1, Htir) i tirozol (2, Tir) (slika 23,1, 23,2) su prisutni u maslinovim uljima u slobodnom stanju ili kao konjugati sekoiridoida i igraju važnu ulogu. Iako sadržaj ukupnih i pojedinačnih fenola varira kao funkcija sorti i berbe, slobodni oblici tirozola i hidrositirozola i njihovi derivati čine 30% fenolne frakcije (Mazzotti i sar., 2012).



(1) Tirozol

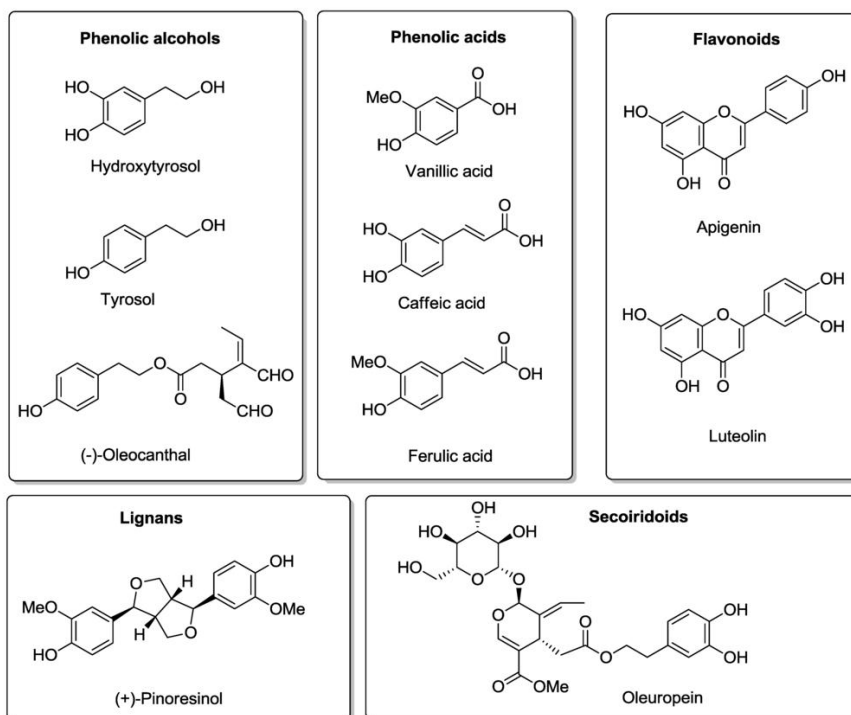


(2) Hidrositirozol

**Slika 23.**Struktura tirozola (1) i hidrositirozola (2) ([www.oliveoilsource.com](http://www.oliveoilsource.com))

Fenolne kiseline su povezane sa bojama i senzorskim osobinama, kao i sa zdravstvenim i antioksidativnim svojstvima namirnica. Jedan od razloga za analitičko ispitivanje je bila uloga fenola u senzorskim svojstvima (ukus i astringencija) hrane. Posebno su identifikovane i kvantifikovane u DMU sledeće fenolne kiseline kao galna, protokatehuinska, p-hidroksibenzoeva, vanilinska, kafeinska, siringinska, p – i o-kumarinska, ferulinska i cimetna (u količinama koje su manje od 1 mg/kg maslinovog ulja). Dve istraživačke grupe bile su uključene u obimne analize DMU za ove tipove jedinjenja (Buiarelli i sar., 2004). Količina lignana u DMU može biti čak i do 100 mg/kg, ali kao kod jednostavnih fenola i sekoiridoida, postoje značajne razlike između različitih ulja, kao što su predložili Brenes i sar., (2002) i Khaleghi i sar. (2015).

Maslinovo ulje može biti bogato fenolnim jedinjenjima. Fenolne kiseline bile su prva grupa fenolnih jedinjenja identifikovanih u DMU. Aromatske kiseline sadrže benzoevu kiselinu, p-hidroksibenzoevu kiselinu, protokatehinsku kiselinu, galnu kiselinu, vanilinsku kiselinu i siringinsku kiselinu. Derivati cimetne kiseline uključuju cimetnu kiselinu, p-kumarinsku kiselinu, o-kumarinsku kiselinu, kafeinsku kiselinu, ferulnu kiselinu i sinapinsku kiselinu. Tirozol, vanilinska kiselina, luteolin i apigenin su identifikovani i kvantifikovani pomoću LC-MS (Murkovic i sar., 2004), kao što je prikazano na slici 24. Pronađeno je da je tirozol glavni fenol u opsegu od 1,4-29 mg/kg, nakon čega sledi vanilinska kiselina (0,67-4,0 mg/kg), luteolin (0,22-7,0 mg/kg) i apigenin (0,68-1,6 mg/kg) u sedam različitih maslinovih ulja (Obied i sar., 2007).



**Slika 24.** Strukture fenolnih kiselina (Rodríguez-Morató i sar., 2015)

Lignani su posljednja grupa fenola pronađenih u DMU. Lignani su polifenolne supstance izvedene iz fenilalanina putem dimerizacije supstituisanih cimernih alkohola, poznatih kao monolignoli, da bi se formirao skelet dibenzilbutana. Oven i sar. (2000) i Brenes i sar su nedavno izolovali i karakterizovali (+) - 1-acetoksinorezinol, (+) -pinorezinol i (+) - 1-hidroksipinorezinol kao lignane koji su najčešće prisutni u DMU (Bendini i sar., 2007).

### 2.6.2. Antioksidantni profil maslinovog ulja

Antioksidanti su organski molekuli, koji mogu sprečiti ili odložiti razvoj ili napredak oksidacije. Neke od ovih supstanci su nađene u biljkama. Antioksidativna svojstva su takođe važna jer se pokazalo da maslinovo ulje sadrži antioksidativna jedinjenja koja mogu smanjiti verovatnoću razvoja kancera ili ateroskleroze u ljudskom telu (Visioli i Claudio, 1998; Goulas i sar., 2012). Trenutno ne postoji standardna metoda za procenu antioksidativnih svojstava bilo koje hrane.

Jedan od razloga zašto je maslinovo ulje visoko vrednovano je visok sadržaj antioksidanata. Ova jedinjenja koja se prirodno pojavljuju reaguju sa visoko reaktivnim radikalnim vrstama kako bi se formirali stabilniji proizvodi, kako bi se zaštitili mnogi važni

biološki molekuli od oštećenja. Ostala biljna ulja takođe sadrže antioksidante, a koncentracije antioksidativnih jedinjenja mogu se veoma razlikovati između različitih maslinovih ulja. Nije dovoljno tvrditi da postoji visok sadržaj antioksidansa u ulju; mora se meriti. Pre nego što se može izmeriti sadržaj antioksidansa u ulju, mora se definisati šta je antioksidant. Precizna definicija je teška (Huang i sar., 2005; El Riachi i sar., 2011), ipak korisna definicija koja se primjenjuje na sadašnja istraživanja je: "svaka hemijska vrsta koja se može dodati u sistem pri relativno niskoj koncentraciji da spreči ili uspori reakciju drugih vrsta sa radikalima".

Nekoliko studija koje se bave antioksidativnom aktivnošću fenolnih jedinjenja i/ili tokoferola DMU su izvedene u ubrzanim uslovima uz povišene temperature nakon dodavanja poznatih koncentracija antioksidanata na podlogu ulja ili modela (Carrapiso i sar., 2013). Oksidativna stabilnost DMU korelira uglavnom sa koncentracijom hidrofilnih fenola i naročito sa oleozidnim oblicima hidroksitirozola. Predominantna fenolna jedinjenja devičanskog maslinovog ulja imaju antioksidativni efekat koji se smanjuje po sledećem redosledu: hidroksitirozol > oleuropein > tirozol (Chimi i sar., 1991; Goulas i sar., 2012). Vrsta kao i nivo ovih jedinjenja je stoga važan parametar u proceni kvaliteta i nutritivne vrednosti devičanskog maslinovog ulja (Nissiotis i Tasioula-Margari, 2002).

Antioksidanti su agensi koji na jedan ili drugi način ograničavaju štetne efekte reakcija oksidacije ili uklanjaju slobodne radikale (eliminiraju ih bez stvaranja oštećenja koja stvara delovanje radikala) ili drugih efekata (tj. sprečavanje stvaranja radikala) (Fernandez-Orozco i sar., 2011).

Za polifenole i hidroksitirozol koji su lipo i hidro rastvorljivi, se pokazalo da imaju visoki antioksidativni potencijal i da imaju ključnu ulogu u zaštiti ćelija od reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) proizvedenih u ljudskom telu. Reaktivne vrste kiseonika - neke od njih su takođe poznate kao slobodni radikali (Ivonne i sar., 2004; Bouaziz i sar., 2010). Antioksidativni kapacitet polifenola je dokazan *in vitro* protiv slobodnih radikala ili ROS.

Važno je znati antioksidativni kapacitet (AC) hrane kako bi se utvrdila njena zaštita od oksidacije i pogoršanja i posledično gubitka kvaliteta i hranjivih vrednosti i predvideti antioksidativni potencijal njihovog unosa. Iako AC ne može biti direktno izmeren, njegov antioksidativni efekat se može odrediti, obično pomoću metode inhibicije u kojoj se koriste jedinjenja koja stvaraju slobodne radikale sa supstancom koja otkriva vrstu i širok spektar generisanih slobodnih radikala. Antioksidativni kapacitet uzoraka određuje se njihovom sposobnošću da inhibira generisanje ovih radikala. Zbog složenosti oksidacionih procesa,



nijedna metoda merenja ne odražava puni antioksidativni profil uzoraka (Perez i sar., 2003; Servili i sar., 2009).

Među antioksidantima koji se prirodno javljaju u maslinovom ulju su tokoferoli (oko 200 mg/kg) i  $\beta$ -karoten (koji je zajedno sa hlorofilima odgovaran za boju ulja), fitosteroli, pigmenti, terpenke kiseline, flavonoidi kao što su luteolin i kvercetin i fenolna jedinjenja (Visioli i sar., 2002). Svi ovi antioksidanti doprinose stabilnosti maslinovog ulja. Najvažniji antioksidanti rastvorljivi u lipidima, a prisutni u biljnim uljima su tokoferoli. Antioksidativna aktivnost tokoferola se kreće u redosledu delta izomer > gama izomer > beta izomer > alfa izomer (najmanje aktivan).

Postoji nekoliko studija koje su istraživale efekte čišćenja hidroksitirozola i oleuropeina sa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilom (DPPH). Ove studije su utvrdile da hidroksitirozol i oleuropein koji su inače glavna fenolna jedinjenja u maslinovom ulju, poseduju veći antioksidativni kapacitet, a antioksidativna aktivnost hidroksitirozol acetata je viša nego kod oleuropeina i oleuropein aglikona (Tuck i sar., 2002).

### **2.6.3. Zdravstveni značaj maslinovog ulja**

Maslinovo ulje je glavna masnoća mediteranske ishrane, univerzalno prepoznatljiva po svojim zdravim osobinama, kao što je prikazano na slici 25. Dokazano je da potrošnja maslinovog ulja uključuje smanjenje nivoa LDL-holesterola i povećanje sadržaja HDL-holesterola u krvnoj plazmi. Ovo je zbog sastava maslinovog ulja, koji se karakteriše visokim sadržajem mononezasićenih masnih kiselina, posebno oleinske kiseline i fitosterola kao  $\beta$ -sitosterola. Štaviše, maslinovo ulje je validan izvor esencijalnih masnih kiselina: alfa-linolenske kiseline (omega-3) i linolne kiseline (omega-6) koje ljudsko telo zahteva i ne može sintetisati. U posljednjih nekoliko godina poseban naučni interes bio je fokusiran na zdravstvene prednosti tzv. mediteranske dijete i na jedan od njenih karakterističnih sastojaka, maslinovo ulje. Termin "mediteranska ishrana" se generalno odnosi na dijetu uglavnom baziranu na povrću i voću u zemljama koje okružuju ili su okružene Sredozemnim morem. Međutim, u svrhu naučnih diskusija izraz se posebno odnosi na dijetu konzumirane početkom šezdesetih godina prošlog veka u sredozemnim regijama koje su tradicionalna područja uzgajanja maslinovog ulja i gde je maslinovo ulje glavni izvor masti u ishrani. Konkretno, ona odražava obrasce hrane tipične za Krit, druge delove Grčke i južnu Italiju (Ursel i sar., 2002;

Fito i sar., 2007). Izbor ovog specifičnog vremena i ovih geografskih područja zasnovan je na nekoliko dokaza:

1. Stopa koronarne bolesti srca, određenih karcinoma i nekih drugih hroničnih bolesti povezanih sa dijetom u ovim područjima bile su među najnižim na svetu početkom šezdesetih godina, a očekivani životni vek među odraslim osobama bio je među najvišim, iako su medicinske usluge bile prilično ograničene.
2. Podaci o unosu hrane u ovim mediteranskim regionima opisuju dijetetske obrasce sa mnogim zajedničkim karakteristikama.
3. Dijetetske preporuke koje dele mnoge od ovih zajedničkih osobina bile su povezane sa niskim stopama hroničnih bolesti i visokim očekivanjima životnog veka odraslih u brojnim epidemiološkim studijama sprovedenim širom sveta (Međunarodna konsenzusna konferencija o mediteranskoj dijeti, 2000).

U tradicionalnoj mediteranskoj ishrani mononezasićene masne kiseline (MMK) obično obezbeđuju više od 15% energije (do 27%) i prvenstveno se dobijaju od maslinovog ulja (Ferro-Luzzi i Brance, 1995; Kromhout i sar., 1989). U mediteranskoj ishrani, međutim, visoki unos MMK nije praćen visokim unosom zasićenih masnih kiselina (ZMK), s obzirom na činjenicu da nije životinjska mast već maslinovo ulje glavni izvor masti u ishrani. Ubedljivo je dokazano da MMK prilikom zamene ZMK značajno smanjuju serumski nivo i nivo LDL holesterola bez promene nivoa HDL holesterola (Gardner i Kraemer, 1995). Njihov efekat je sličan onome što pokazuju polinezasićene masne kiseline (PMK). Uz povoljne efekte na lipidni profil seruma, dijeta bogata MMK dovodi do stvaranja MMK bogatih LDL čestica. Posljednji su manje aterogeni od čestica LDL bogatih PMK proizvedenim dijetom bogatom PMK, tako da ih štiti od oksidativnih promena (Reaven i sar., 1993; Kratz i sar., 2002). Veruje se da takozvana oksidacija LDL igra ključnu ulogu u patogenezi ateroskleroze (Reaven, 1996; Heinecke, 1998; Covas, 2007). Prema tome, visoki unos MMK u mediteranskoj ishrani kombinuje prednosti snižavanja nivoa holesterola sa smanjenjem osetljivosti na LDL na oksidaciju.

Rana *in vitro* istraživanja su pokazala antimikrobnu aktivnost nekoliko fenolnih jedinjenja, uglavnom oleuropeina, tirozola i hidrokstirozola, protiv ljudskih patogena. Mehanizmi za objašnjenje ove aktivnosti nisu poznati, ali prisustvo orto-difenolne grupe u molekulima čini se važnim (Tripoli i sar., 2005). Oleuropein, u ovom slučaju ekstrahovan iz *Oleaceae* Frakinus rhinchophilla Hance, on je takođe pokazao antiparazitsku aktivnost protiv *Toxoplasma gondii*. Prikazana je veća selektivnost (odnos efikasnosti protiv patogena i

toksičnosti za ćelije domaćina) od sulfadiazina i pirimetamina, preporučenog tretmana za toksoplazmoze (Jiang i sar., 2008; Servili i sar., 2009).

Studije sprovedene u mediteranskim regijama posebno u Grčkoj, Italiji i Španiji su pokazale jasnu povezanost između potrošnje maslinovog ulja i smanjenog rizika od karcinoma. Zaštitna uloga maslinovog ulja protiv različitih maligniteta, uključujući dojke, jajnika, endometrijalni, kolorektalni, laringealni, ezofagalni, plućni i rak pankreasa je objavljena (Boskou, 2009).

U biološkim sistemima reakcije slobodnih radikala su povezane sa starenjem, kancerom, kardiovaskularnim oboljenjima, optičkim oboljenjem i neurodegenerativnom bolešću. Antioksidanti se koriste za sprečavanje takvih reakcija i stoga podržavaju zdravlje. Među hemijskim komponentama maslinovog ulja, većina minornih komponenti je odgovorna za antioksidativni potencijal. Ovo bi moglo objasniti nižu pojavu koronarne bolesti srca i kancera povezanih sa mediteranskom ishranom (Visioli i sar., 1998; Fito i sar., 2007).

Pored svog antioksidativnog potencijala u biološkim sistemima, maslinovo ulje je otpornije na termičku oksidaciju tokom prženja u poređenju sa drugim jestivim uljima (Zeb i sar., 2008).

Kardiovaskularna bolest je glavni uzrok smrtnosti u savremenom svetu. Ishrana i životni stil igraju važnu ulogu u prognozi i prevenciji. Zbog prisustva visokih nivoa nezasićenih masnih kiselina, maslinovo ulje poboljšava profil lipida smanjujući odnos LDL/HDL kod ljudi.



**Slika 25.** Odnos između sastava maslinovog ulja i njegovih zdravstvenih osobina (Segura-Carretero i sar., 2010)

Fenolna jedinjenja pružaju zaštitu protiv oksidacije LDL i time igraju važnu ulogu u prevenciji ishemijske bolesti srca (Perez-Jimenez i sar., 2002; Skueo i sar., 2016).

Zaštitne funkcije imunog sistema protiv infekcija uključuju uništavanje virusa i bakterija koje se javljaju u telu. Utvrđeno je da mononezasićene masne kiseline, poput oleinske kiseline, pozitivno utiču na aktivnost prirodnih ćelija (Yakoob i sar., 1998).

Pokazano je da maslinovo ulje jača imunološki sistem od spoljnih napada izazvanih mikroorganizmima, kao što su bakterije i virusi (Peck i sar., 2000). Maslinovo ulje je bogato vitaminom E, koji ima pozitivnu biološku ulogu u uklanjanju slobodnih radikala, koji su molekuli uključeni u određene hronične bolesti i u proces starenja. Prema tome, veruje se da maslinovo ulje ima ulogu u povećanju očekivanog trajanja života.

Zahvaljujući visokom sadržaju vitamina E i antioksidanata, maslinovo ulje ima zaštitni tonirajući efekat na kožu, zbog čega se smatra da je posebno pogodan za sprečavanje povreda kože (Viola i sar., 2009). Maslinovo ulje se veoma dobro vari i apsorbuje; ono ima odlična svojstva u ovom pogledu i blag laksativni efekat koji pomaže u borbi protiv zatvora (Yadollahi i sar., 2011).

## 2.7. Senzorske karakteristike maslinovog ulja

DMU poseduje karakterističnu aromu, ukus i boju koji ga razlikuju od drugih biljnih ulja. Njegova potrošnja se permanentno povećava zahvaljujući svojim odličnim organoleptičkim i nutritivnim osobinama i sve većoj potrošačkoj preferenciji za minimalno obrađene namirnice. Senzorska analiza je suštinski deo procene kvaliteta ekstra devičanskog maslinovog ulja i dopunjuje hemijsku analizu, koje su obe podjednako zahtevi za određivanje kvaliteta maslinovog ulja prema standardima IOC i EU. Dopunjena uredba 2568/91/CE utvrđuje karakteristike maslinovog ulja i relevantne metode analize. Ova uredba takođe definiše metodologiju za procenu senzorskih karakteristika za klasifikaciju i obeležavanje DMU (Cerretani, i sar., 2008) prema intenzitetu defekata i pozitivnoj karakterističnoj voćnosti, koju je odabrala odabrana, obučena i nadgledana grupa, poznata kao panel test (PT). Maslinovo ulje je jedna od najpoznatijih ulja širom sveta. Među "porodicom maslinovog ulja", najbolju komercijalnu kategoriju predstavlja ekstra devičansko maslinovo ulje (EDMU), koje se dobija od svežih maslina samo fizičkom obradom bez dodavanja ikakvih hemikalija ili bilo kakvog daljeg rafinisanja. DMU je jedan od najcenjenijih proizvoda mediteranske ishrane, a mnoga pozitivna nutritivna svojstva su povezana sa njenom potrošnjom (Servili i sar., 2009; Bendini i sar., 2012).

DMU je jedan od prvih i nekoliko proizvoda za koji je senzorska analiza obavezna; senzorska analiza se vrši zajedno sa vrednovanjem 26 fizičko-hemijskih parametara, kako bi se ulje klasifikovalo u različite komercijalne kategorije (Reg. EC 2568/91, 61/2011, 299/2013). Sledeća lista (tabela 5) prikazuje izbor zelenih i zrelih komponenti arome koji se koriste od DOP i (Nemački panel zamaslinovoulje) i SOP (švajcarski panel zamaslinovoulje) (Bongartz i Oberg, 2011).

Zeleni plodovi mogu proizvesti ulje sa više antioksidanata u obliku polifenola i na taj način imati duži rok trajanja, ali zeleni plodovi imaju tendenciju da naprave gorko, „biberno“-oporo ulje koje zahteva nekoliko meseci skladištenja pre nego što postane ukusno. Zelene masline takođe drastično smanjuju prinos ulja u poređenju sa zrelim plodovima. Tako da zrelost ploda utiče ne samo na senzorske karakteristike ulja i na krajnju stabilnost ulja, već i na prinos ulja (Caponio i Gomes, 2001).

**Tabela 5.** Komponente arome (zelena, zrela) u maslinovom ulju (Bongartz i Oberg, 2011)

Komponente zelene arome	Komponente zrele arome
Sveže pokošena trava, Zeleno lišće Orasi (neoštećeni, orasi, bademi ili borovnica) Povrće (zeleni paradajz, zelena artičoka, itd.) Voće (zelena jabuka, zelena banana, itd.) Bilje Citrusi	Orasi (suvi orasi, bademi ili borovi pinjoli) Povrće (zreli paradajz, kuvana artičoka, itd.) Voće (zrela jabuka, zrela banana, itd.) Pečurke Dinja Kandirano voće

Međutim, DMU karakteriše širok spektar prijatnih atributa ukusa na koje utiču faktori sorte i uslovi sredine (Rotondi i sar., 2010; Jimenez i sar., 2013). S obzirom na to da su sorte maslina vrlo često reprezentativne za teritoriju, veza između sorte i oblasti proizvodnje je veoma jaka, pa su senzorske karakteristike jednog ulja postale odlike proizvodnje. U Tabeli 6 je moguće primetiti da je broj negativnih atributa veći od pozitivnih, jer je cilj regulative klasifikacija ulja na osnovu senzorskih karakteristika: ulja su klasifikovana na srednjem voćnom atributu i na medijanu defekata sa najvećim intenzitetom (IOOC, 2013, Reg. br. 1348/2013).

Oko 50% svetske proizvodnje maslinovog ulja klasifikovano je kao "ekstra devičansko" maslinovo ulje (EDMU) prema zvaničnim statistikama (1999/2000) zemalja članica EK. Klasifikacija se odobrava ako hemijska analiza i, što je još važnije, senzorska evaluacija koju je sproveo panel (akreditovan po EN ISO / IEC 17025 (2005) obučenih testera maslinovog ulja, potvrđuje usklađenost sa zahtevima Uredbe (EC) 640/2008 (Bongartz i Oberg, 2011).

Na osnovu detekcije određenih negativnih atributa, kao i merenja intenziteta tri pozitivna atributa (plodnost, gorčina i oporost), PT vodi do "klasifikacije" maslinovog ulja sa senzornog stanovišta.

Uzorci koji pokazuju sredinu defekata koji nisu iznad nule (= 0) i sredinu iznad nule (> 0) su kategorizovani kao ekstra-devičansko maslinovo ulje, EDMU, što predstavlja najviši stepen klasifikacije koje može postići maslinovo ulje.

Zapravo, gorčina, oštrina i astringencija su senzorski atributi EDMU koji su često pozitivno povezani sa prisustvom fenolnih jedinjenja u ulju (Mateos i sar., 2004; Favati i sar.,

2013). Senzorska procena maslinovog ulja igra relevantnu ulogu u klasifikaciji maslinovog ulja jer je uključena u parametre kvaliteta koji su potrebni za izdvajanje određenog ulja u okviru jedne od zakonski priznatih kategorija maslinovog ulja (Uredba Evropske komisije, 1991).

**Tabela 6.** Specifični rečnik senzorske analize (Reg. No 1348/2013)

<b>Negativni atributi</b>
<p><b>Ustajali/blatni sediment:</b> Karakteristična aroma ulja dobijena od maslina nagomilanih ili uskladištenih u uslovima koji su prošli naprednu fazu anaerobne fermentacije ili ulja koji se drže u podzemnim rezervoarima i kadama i koja su takođe podvrgnuta procesu anaerobne fermentacije i koja su ostala u kontaktu sa sedimentom.</p> <p><b>Budavo-vlažno-zemljano:</b> Karakteristična aroma ulja dobijenih od plodova u kojima se razvio veliki broj gljivica i kvasca kao rezultat skladištenja u vlažnim uslovima tokom nekoliko dana ili ulja dobijenih od maslina koje su sakupljene sa zemljom ili blatom na njima i koji nisu oprani.</p> <p><b>Vinsko-kiseli-kiseli:</b> Karakterističan ukus određenih ulja koji podsećaju na vino ili sirće. Ovaj ukus je uglavnom zahvaljujući procesu aerobne fermentacije u maslinama ili u maslinovoj pasti koja ostaje na delovima uređaja koji nisu pravilno očišćeni i dovodi do stvaranja sirćetne kiseline, etil acetata i etanola.</p> <p><b>Užeglo:</b> Aroma ulja koja nastaje usled procesa intenzivne oksidacije.</p> <p><b>Promrznute masline (vlažno drvo):</b> Karakteristična aroma ulja od maslina koje su oštećene mrazom na drvetu.</p>
<b>Ostali negativni atributi</b>
<p><b>Grejani:</b> Karakteristična aroma ulja izazvana prekomernim i/ili produženim grejanjem</p> <p><b>Izgorelo:</b> Grejanje tokom obrade, naročito kada se pasta termički meša, ako se to radi pod neadekvatnim termičkim uslovima.</p> <p><b>Seno-drvo:</b> karakterističan ukus određenih ulja proizvedenih iz maslina koje su isušene.</p> <p><b>Grubo:</b> pun, testast ukus u ustima koji proizvode određena stara ulja.</p> <p><b>Masno:</b> ukus ulja podseća na dizelsko ulje, mast ili mineralno ulje.</p> <p><b>Biljni ekstrakt:</b> Aroma koja se dobija od ulja kao rezultat produženog kontakta sa biljnim ekstraktom koji je prošao proces fermentacije.</p> <p><b>Salamura:</b> Ukus ulja od maslina koji su konzervirane u salamuri.</p> <p><b>Metalni:</b> ukus koji podseća na metale. Karakteristično je za ulje koje je u dugotrajnom kontaktu sa metalnim površinama tokom drobljenja, mešanja, presovanja ili skladištenja.</p> <p><b>Esparto:</b> Karakteristična aroma ulja dobijena od maslina pritiskanih u nove esparto korpe. Ukus se može razlikovati u zavisnosti od toga da li su korpe napravljene od zelenog esparta ili osušenog esparta.</p> <p><b>Larvast:</b> Aroma ulja dobijenih od maslina koje su snažno napadale larve maslinove mušice (<i>Bactrocera oleae</i>)</p> <p><b>Krastavac:</b> ukus nastaje kada je ulje hermetički prekomerno pakovano, naročito u konzerve, a koje se pripisuje formiranju 2,6 nonadienala.</p>
<b>Pozitivni atributi</b>
<p><b>Voćni:</b> set mirisnih senzacija karakterističnih za ulje koje zavisi od sorte i dolazi od zdrave, sveže masline, bilo zrele ili nezrele. On se percipira direktno i/ili kroz zadnji deo nosa.</p> <p><b>Gorak:</b> Karakterističan primarni ukus ulja dobijen od zelenih maslina ili maslina koje menjaju boju. On se percipira u obrezanoj papili na "V" regionu jezika.</p> <p><b>Oštar:</b> Taktilne senzacije karakteristične za ulja proizvedena na početku godine, prvenstveno od maslina koje su još uvek nezrele. Može se percipirati kroz čitavu usnu šupljinu, naročito u grlu.</p>

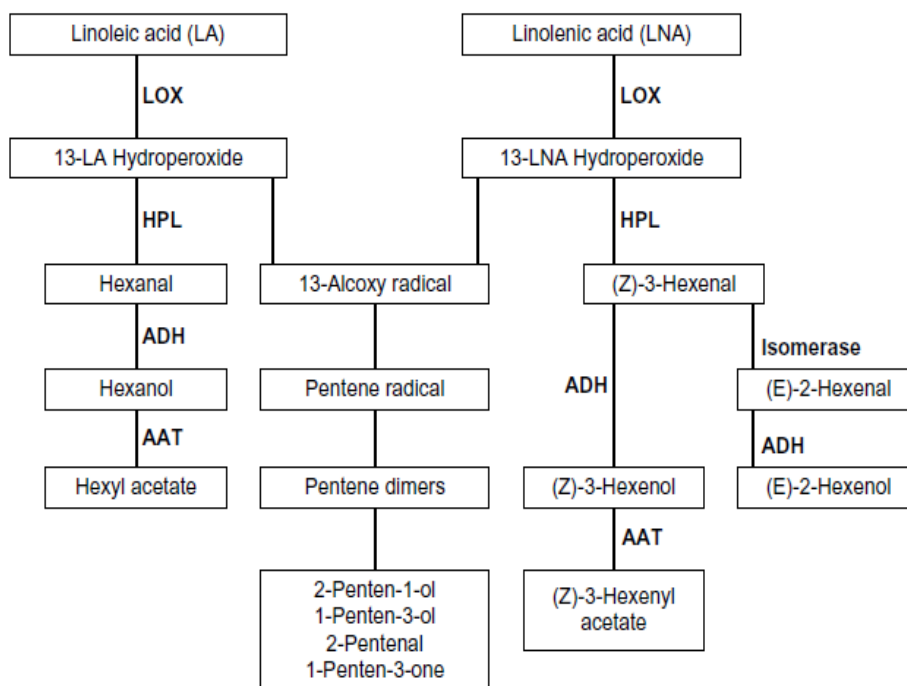
EDMU je pravilno obrađeno ulje od svežih i zrelih plodova masline (*Olea europea* L.) dobrog kvaliteta i predstavlja složeni ukus koji ujedno vole domaći potrošači i međunarodno su cenjeni od gurmana. Ove senzorske osobine smanjuju se tokom skladištenja zbog oksidacionih procesa uzrokovanih vazduhom, toplotom, svetlom i metalima. Oksidacija je vrlo složen fenomen i isparljiva jedinjenja, odgovorna za prijatan ukus, se po njom menjaju u loš okus. Stoga je stvar velike brige za industriju maslinovog ulja da sačuvaju pozitivne attribute ekstra devičanskog maslinovog ulja tokom vremena od proizvodnje do flaširanja i do prodaje (Cosio i sar., 2010; Kalua i sar., 2007).

Senzorske karakteristike se koriste i za definisanje kvaliteta DMU. Ovo ulje ima karakterističan ukus koji ga razlikuje od drugih jestivih biljnih ulja. Nakon ekstrakcije iz ploda, DMU se može konzumirati bez rafiniranja što čuva njegovu tipičnu izvornu aromu. Poslednjih godina, potreba za analitičkim procedurama za procenu kvaliteta DMU dovela je do nekoliko studija koje se bave izučavanjem isparljivih frakcija. Razvijene su razne analitičke metode za ispitivanje ovih isparljivih jedinjenja. Na taj način je identifikovan veliki broj komponenata koji doprinose aromi maslinovog ulja (Andreves i sar., 2003).

Karakteristična aroma DMU, a naročito zeleni i voćni atributi, zavise od mnogih isparljivih sastojaka nastalih usled degradacije polinezasićenih masnih kiselina kroz lanac enzimskih reakcija poznatih kao reakcija lipoksigenaze (LOX) koja se odvija tokom ekstrakcije ulja kao što je prikazano na slici 26 (Vichi, 2010).

Najvažnija isparljiva jedinjenja u maslinovom ulju za oblikovanje profila arome DMU su C6 nezasićeni aldehidi, kako kvantitativno tako i kvalitativno. Čuvanje ploda masline ili maslinovog ulja pod neadekvatnim uslovima, kao i neadekvatne metode berbe ili tehnološki procesi, može umanjiti senzorski kvalitet maslinovog ulja izmenom njegovog tipičnog isparljivog sastava. U suštini fermentacije, egzogeni enzimski procesi i reakcije oksidacije daju nepoželjne isparljive komponente koje utiču na aromatični profil DMU (Angerosa, 2002).





**Slika 26.** Isparljiva jedinjenja iz DMU koji su deo LOX aktivnosti (Vichi, 2010)

Senzorski aspekt, zahvaljujući korišćenju DMU kao začina u kuvanoj i sirovoj hrani, ima velike reperkusije na njegovu prihvatljivost. Stoga, pošto senzorski kvalitet igra važnu ulogu u usmeravanju preferencije potrošača, napravljeni su mnogi pokušaji da se razjasne odnosi između senzorskih atributa u DMU kako ih percipiraju procenjivači i njegovih isparljivih i fenolnih profila, koji su odgovorni za miris i ukus. Gorčina i oštrina su pozitivni atributi za DMU. Ove dve senzorske karakteristike usko su povezane kvalitetno-kvantitativnim fenolnim profilom proizvoda (Segura-Carretero i sar., 2010; Gomez-Caravaca i sar., 2008).

### 2.7.1. Boja ulja

DMU kao prirodna hrana ima svoju boju, koja može da varira od tamno zelene do zlatne, u zavisnosti od sorte i zrelosti ploda masline. U pogledu ukupnog sadržaja pigmenta ulja, proces ekstrakcije podrazumeva gubitak pigmenta, što utiče na pigmente hlorofila (80%) više od karotenoida (50%). Objektivno merenje boje je od velike važnosti za proizvođače hrane zbog odnosa između takvih atributa i prihvatljivosti hrane od strane potrošača. Među mnogim drugim prehrambenim proizvodima, boja maslinova ulja, jednog od osnovnih

prehrambenih artikla u mediteranskom basenu i glavne komponente hvaljene mediteranske ishrane, bila je predmet brojnih studija u posljednjih nekoliko godina (Moiano i sar., 2008).

Boja je jedan od prvih senzorskih atributa DMU procenjen od strane potrošača i može se smatrati parametrom kvaliteta koji visoko utiče na njegovo prihvatanje i preferenciju. DMU je prirodni proizvod koji se dobija jednostavnim presovanjem plodova maslina i pokazuje boje rangirane od tamnozelene do bledo žute. Među ostalim komponentama, boja maslinovog ulja direktno je povezana sa sadržajem hlorofila i karotena (Ceballos i sar., 2003).

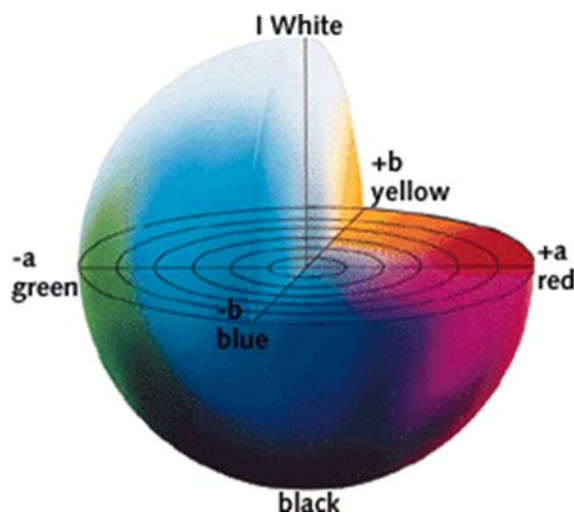
Boja maslinovog ulja je predložena kao karakteristični faktor, tj. Kao indeks kvaliteta koji se odnosi na metodu izdvajanja ulja i na sortu masline. Boja maslinovog ulja direktno je povezana sa sadržajem hlorofila i karotena i pod uticajem je nekoliko faktora, tj. Masline (sorta masline, uslovi uzgajanja, indeks sazrevanja i zona proizvodnje), postupka izdvajanja ulja ili uslova skladištenja (vlažnost, temperatura, svetlost, izloženost kiseoniku, vrsta kontejnera i materijal) (Gutierrez i sar., 1992).

Prema Aparicio (2013) boja sveže proizvedenog DMU kreće se između svetlo žute i manje-više tamno zelene u zavisnosti od sadržaja liposolubilnih pigmenata (hlorofila i karotenoida) koji se prirodno pojavljuju u plodovima. Hlorofili daju ulju svoju žutu/zelenu boju, dok karotenoidi određuju nijanse između žute i crvene boje. Nivo ovih pigmenata je povezan sa genetskim faktorima, stepenom zrenja maslina i uslovima korištenim za ekstrakciju ulja. Koncentracija tih pigmenata se smanjuje tokom zrenja plodai nestaje u trenutku potpune zrelosti ploda.

Boja je važna senzorska komponenta u prezentaciji EDMU. Potrošači su privučeni zelenim uljima ili bogatim bojama, jer podrazumeva svežinu i autentičnost proizvoda. Analiza hromatskih koordinata kao što su  $L^*$  (svetloća),  $a^*$  (udeo zelene boje) i  $b^*$  (udeo žute boje) daju objektivno merenje boje ulja (Cerretani i sar., 2008).

Tristimulus kolorimetrija, razvijena od strane Međunarodne komisije za osvetljenje (Commission Internationale de l'Eclairage, *CIE*), pokazao se kao vredan resurs za rešavanje problema objektivne analize boja u namirnicama, a različitu primenu su našle kod biljnih ulja. Pronađeni su odnosi između sorte maslina i faze zrelosti sa sadržajem pigmenta i koordinatama hromatičnosti  $a^*$ ,  $b^*$  (Moiano i sar., 1999). Koordinate  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  takođe se koriste za izražavanje prostora u boji (slika 27). Utvrđeno je da DMU dobijeno od plodova masline mehaničkim presovanjem imaju boju od zeleno-žute do zlatne u zavisnosti od stepena

zrelosti plodova. Feofitin a\* i lutein su glavne komponente hlorofilnih i karotenoidnih frakcija, respektivno.



Slika 27. Prikaz boje na bazi dijagrama hromatičnosti u prostoru ([www.lightemittingdiodes.org](http://www.lightemittingdiodes.org))

## 2.8. Oksidativna stabilnost - rok trajanja maslinovog ulja

Oksidacija je neizbežan proces koji počinje nakon što je ulje proizvedeno i dovodi do pogoršanja koje postaje izraženije tokom skladištenja. Inicijalno, lipidi podležu oksidaciji i stvaranju hidroperoksida, koji su bez mirisa i bez ukusa i ne donose nikakve senzorske promene. Ipak, raspadanje se odvija kroz homolitičko cepanje hidroperoksidne grupe, stvarajući različita isparljiva jedinjenja poznata kao sekundarni oksidacijski proizvodi, koji su odgovorni za tipične neprijatne senzorske karakteristike. Kiseonik, svetlost, povišena temperatura, metali, pigmenti, sastav nezasićenih-masnih kiselina i količina i vrsta prirodnih antioksidanata su faktori koji mogu uticati na slobodni radikalni mehanizam procesa autokidacije na različite načine (Carretero i sar., 2010). Prema Frankelu (1996), u uljima hidrofilni antioksidansi, kao što su polarni fenoli, nalaze se na mestu dodira ulja i vazduha (mala količina vazduha je uvek zarobljena u ulju) i na taj način efikasnije štiti od oksidacije nego lipofilni antioksidansi kao što su tokoferoli, koji ostanu dublje u ulju (Riachy i sar., 2012).

DMU, jedno od nekoliko ulja koja se konzumiraju bez ikakvog hemijskog tretmana, ima visoku otpornost na oksidativnokvarenje, uglavnom zbog dva razloga: prvo, njegova

kompozicija masnih kiselina karakteriše visok odnos mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina, a drugo, sadrži mnoštvo različitih minornih jedinjenja moćne antioksidativne aktivnosti, među kojima se posebno ističu polifenoli (Kiritsakis, 1990). Većina ovih jedinjenja se eliminišu ili drastično smanjuju tokom procesa rafincije i stoga su prisutna u mnogo manjim količinama u jestivim rafinisanim uljima nego u devičanskim uljima. Međutim, takođe je vredno napomenuti da iako DMU obično ima visoku otpornost na oksidaciju, neka manja jedinjenja koja se takođe eliminišu tokom rafinisanja, tj. slobodne masne kiseline i fotosenzitri, su prooksidanti i stoga će doprineti visokoj varijabilnosti u stabilnosti DMU.

Uprkos kompleksnosti oksidacionog procesa, glavne reakcije i varijable uključene u autoksidaciju, fotooksidaciju i enzimsku oksidaciju su dobro poznate i dokumentovane (Velasco i Dobarganes, 2002). Naročito, odličan pregled napisan je od Morales i Przibilski (2000). Komentari u ovom odeljku su ograničeni na specifične aspekte koji su korisni za razjašnjavanje glavnih razlika koje su uvedene u procesima oksidacije sa najvažnijim faktorima koji utiču na stabilnost maslinovog ulja u odnosu na oksidaciju, tj. koncentraciju kiseonika, temperaturu i svetlost.

Reakcija kiseonika sa lipidima je "autoksidacija". Zajednički katalizatori su enzimi, pojedini metali i pigmenti (Boskou, 1996). Primeri ovih su lipoksigenaze, bakar i hlorofil. Ako je ulje proizvedeno u čistim uslovima, a voda iz procesa adekvatno odvojena, samo pigmenti bi trebalo da izazovu zabrinutost u pogledu roka trajanja ulja. Pigmenti kao što je hlorofil su fotosenzitri, za koje je potrebno da svetlost katalizuje tranziciju tripleta do singletu u kiseoniku.

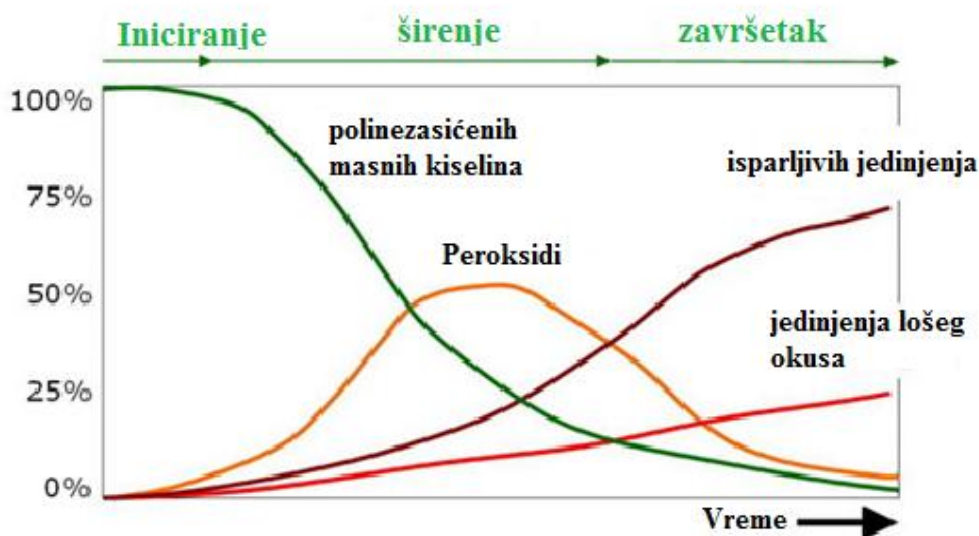
Jednom formiran, singletni kiseonik deluje preko dvostrukih veza nezasićenih masnih kiselina kako bi se formirali hidroperoksidi (Foote, 1968). Hidroperoksidi su primarni proizvodi lipidne oksidacije. Hidroperoksidi se spontano raspadaju i pokreću lančane radikalne reakcije. Mnogi krajnji proizvodi (sekundarni proizvodi oksidacije lipida) su nestabilni, a neki imaju veoma niske senzorske pragovne detekcije (Angerosa, 2002). Prema tome, oksidacija može ozbiljno uticati na senzorski kvalitet maslinovog ulja, sa samo malim promenama (manje od 2% (Gomez-Alonso i sar., 2004) u relativnim koncentracijama masnih kiselina i triacilglicerola. Najočiglednije mere predostrožnosti za usporavanje oksidacije maslinovog ulja trebaju minimizirati izlaganje svetlosti i kiseoniku, čuvati ga na oko 10-15 °C i osigurati da su niski nivoi peroksida (ovaj poslednji uslov se ne može direktno kontrolisati za devičansko ili ekstradevičansko ulje).

Stabilnost DMU se obično pripisuje njegovom sastavu masnih kiselina, koji se odlikuje visokim odnosom mononezasićenih prema polinezasićenim masnim kiselinama i relativno visokim prirodnim sadržajem jedinjenja sa antioksidativnom aktivnošću, koji se uglavnom sastoji od tokoferola i fenolnih jedinjenja (Krichene i sar., 2010). Među tim komponentama, alfa-tokoferol je najaktivniji *in vivo* antioksidantni oblik vitamina E, a deluje preko dva mehanizma: mehanizma elektron donorskog razbijanja lanca, u kojem donira svoj fenolni vodonikov atom slobodnim lipidnim radikalima i mehanizam akceptorskog razbijanja lanca, koji uključuje jednokratno čišćenje ili gašenje singlet kiseonika. Iako se ne smatra standardnim parametrom kvaliteta jer nije jasno definisana, oksidativna stabilnost može biti vrlo korisna za procenu potencijalnog roka trajanja ulja.

Pakovanje maslinovog ulja treba da obezbedi njegovu distribuciju i zadržavanje kvaliteta u dužem vremenskom periodu. Tip materijala (plastika, staklo, limenke) uslovi skladištenja (svetlo, temperatura) i period skladištenja može značajno uticati na kvalitet maslinovog ulja. Nađene su promene u vezi sa kiselosti i karbonilnim jedinjenjima, smanjenim sadržajem alfa-tokoferola, nastankom isparljivih jedinjenja i senzorskim promenama ulja (Kanavouras i Coutelieris, 2006). Iako su postignuti značajni rezultati za faktore koji utiču na kvalitet, potrebna su dalja istraživanja odabirom različitih uslova i kombinacija skladištenja i procena sposobnosti novih polimera za produženje roka trajanja i ukupnog kvaliteta maslinovog ulja (Tavfik i Huighebaert, 1999).

Stabilnost DMU je uglavnom zbog njegove relativno niske masno kiselinske nezasićenosti i antioksidantne aktivnosti nekih neosapunjivih komponenti: istraživana je aktivnost alfa-tokoferola i njegovog efekta na oksidativnu osetljivost maslinovog ulja (Alonso- Salces i sar., 2010).

Proces oksidacije u ulju se vrši u tri faze: iniciranje, širenje i završetak. Na slici 28 je prikazano kako se oksidacija masnih kiselina u maslinovom ulju menja sa vremenom. Od kada je ulje dekantirano ili centrifugirano, nivo slobodnih masnih kiselina ili slobodna kiselost će postepeno opadati tokom skladištenja ulja (smanjenje slobodne kiselosti prikazano je u grafikonu nagnutom linijom od gornje leve do donje desne strane). Tokom faze inicijacije, slobodne masne kiseline prisutne u ulju postaju polako oksidovane, što dovodi do male količine peroksida.



**Slika 28.** Oksidacija maslinovog ulja (Morales i Przybylski, 2000)

Pošto se peroksidi raspadaju u druge supstance, ukupni nivo peroksida se ne povećava brzo. Tokom faze završetka, peroksidi se dalje raspadaju i daju mnoštvo brojnih jedinjenja lošeg okusa koje ljudi mogu detektovati, čak i ako su prisutni u izuzetno niskim koncentracijama – mg/kg (ispod delova na milion). Zbog toga, čak i kada se samo mali deo peroksida razgradi u neželjena jedinjenja, ulje će biti užeglog ukusa. To skraćuje rok trajanja ulja (Morales i Przibilski, 2000).

Potencijal da se maslinovo ulje prirodno pogorša i postane užeglo je inherentno njegovoj hemijskoj prirodi, pošto su nezasićene masne kiseline u ulju podložne razgradnji i oksidaciji. Međutim, maslinovo ulje ima i svoje prirodne antioksidante, što ometa auto-generaciju peroksida i povećava rok trajanja ulja. Produženje roka trajanja maslinovog ulja je važno za dobrobit potrošača, ali i za dugoročnu održivost proizvođača. Od senzorskih karakteristika maslinovog ulja se očekuje da budu visokog kvaliteta tokom skladištenja sve do potrošnje. Procena stabilnosti je važna za predviđanje roka trajanja i krajnjih rokova korištenja. Merenje svih komponenti kao što su profili masnih kiselina, fenolni sadržaj, hlorofil i tokoferoli može pomoći u predviđanju stabilnosti ulja. Novi testovi, pirofeofitin, kao i 1,2-diacilgliceroli pokazuju dobar potencijal za predviđanje i određivanje kvaliteta i starenja maslinovog ulja (Aiton i sar., 2012). Stabilnost devičanskog maslinovog ulja je povezana sa visokim nivoom mononezasićenih triacilglicerola i sa prisustvom prirodnih antioksidanata.

### 2.8.1. Test oksidativne stabilnosti - užeglosti

Test užeglosti je široko korišćena ubrzana simulacija skladištenja koja određuje otpornost ulja na oksidaciju. Otpornost na oksidaciju može pokazati oksidativni status ulja na početku testa. Takođe se ponekad koristi kao procena antioksidativnog kapaciteta ulja (Hudson i Levis, 1983; Dziedzic i Hudson, 1984), s obzirom da se pokazalo da oksidativna stabilnost korelira sa nekim merama antioksidativnog kapaciteta (Ninfali i sar., 2002). To važi samo u ograničenim situacijama i mora se voditi pažnja prilikom tumačenja rezultata iz ovih studija. Kapacitet antioksidativnog uzorka se odnosi samo na sposobnost određenih komponenti da vežu radikale, dok se njegova otpornost na oksidaciju oslanja na ovaj i na druge faktore.

Test oksidativne stabilnosti se izvodi na približno 120°C (povećana temperatura je neophodna za ubrzani test) i uključuje prodivavanje vazduha kroz uzorak ulja. Ovaj vazduh ekstrahuje sve volatilne komponente (proizvode oksidacije), deponujući ih u uzorku vode. Konduktivnost vode se stalno prati – i beleži se tačka u kojoj dostiže maksimalnu stopu promene (krajnja tačka). Vreme potrebno da se postigne krajnja tačka naziva se "indukciono vreme" ili indukciono period (Velasco i Dobarganes, 2002).

Neki autori su otkrili da rok trajanja ulja nije u velikoj meri povezan sa oksidativnom stabilnošću utvrđenom testom užeglosti (Dijkstra i sar., 2002), iako ostaje pogodna aproksimacija.

### 2.8.2. Test u sušnici (Schaal test)

Oksidativna stabilnost DMU korelira uglavnom sa koncentracijom hidrofilnih fenola i, naročito sa oleozidnim oblicima hidroksitirozola. Predominantna fenolna jedinjenja DMU imaju antioksidativni efekat koji se smanjuje redosledom: hidroksitirozol > oleuropein > tirozol (Chimi i sar., 1991). Publikovani su sinergijski efekti između oleuropeina, koji je derivat hidroksitirozola i alfa-tokoferola (Baldioli i sar., 1996).

Maslinovo ulje se smatra odličnim za aplikacije koje uključuju visoke temperature. Konkretno, ispunjava sve kriterijume stabilnih, zdravih ulja za prženje, tj. Bogato je sa mononezasićenim masnim kiselinama, nisko sa zasićenim i polinezasićenim masnim

kiselinama, sa vrlo niskim koncentracijama linolenske kiseline i praktično bez *trans* masnih kiselina (Kochhar, 2000).

Promene masti i ulja intenzivno su proučavane sa obzirom da temperatura masti i ulja može značajno porasti tokom procesa kuvanja/pečenja. Temperatura masne faze se dvostruko brže povećava tokom zagrevanja mikrotalasnom peći nego temperatura vode ili vode koja sadrži hranu pod sličnim uslovima (Dostalova i sar. 2005). Efekat mikrotalasnog grejanja na različite komponente u hrani može se znatno razlikovati od onih koji se dobijaju grejanjem u konvencionalnoj pećnici. Na primer, slobodni radikali se mogu formirati u visokim količinama putem izloženosti mikrotalasnog energiji, naročito kada se postigne visoka temperatura, kao što je slučaj kod masnih namirnica. Može se desiti i izomerizacija (formiranje *trans* oblika) dvostrukih veza masnih kiselina kao posledica izlaganja mikrotalasnog energiji (Albi i sar., 1997).

Kako se ekstrakcija EDMU vrši na kontrolisanim temperaturama nižim od 28°C, skladištenje ovog ulja zahteva istu pažnju. To mora da se uradi uz kontrolu temperature, koja može da se kreće od 10°C do 18°C: ispravna temperatura skladištenja je 14-15°C. Visoke temperature povećavaju brzinu hemijske varijacije i veliku fluidnost ulja. Ovaj poslednji efekat promovise propuštanje kiseonika. Kada se temperatura skladištenja smanjuje na 8-9°C, u uljima se mogu pojaviti bele naslage zbog kristalizacije triacilglicerola. Što je veći sadržaj zasićenih triacilglicerola, jači je proces kristalizacije. Korak od kristalizacije ulja do očvršćavanja na nižim temperaturama (3-4°C) malo povećava stabilnost ulja prema oksidaciji i daje značajne promene u senzornom profilu (Piscopo i Poiana, 2012).

### 2.8.3. Fluorescentni test (FLT test)

Iako je sposobnost maslinovog ulja da emituje fluorescentno zračenje poznata od početka ovog veka, tek 1925. godine, kada je živina sijalica opremljena Wood filterom postala komercijalno dostupna, ova je osobina primenjena za utvrđivanje autentičnosti maslinovog ulja (Dhere, 1933; Kiriakidis i Skarkalis, 2000). Kvalitet DMU se vremenom smanjuje kao posledica oksidativnih i hidrolitičkih degradacija koje takođe uzrokuju delimičan gubitak drugih vrednih sastojaka koji imaju efekte koji promovisu zdravlje (Manna i sar., 1997; Visioli i sar., 1998). Stoga bi bila dobra praksa da se konzumira DMU u toku jedne sezone, a pre sledeće sezone proizvodnje. Velika je briga industrije maslinovog ulja da sačuva pozitivne attribute ulja u vremenu od proizvodnje do flaširanja i do prodaje. U stvari,



neoptimalni uslovi skladištenja, kao što su oni koji se javljaju na policama prodavnica, mogu promeniti kvalitativne karakteristike proizvoda u meri u kojoj se mogu eventualno razlikovati od onih navedenih na etiketi, što bi, kako je to utvrđeno zakonom, trebalo sadržavati analitičke karakteristike ulja u vreme flaširanja. Prema tome, istraživanje o vrsti i veličini izmena kroz koje ulje prolazi tokom njegovog roka trajanja upoređivanjem promena koje se javljaju tokom skladištenja u svetlosti i u mraku mogu pružiti korisne informacije (Caponio i sar., 2005).

Još važnija je činjenica da se rok trajanja ulja može značajno razlikovati u zavisnosti od spoljašnjih parametara, pored temperature. Skladištenje ulja na svetlosti ili u tami, kao i razlike u raspoloživosti kiseonika zbog uslova pakovanja i skladištenja dovoljno su važni da se očekuju visoke razlike u otpornosti ulja na oksidaciju. Međutim, svaka metoda koja se primjenjuje za predviđanje roka trajanja ulja daje jednu vrednost koja predstavlja stabilnost pri datim uslovima (Velasco i Dobarganes, 2002).

Svetlosno zračenje je još jedan spoljni faktor koji se uzima u obzir u procesu oksidacije lipida tokom skladištenja jer inicira autoksidaciju i proizvodi foto-oksidaciju. Za posmatranje ovih efekata, ulje mora sadržati fotoosetljive supstance, kao što su hlorofili, aktivirani apsorpcijom svetlosti. Prevencija od izlaganja svetlosti prilikom čuvanja DMU je neophodna kako bi se produžio rok trajanja (Jadhav i sar., 1996); ulja koja su izložena svetlosti su manje stabilna od onih koja se drže u mraku (Caponio i sar., 2005). Međutim, DMU je obično zaštićeno od izlaganja svetlosnom zračenju od trenutka proizvodnje do izlaganja kao flaširano ulje na policama supermarketa. Od tog trenutka dalje optičke osobine ambalažnog materijala je od suštinskog značaja za očuvanje kvaliteta ulja (Gutierrez i sar., 1988; Mendez i Falkue, 2007). Uočeno je da čak i male doze UV zračenja mogu izazvati oksidaciju u DMU (Luna i sar., 2006). Hlorofil i karotenoidi igraju važnu ulogu u oksidativnoj aktivnosti obrađene hrane, zbog njihove antioksidativne prirode u mraku i pro-oksidantske aktivnosti u svetlosti.

Fluorescentna analiza maslinovih ulja koristi prednost prisustva prirodnih fluorescentnih komponenti, uključujući fenolna jedinjenja, tokoferole i feofitine i njihove proizvode oksidacije. Ulja su složeni sistemi i stoga konvencionalne fluorescentne tehnike, koje se oslanjaju na snimanje pojedinačnih emisija ili ekscitacionih spektara, često su nedovoljne ako se direktno primenjuju. U takvim slučajevima se koriste totalne luminescentne ili sinhronske metode skeniranja fluorescencije, poboljšavajući analitički potencijal merenja

fluorescencije. Sa doprinosima iz brojnih analiza, auto fluorescencija maslinovog ulja pokazuje brojne preklapajuće pojase. Ovakve složene spektre treba analizirati pomoću multivarijantnih i višeznačnih metoda. Analitička primena fluorescencije u maslinovim uljima uključuje diskriminaciju između različitih kategorija kvaliteta, detekciju falsifikovanja, određivanje autentičnosti devičanskih ulja, kvantifikaciju fluorescentnih komponenti, praćenje termičkih i foto-oksidacionih promena i promenu kvaliteta tokom skladištenja (Sikorska i sar., 2012).

## 3.0. MATERIJALI I METODE

### 3.1. Hemikalije

Svi standardi i reagensi korišćeni u ovoj studiji za određivanje fitokemikalija u DMU i njihove bioaktivnosti su nabavljani od (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, SAD, J.T. Baker, Deventer, Teugseveg 20 7400 AA Deventer, Holandija). Druge hemikalije i rastvarači su bili najvišeg komercijalnog kvaliteta (Merck, Darmstadt, Nemačka).

### 3.2. Biljni materijali

Studija je sprovedena na sortama maslina iz Libije *Roghiani*, *Hammudi* i *Endori*, prikazanih na slici 29. Uzorci maslina su ubrani početkom januara 2014 i 2015. godine, iz pet različitih geografskih regija, (Slika 30): Gharyan: 32 ° 10 'N, 13 ° 01' E; Tarhuna: 32 ° 26 'S, 13 ° 10' E; Msallata: 32 ° 35 'S, 14 ° 2 'E; Tripoli: 32 ° 53' S, 13 ° 10 'E i Q. B. Ghashir: 32 ° 40' S, 13 ° 10 'V. Prosečni nivo padavina registrovan je oko 383 mm godišnje, sa srednjom temperaturom od oko 27°C. Tri uzorka ekstra devičanskog maslinovog ulja poreklom iz Italije, Španije i Grčke i uvezeni su u R. Srbiju i kupljeni u maloprodaji. Svrha ispitivanja ovih uzoraka bila je upoređivanje kvalitativnih pokazatelja sa rezultatima ispitivanja uzoraka iz Libije.



Slika 29. Ispitivane sorte maslina u Libiji (FAO STAT, 2016)



Slika 30. Područja uzgoja ispitivanih sorti maslina u Libiji

### 3.3. Tehnološki proces proizvodnje DMU

#### 3.3.1. Berba maslina

Plodovi maslina roda 2014. i 2015. god. bili su ručno prikupljeni početkom novembra, a zatim su isporučeni u plastičnim sanducima ili vrećama u skladište (Slika 31) za skladištenje uljarica (2-3 t/24h) i obrađeni nakon tri dana na proizvodnoj liniji Rapanelli (Italija, Foligno).

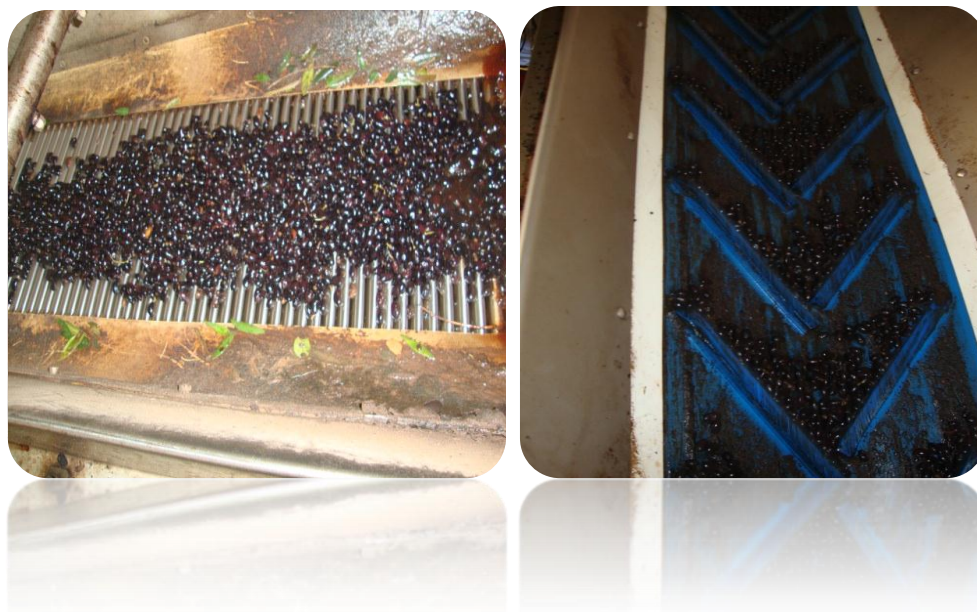


**Slika 31.** Sakupljanje plodova maslina

#### 3.3.2. Prerada maslina – proizvodnja ulja

Tehnološki proces prerade maslina obuhvatio je sledeće faze:

- Čišćenje i pranje maslina. Ovaj proces podrazumeva uklanjanje grana i lišća maslina i svih nečistoća stranog porekla koje su prisutne u masi plodova nakon branja, Slika 32. Temperatura vode za pranje je iznosila 25-28°C. Posle čišćenja i pranja, masline su usmerene na uređaj za mlevenje na pokretnoj traci (sa preprekama).



**Slika 32.** Uređaj za čišćenje i transport maslina

- Mlevenje se radi na temperaturi od 35-40°C u trajanju od 1-1,5 h, u zavisnosti od količine maslina, Slika 33.



**Slika 33.** Uređaj za mlevenje maslina

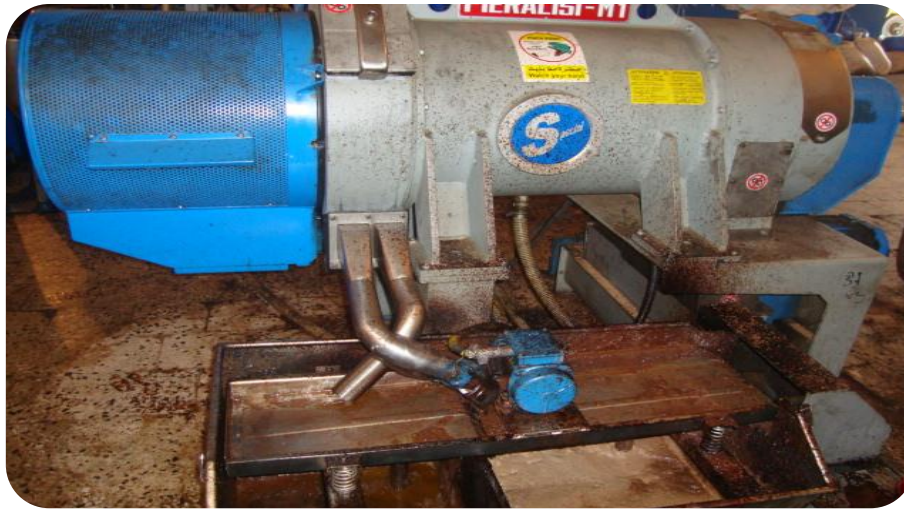


- Dodavanje vode i malaksacija. U pastu dobijenu nakon mlevenja, dodataje se voda na temperaturi od 40-60°C i meša se 30-40 minuta, tokom čega je moguće odvojiti kapi ulja. Količina dodane vode iznosi 500-1000 l/24h, što zavisi od "mekoće" paste, odnosno stepena zrelosti maslina, Slika 34.



**Slika 34.** Doziranje vode i malaksacija paste

- Razdvajanje čvrste i tečne faze. Ova operacija se vrši pomoću centrifugalnog separatora (5,000-7,000 o/min.) u vremenu od 5-10 min. Čvrsta faza predstavlja komadiće samlevene masline, Slika 35.



Slika 35. Centrifugalni separator za razdvajanje čvrste i tečne faze

- Izdvajanje ulja. Poslednji korak je odvajanje ulja iz smeše: voda-ulje pomoću centrifugalnog separatora (2,450-3,000 o/min.) pri čemu se čisto ulje odvaja od vode, Slika 36.



Slika 36. Separacija/izdvajanje ulja pomoću separatora



Odvojeno ulje je filtrirano, punjeno u staklene boce i do testiranja se čuvalo u frižideru na temperaturi od oko 8°C. Neposredno pre samog testa, uzorci su temperirani na sobnu temperaturu u trajanju od 24 sata.

### 3.4. Analitičke metode ispitivanja

#### 3.4.1. Određivanje bioaktivnih komponenata u DMU

##### 3.4.1.1. Sadržaj ukupnih fenola (TPC)

Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja, izraženih u mg/kg ulja, određen je prema Haiyan i sar. (2007), kako sledi:

Odmeri se u Erlenmeier posudu od 100 ml 3 g ulja, rastvori se u maloj količini heksana i kvantitativno prenese u levak za odvajanje, tako da ukupna količina heksana bude 15 ml. Fenoli se ekstrahuju 3 puta sa po 5 ml metanola, uz mešanje po 2 minuta za svaku ekstrakciju. Ekstrakti se ostavljaju preko noći i zatim se opru sa 25 ml heksana.

Određena zapremina ekstrakta (6 ml za maslinovo ulje) je pipetirana u odmerni sud od 10 ml i dodato je 0,5 ml razblaženog Folin-Ciocalteu reagensa (ovaj reagens se priprema neposredno pre upotrebe jer je nestabilan, mešanjem 1 dela zapremine originalnog Folin-Ciocalteu reagensa i 2 zapremine destilovane vode). Tada su ekstrakti reagensa ekstrahovani i ostavljeni da stoje 3 minuta. Zatim se dodaje 1 ml sveže pripremljenog zasićenog rastvora natrijum karbonata (5 g natrijum karbonata rastvorenog u 50 ml destilovane vode) i dopuni do oznake sa destilovanom vodom. Uzorak se ostavi da stoji 1 sat, a zatim se meri apsorbanacija na talasnoj dužini od 725 nm u odnosu na slepu probu koja se priprema na isti način, međutim, umesto ekstrakta, uzima se metanol.

Rezultati određivanja se dobijaju pomoću kalibracione krive, pripremljene rastvorom galne kiseline u rasponu koncentracije od 0÷100 mg/10ml.

Sadržaj ukupnih fenola, izražen kao galne kiseline-GAE dobija se na sledeći način:

$$\text{TPC (mg/kg)} = [(97,312 \times A_{725\text{nm}} - 0.4865) / m] \times 16,667$$

gde je:

TPC - je izražen kao ekvivalenti galne kiseline (GAE) u mg/kg ulja;

$A_{725\text{ nm}}$  - je vrednost apsorbancije rastvora na talasnoj dužini od 725 nm;  
m - je masa uzorka (g).

### 3.4.1.2. HPLC analiza fenolnih jedinjenja

Fenolna jedinjenja iz uzoraka maslinovog ulja su ekstrahovana prema modifikovanoj proceduri Gouvinhas i sar. (2014). Oko 800  $\mu\text{l}$  uzorka precizno je preneto u vial od 4 ml i razblaženo sa 400  $\mu\text{l}$  heksana. Smeša je ekstrahovana sa 600  $\mu\text{l}$  80% metanola uz energičnim mućkanjem na vorteksu. Nakon centrifugiranja (10 min pri 2500 obrtaja), vodeni metanolni sloj je prebačen u normalni sud od 2 ml, a sloj ulja je još dva puta ekstrahovan sa 80% metanolom. Spojeni ekstrakti su dopunjeni sa 80% metanola do finalne zapremine od 2 ml, filtriran kroz 0,45 mm regenerisanog celuloznog membranskog filtera i analiziran pomoću LC-DVD-MS / MS. Svi uzorci pripremljeni su u triplikatu.

Sadržaj odabranih 38 široko zastupljenih sekundarnih biomolekula određen je LC-DAD-MS/MS metodom, po proceduri Orčić i sar. (2014). Injektovano je 5  $\mu\text{l}$  uzorka. Razdvajanje je izvršeno na Zorbax Eclipse XDB-C18 koloni (50 mm  $\times$  4.6 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) termostatiranoj na 50°C. Komponente su eluirane mobilnom fazom na bazi 0,05% vodenog rastvora mravlje kiseline (A) i metanola (B), pri protoku od 1,0 ml/min, u gradijentnom modu: 0 min 30% B, 6 min 70%, 9 min 100%, 12 min 100%, vreme re-ekvilibracije 3 min. Za potrebe eventualne potvrde identiteta, praćen je UV/VIS signal u opsegu 190–700 nm. Efluens je bez deljenja toka prosleđen na MS/MS detektor. Parametri jonskog izvora bili su: pritisak nebulajzera 50 psi, temperatura i protok gasa za sušenje ( $\text{N}_2$ ) 350°C i 10 l/min, napon na kapilari 4000 V, negativni polaritet. Jedinjenja su praćena u dinamičkom SRM modu (*selected reactions monitoring*), uz optimizovane parametre.

### 3.4.1.3. Ukupni tokoferoli i tokotrienoli (TTC)

Sadržaj ukupnih tokoferola u ulju je određen spektrofotometrijskom metodom (Dimić i Turkulov, 2000; Pacquot i sar., 1967) na osnovu redukcionih svojstava tokoferola. Naime, tokoferoli redukuju  $\text{Fe}^{3+}$  iz rastvora  $\text{FeCl}_3$  u prisustvu 2-2'dipiridila i stvaraju kompleks crvene boje sa  $\text{Fe}^{2+}$  jonima. Pošto je reakcija veoma osetljiva, svi ostali antioksidanti i redukovane supstance, osim tokoferola, moraju biti uklonjeni iz ulja, a određivanje se vrši iz neosapunjivih supstanci. Prvo se radi saponifikacija ulja i ekstrakcija neosapunjivih materija,

koje su rastvorene u benzenu. Zatim se iz benzenovog rastvora neosapunjivih materija razvija bojena reakcija čija se apsorbancija meri na talasnoj dužini od 520 nm uz slepu probu. Sadržaj ukupnih tokoferola, izražen u mg po kg ulja, izračunava se prema sledećoj jednačini:

$$\text{Sadržaj ukupnih tokoferola (mg/kg)} = \frac{(A_1 - A_0)}{0.397 \times m} \times 250$$

gde je :

$A_1$  - apsorbancija uzorka;

$A_0$  - apsorbancija slepe probe pripremljena na isti način kao i test, ali bez ulja;

$m$  - masa uzorka za ispitivanje, u gramima;

#### 3.4.1.3.1. HPLC analiza tokoferola

Određivanje tokoferola vršeno je pomoću HPLC (Waters, M600E, SAD) na C18 Nucleosil 50-5 koloni obrnute faze sa detekcijom fluorescencije koristeći metodu zasnovanu na postupku Carpenter (1979) sa neznatnim modifikacijama. Primenjena je sledeća procedura: na 0,5 ml ulja dodato je 20 ml/100 ml etanola, 0,12 g pirogalola i 30 ml rastvora KOH (8,9 mol/l), nakon čega je rastvor zagrejan 30 min na 60°C sa refluksom i mešanjem. Kada je proces saponifikacije završen, sadržaj je ohlađen i prebačen u odmerni sud (50 ml) i dopunjen etanolom. Alikvot od 5 ml se zatim prenese u levak za odvajanje i doda se 5 ml hladne deionizovane vode i 5 ml heksana. Smeša je mućkana na vorteksu u trajanju od 3 min, a zatim se 4 ml ovog rastvora osuši pod strujom azota. Suvi ostatak je zatim rastvoren u 4 ml metanola. Uzorak je zatim filtriran pomoću filtera membranskog injektora i ubrizgan u HPLC sistem. Mobilna faza je bila 95 ml/100 ml metanola sa brzinom protoka 1.2 ml/min. Detekcija je obavljena fluorescentnim detektorom (Shimadzu RF-535, Japan) sa ekscitacionom talasnom dužinom na  $\lambda = 290$  nm, i talasnom dužinom emisije  $\lambda = 330$  nm. Relativno retenciono vreme i maksimalne vrednosti apsorbancije u datom relativnom retencionom vremenu korišćene su za identifikaciju tokoferola u uzorcima ulja.

### 3.4.1.4. Sastav masnih kiselina (MK)

Metil estri masnih kiselina su pripremljeni primenom standardne metode ISO 5509 (2000). FA kompozicija je određena metodom gasne hromatografije ISO 5508 (1990) na instrumentu Hewlett-Packard (HP) 5971. Uslovi za hromatografsko određivanje su bili: kapilarna kolona Supelco SP - 2560 dužina 100m, unutrašnji prečnik 0,25mm i debljina filma stacionarne tečne faze 0.20 mm. Temperaturni injektor na 230°C, početna temperatura kolone je održavana 100°C 5min, nakon čega je usledilo povećanje temperature s brzinom od 6°C/min do konačne temperature od 240°C koja je održavana za narednih 20 min. Temperatura masene spektrometrije iznosila je 180°C. Veličina uzorka je bila 1µl. Helijum je korišćen kao gas nosioc sa protokom od 0,58 ml/min. Kvalitativno određivanje je izvršeno na osnovu masenog spektra i retencionog vremena. Kvantitativno određivanje je izvršeno korišćenjem modifikovane metode 100%, gde su korektivni faktori korišćeni za definisanje standardnog rastvora smeše metil estara od strane proizvođača Supelco (37 komponenata FAME Mik, 47885 -U).

### 3.4.1. 5. Determinacija antioksidativne aktivnosti DMU

#### 3.4.1.5.1 Antioksidativni kapacitet DPPH testom

Antioksidativni kapacitet ekstrakata DMU u ovoj disertaciji dobijen je procenom efekta uklanjanja slobodnih radikala na radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), prema postupku koje su predložili Martinez i Maestri (2008). Apsorbancija se određuje na 515 nm koristeći toluen kao slepa proba.

Sposobnost hvatanja DPPH radikala, tj.  $AC_{DPPH}$ , izračunava se prema formuli:

$$AC_{DPPH} (\%) = [A_C - A_S / A_C] \times 100$$

Gde je:

- $A_C$  je apsorbancija slepe probe,
- $A_S$  je apsorbancija uzorka.

Vrednosti  $EC_{50}$  izračunate kao koncentracije ulja neophodne za smanjenje početne DPPH• apsorpcije za 50% od početne vrednosti. Niža vrednost  $EC_{50}$  ukazuje na veći antiradikalni kapacitet. Vrednosti  $EC_{50}$  (mg/ml) su izražene u antioksidativnom kapacitetu (AC) kao  $1/EC_{50}$  (ml/mg).

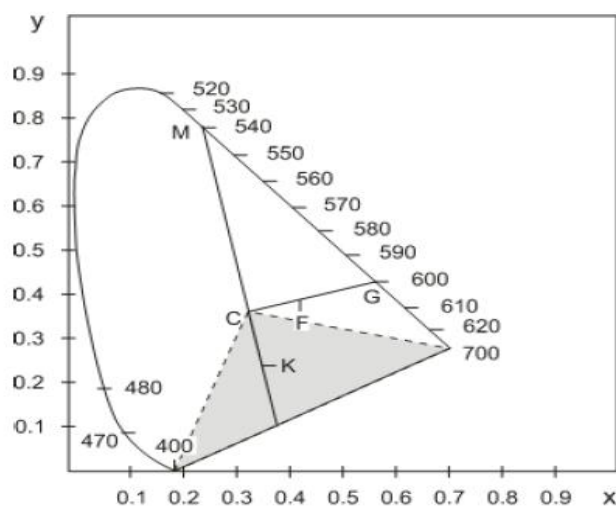
### 3.4. 2. Ispitivanje senzorskih osobina ulja

Ispitivanje senzornih osobina ulja izvršeno je tročlanom komisijom primenom deskriptivnog sistema bodovanja zasnovanim na najvažnijim parametrima kvaliteta, kao što su: boja, izgled, miris, ukus i aroma, uključujući uputstva međunarodne metodologije senzornog ispitivanja maslinovog ulja COI/T.20 Doc. br. 15/Rev. 6, 2013. Senzorski profili DMU su prikazani šematski, kako bi se upoređivale razlike u uzorcima.

#### 3.4.2.1. Kolorimetrijsko ispitivanje boje (vrednosti $CIE L^*$ , $a^*$ , $b^*$ )

Boja je merena na svakom uzorku u dva ponavljanja.  $CIE L^*$   $a^*$   $b^*$  i  $CIE Y-x$  i koordinate boja ( $CIE$ , 1976) su određeni pomoću Minolta Chroma Meter CR-400 (Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan) u osvetljenju D-65, standardni ugao od  $2^\circ$  i otvor od 8 mm na mernoj glavi. Instrument je prethodno zagrejan u skladu sa uputstvima proizvođača i kalibriran pomoću standardne procedure.  $CIE L^*$  - vrednost označava svetlost (crno-bela osovina),  $CIE a^*$  - vrednost ukazuje na udeo crvene boje (crveno-zeleni spektar) i  $CIE b^*$  vrednost - označava udeo žute boje (žuto-plavi spektar). U  $CIE Y-x$  i trodimenzionalnom sistemu karakteristike boje su prikazane u tri veličine:  $Y$ -sjaj (%),  $l$  - dominantna talasna dužina (nm) i čistoća boje (%).

Vrednosti:  $CIE L^*$   $a^*$   $b^*$ ,  $CIE Y-x$  i dominantna talasna dužina se čita direktno sa aparata, a čistoća boje izračunava se na osnovu  $x$  i koordinata iz hromatografskog dijagrama kako sledi (Slika 37):



Slika 37. Određivanje čistoće boje u CIE sistemu

$$\text{Čistoća boje (\%)} = CF/CG \times 100$$

### 3.4.2.2. Određivanje transparentije

U cilju dobijanja određenih parametara za definisanje boje, providnost/bistrina ulja je merena u odnosu na ugljen tetrahlorid u kiveti širine 1 cm i na talasnoj dužini od 455 nm (Dimić i Turkulov, 2000).

Sadržaj pigmenata i merenja transparentije sprovedeni su korišćenjem UV/VIS spektrofotometra (model T80 +, PG Instruments Limited, London).

### 3.4.2.3. Prirodni pigmenti

#### 3.4.2.3.1. Hlorofili

Sadržaj hlorofil pigmenata određen je spektrofotometrijskom metodom (Pokorny i sar., 1995). Apsorbancija uzoraka čistog ulja merena je u kiveti širine 10 mm na talasnim dužinama od 630, 670 i 710 nm u odnosu na vazduh. Sadržaj ukupnih hlorofilnih pigmenata izračunavan je pomoću formule:

$$\text{Ch} = 345.3 \times [A_{630} - (A_{670} + A_{710})/2] \times 10$$

gde je :

Ch - sadržaj hlorofil pigmenata u mg feofitina-a u 1 kg ulja,

$A_{670}$  - vrednost apsorbancije nerazređenog uzorka na talasnoj dužini od 667 nm,

$A_{630}$  - vrednost apsorbancije nerazređenog uzorka na talasnoj dužini od 630 nm,

$A_{710}$  - vrednost apsorbancije nerazređenog uzorka na talasnoj dužini od 710 nm

#### 3.4.2.3.2. Karotenoidi

Ukupan sadržaj karotenoida određen je prema postupku koji je opisao Minguez Mosquera i sar., (1990). Na talasnoj dužini od 470 nm meri se apsorbancija rastvora pripremljenog rastvaranjem 7,5 g ulja u 25 ml cikloheksana. Sadržaj karotenoida izračunava se prema formuli:

$$\text{Ukupni katorenoidi (mg/kg)} = \frac{A_{470\text{nm}} \times 10^3 \times 25}{2000 \times 7,5}$$

gde je:

$A_{470\text{nm}}$  - izmerena apsorpcija na 470 nm

#### 3.4.2.3.3. Sadržaj $\beta$ -karotena

Ukupan sadržaj karotenoida određen je standardnom metodom (British Standard, 1977) merenjem apsorpcije ulja rastvorenog u cikloheksanu na talasnoj dužini od 455 nm. Određuje se procenat ukupnih karotenoida izraženih kao  $\beta$ -karoten.

Dodati 0,5-1 g ulja u odmernu posudu od 10 ml i dopuniti do oznake cikloheksanom. Spektrofotometrom izmeriti apsorpciju rastvora na 445 nm. Ukupan sadržaj karotenoida, izražen kao  $\beta$ -karoten, izračunava se na osnovu sledeće formule:

$$\text{Ukupni karotenoidi (mg/kg)} = \frac{383 \times A_{445}}{d \times c}$$

gde je:

$A_{445}$  - izmerena apsorpcija na 445 nm,

$d$  - širina kivete (cm),

$C$  - koncentracija ulja u rastvoru za merenje.

### 3.4.3. Fizičko-hemijske karakteristike DMU

#### 3.4.3.1. Indeks refrakcije/prelamanja

Za određivanje indeksa refrakcije po Abbe-u korišćen je refraktometar (SRPS ISO 6320: 2000). Ovaj aparat je dobar za merenje indeksa refrakcije sa preciznošću  $\pm 0,0001$ , raspon  $n_D = 1,300$  do  $1,700$ . Temperatura za merenje indeksa refrakcije je  $20^\circ\text{C}$ .

#### 3.4.3.2. Specifična apsorpcija

Apsorpcija na 232 i 270 nm određena je korišćenjem UV-VIS spektrofotometra (UV Aquarius - 2450 UV-Visible spectrophotometer, Japan). Čistoća maslinovog ulja može se odrediti iz tri parametra (SRPS ISO 3656. 2002).

**K232** Absorbancija na 232 nm

**K270** Absorbancija na 270 nm

$$K^{1\%}_{270\text{nm}} = 0,25 \times \frac{A_{270\text{nm}}}{m}$$

$$K^{1\%}_{232\text{nm}} = 0,25 \times \frac{K_{232\text{nm}}}{m}$$

### 3.4.3.3. Određivanje relativne gustine

Za ovu analizu primenjena je metoda IUPAC 2,101, 2008. Sa odgovarajućim faktorima konverzije, rezultati se izražavaju kao relativna gustina na 20 °C/voda. Izračunava se na osnovu sledeće formule:

$$D = \frac{w_1 - w_2}{w_3}$$

gde je:

$w_1$  - masa uzorka (g)

$w_2$  - masa blank uzorka (20,3643)

$w_3$  - masa vrednosti vode (25,7657)

### 3.4.3.4. Jodni broj (Jbr)

Jodin broj je izračunata iz sastava masnih kiselina (%) na osnovu sledeće formule (Krishnamurthy i Kellens, 1996):

$$\text{Jbr (g/100g)} = (16:1 \times 0,95) + (18:1 \times 0,86) + (18:2 \times 1,732) + (18:3 \times 2,616)$$

gde je:

- 16: 1 palmitinska kiselina. 18: 1 oleinska kiselina, 18: 2 linolna kiselina i 18: 3 linolenska kiselina – sadržaj svih masnih kiselina u %

### 3.4.3.5. Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidni broj (Pbr) ulja se određuje standardnom jodometrijskom metodom (SRPS EN ISO 3960: 2011), koja određuje proizvode nastale oksidacijom ulja ili masti. Metoda se



zasniva na reakciji između hidroperoksida i peroksida ulja sa jodovodoničnom kiselinom, koja se oslobađa iz KJ u kiseloj sredini. Proizvod reakcije oslobađa elementarni jod, čija količina je direktno proporcionalna količini prisutnog hidroperoksida. Količina izdvojenog joda određuje se titracijom sa  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Peroksidni broj, izražen u milimolovima po kg uzorka, izračunava se prema sledećoj jednačini:

$$\text{Pbr (mmol/kg)} = \frac{V \times C \times 5}{m}$$

gde je:

V - zapremina rastvora natrijum tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (ml) koji se koristi za titraciju uzorka

C - tačna koncentracija (mol/l) korišćenog rastvora natrijum tiosulfata ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )

m - masa (g) uzorka za ispitivanje.

#### 3.4.3.6. Kiselinski broj (Kbr)

Kiselinski broj je određen prema metodi EN ISO 660. 2003. U prvom koraku, potrebno je izmeriti uzorak za ispitivanje u Erlenmajerovoj bočici i rastvoriti ga u 50 - 150 ml neutralisane smeše dietil etra i etanola. Titracija je izvršena korišćenjem rastvora KOH koncentracije 0,1 mol/l. Titracija je završena kada se u rastvoru pojavljuje blago-roza boja fenolftaleina. Kiselinski broj, Kbr, je izražena kao mg KOH po 1 g ulja i može se izračunati pomoću formule:

$$\text{Kbr (mg KOH/g)} = \frac{56,1 \times V \times C}{m}$$

gde je:

V = zapremina u (ml) standardnog kalijum hidroksida (KOH) koja se koristi za titraciju do završne tačke titracije uzorka;

C = tačna koncentracija (mol/l) standardnog rastvora KOH;

m = masa (g) uzorka.

#### 3.4.3.7. Saponifikacioni broj (Sbr)

Uzorak za ispitivanje je kuvan sa rastvorom etanolnog kalijum hidroksida (KOH). Nakon što se reakcija završi, višak KOH (koji se ne koristi za saponifikaciju) se određuje prema EN

ISO 6885. 2002 titracijom sa HCl u prisustvu fenolftalena kao indikatora. U isto vreme i pri istim uslovima, takodese priprema i slepa proba. Koristeći slepu probu može se odrediti količina baze koja je potrošena za saponifikaciju uzorka ulja.

Vrednost saponifikacije (Sbr) izražava se kao mg KOH po 1 g uzorka i može se izračunati koristeći formulu:

$$\text{Saponifikacioni broj (Sbr)} = \frac{(V_0 - V_1) \times F \times C \times 56,1}{M}$$

gde je:

$V_0$  - zapremina (ml) standardnog HCl rastvora za titraciju slepe probe;

$V_1$  - zapremina (ml) standardnog HCl rastvora za titraciju uzorka;

C - tačna koncentracija (mol/l) HCl za titraciju;

F - faktor koncentracije (1,0808);

m - masa (gram) uzorka za ispitivanje.

#### 3.4.3.8. Neosapunjive materije

Neosapunjive materije se mogu odrediti gravimetrijskom metodom (SRPS ISO 3596:2000). Uzorci se kuvaju u alkalnom rastvoru, što saponifikuje ulje. Zatim, neosapunjive materije iz rastvora mogu se ekstrahovati pomoću heksana. Posle uklanjanja rastvarača, ostatak se osuši, dok masa ne postane konstantna i onda se izmeri. Sadržaj neneosapunjivih materije, izražen kao procenat mase uzorka, može se izračunati koristeći formulu:

$$\text{Neosapunjive materije \%} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

gde je:

$m_2$  - masa (g) ostatka nakon sušenja;

$m_1$  - masa (g) uzorka za ispitivanje.

### 3.4.3. 9. Sadržaj vlage

Sadržaj vlage i isparljivih materija (EN ISO 662: 2000), izražen je kao maseni procenat i jednak je:

$$\text{Sadržaj vlage \%} = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} \times 100$$

gde:

$m_1$  - je masa u gramima prazne posude pre sušenja;

$m_2$  - je masa, u gramima posude i uzorka pre sušenja;

$m_3$  - je masa, u gramima, posude i uzorka nakon sušenja

### 3.4.3.10. Anisidinski broj (Abr)

Anisidinski broj ulja određuje se standardnom metodom (SRPS EN ISO 6885: 2011), koja direktno određuje sadržaj neisparljivih karbonilnih jedinjenja, tj. sekundarnih proizvoda oksidacije. Određivanje ove vrednosti bazirano je na reakciji p-anisidina sa višim nezasićenim aldehydima, čime se formiraju Schiffove baze koje apsorbuju svetlost u UV oblasti na talasnoj dužini od 350 nm. Povećanje apsorbancije ulja u izooktanu na 350 nm zbog reakcije sa p-anisidinom je mera količine prisutnih karbonilnih jedinjenja. Anisidinski broj, izražen kao 100 puta veća vrednost apsorbancije 1% rastvora u reakciji sa p-anisidinom na 350 nm, izračunava se prema sledećoj jednačini:

$$\text{Abr (100 } A_1 \%_{350\text{nm}}) = 25 \times \frac{[(1,2 A_1 - A_2) - A_0]}{m}$$

gde je:

$A_0$  - apsorbancija rastvora uzorka bez p-anisidin reagensa u poređenju sa izooktanom;

$A_1$  - apsorbancija uzorka rastvora sa p-anisidin reagensom u odnosu na izooktan;

$A_2$  - apsorbancija slepe probe, u poređenju sa izooktanom;

$m$  - masa uzorka za ispitivanje, u gramima;

### 3.4.4. Ispitivanje oksidativne stabilnosti ulja - rok trajanja

#### 3.4.4.1. Fluorescentni test

Fotostabilnost devičanskih maslinovih ulja testirana je korišćenjem testa fluorescentne svetlosti pod uslovima konstantne temperature i osvetljenosti od 4x40W. Za testiranje promena koje mogu nastati pod uticajem svetlosti, ulje se filtrira, napunjeno je u providne i tamno smeđe staklene posude, u bočice od 40 ml zapremine, sa plastičnim zatvaranjem bez prisustva vazduha. Nakon toga, stalno je osvetljeno fluorescentnim svetlom, sa dve neonske cevi sa obe strane kutije, kao što je prikazano na Slici 38, istovremeno nadgledajući temperaturu koja se kretala od 25 do 29°C. Rastojanje uzoraka od svetlosnog izvora iznosilo je oko 10 cm.



**Slika 38.** Uslovi osvetljenja uzoraka fluorescentnim svetlom

#### **3.4.4.2. Rancimat test**

Oksidativna stabilnost na višim temperaturama (indukcioni period) ulja je testirana pomoću aparata Metrohm Rancimat 743 (pri temperaturi od 110°C, protok vazduha 18-20 l/h (ISO 6886; Dimić i Turkulov, 2000).

#### **3.4.4.3. Schaal-Oven test**

Da bi se testirala promena boje i stabilnosti u temperiranom ulju u uslovima uticaja na umereno povišenoj temperaturi, opisan je postupak testiranja prema Schaalu, koji je opisao Pokorni i sar. (1985), kao i Dimić i Turkulov (2000). Prema opisanoj metodologiji, temperatura ulja je održavana na  $63 \pm 2^\circ\text{C}$  u kontaktu sa vazduhom, ali bez uticaja svetlosti, u trajanju od 28 dana kontinuirano. Iz svakog uzorka, u otvorenoj staklenoj Petri posudi (7 komada po uzorku), 9 cm u prečniku i 2 cm u dubini, naspe se 50 ml ulja. Zatim se Petri posude postavljaju u zagrejanu sušnicu u kojoj se unapred podešava odgovarajuća temperatura. Prema predviđenom planu testa, nakon 2, 5, 7, 9, 14, 21 i 28 dana, vadi se Petri posuda iz koje se ulje prelije u čašu, homogenizuje se mešanjem i podvrgava se potrebnim analizama. Uzorci se nakon temperiranja čuvaju u frižideru.

### **3.5. Statistička obrada rezultata**

Svi rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija ( $n = 3$ ). Dva faktorijalna eksperimentalna dizajna (ANOVA) primenom Tukey testa korišćena su za utvrđivanje da li su rezultati statistički značajni ( $P \leq 0,05$ ). Svi podaci su analizirani korišćenjem softvera Microsoft Office Excel 2007.

## 4.0. REZULTATI I DISKUSIJA

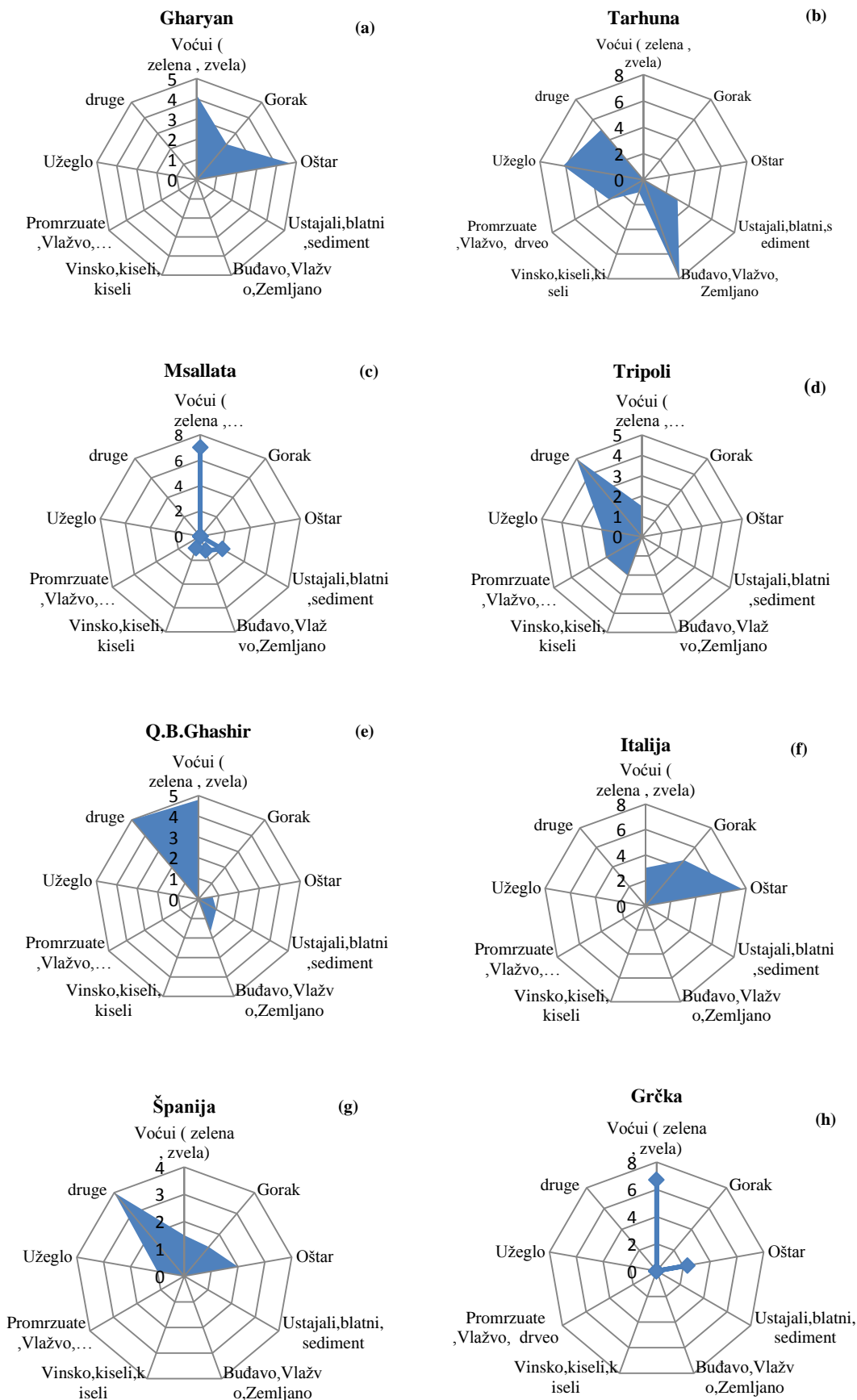
### 4.1. SENZORSKE KARAKTERISTIKE ULJA

#### 4.1.1. Evaluacija senzorskih osobina

Ekstra devičansko maslinovo ulje (EDMU) je najcenjenije ukoliko je dobijeno iz svežih i zrelih plodova masline (*Olea europea* L.) dobrog kvaliteta i poseduje specifičan i kompleksan ukus koji se ceni od širokog kruga potrošača i gurmana (Kiritsakis i Min, 1989). Ove senzorske osobine, međutim, smanjuju se tokom skladištenja zbog oksidacionih procesa uzrokovanih vazduhom, toplotom, svetlom ili prisustvom metala. Oksidacija je veoma složen fenomen i isparljiva jedinjenja koja su odgovorna za prijatan ukus mogu da se, promene dajući neprijatan i loš ukus (Morales i sar., 1997; Angerosa i sar., 1999).

U ovoj studiji sprovedenoj sa DMU iz Libije senzorska svojstva karakterišu osrednje izražen maslinasti voćni ukus, sa elementima ukusa zelene trave i nagoveštajima memljivog, ustajalog, vinskog, vlažnog, drvenog, užeglog i drugih ukusa i sa srednjim intenzitetom gorkih i oštrih nota (slika 39). To je bila godina proizvodnje 2014, koja je dala DMU ulja koja su pokazala tri pozitivna deskriptora: voćni, gorki i oštri.

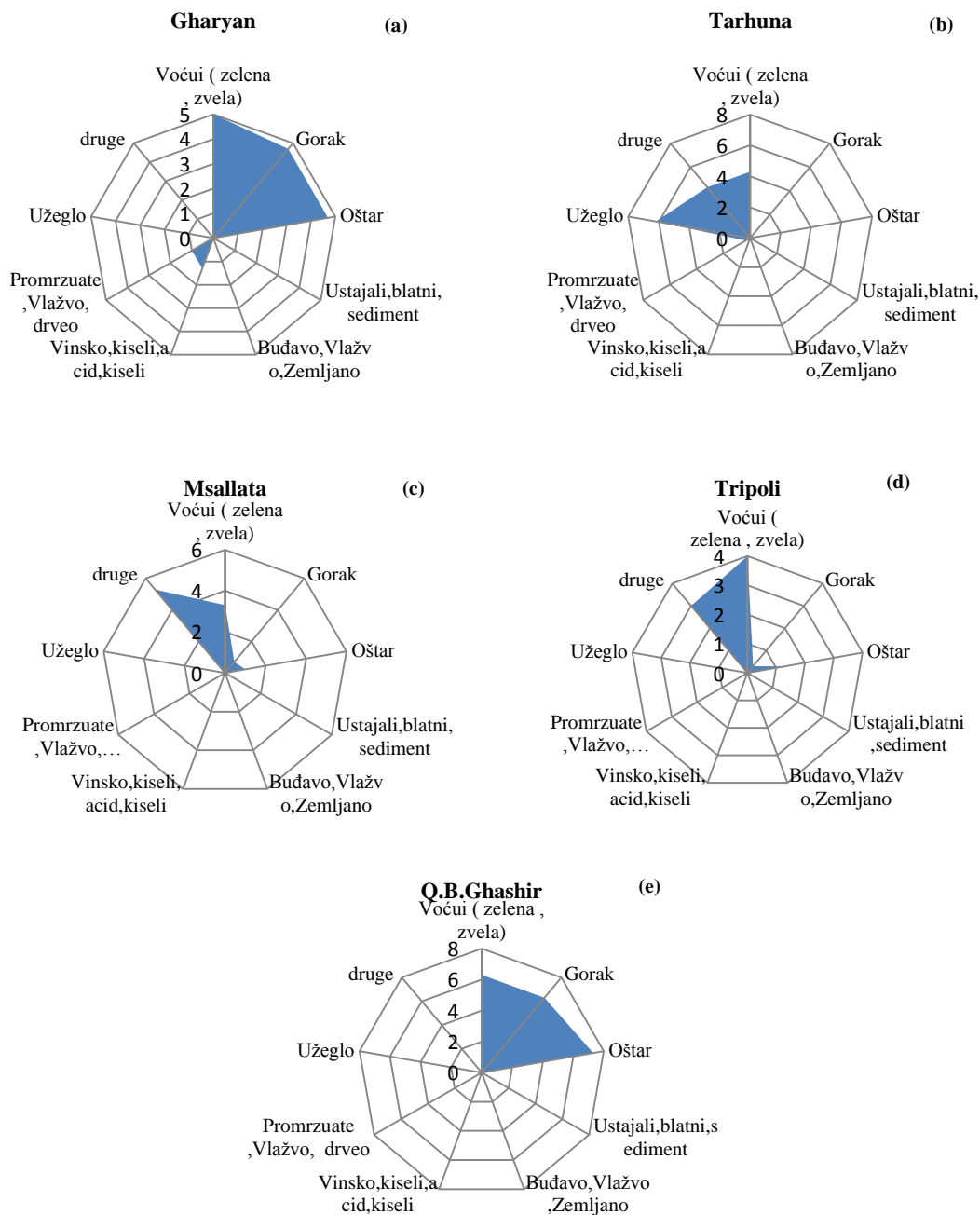
Tri uzorka maslinovog ulja (G14, I14 i GR14) su pokazala odsustvo bilo kakvih defekata i imali su tipični voćni ukus koji potrošači preferiraju. Nezavisno od sorte maslina, dva uzorka su klasifikovana kao ekstra devičanska kategorija. Senzorska analiza ulja G14, I14 i GR14 pokazuje intenzivni voćni ukus i ima dobro izbalansirane gorke i pikantne ukuse verovatno zbog prisustva aglikona oleuropeina i ligostrozida. Međutim, senzorski profil ulja TR14, T14 i M14 je imao druge attribute. M14 je bio sličan onom kod S14 u voćnom ukusu, ali i sa manje gorkim i oštrim atributima u poređenju sa drugim DMU-ima (slika 39). Dok su u godini berbe 2015, dva maslinova ulja (G15, Q15) klasifikovana kao ekstra devičanska kategorija, dotle su DMU T15, M15 i TR15 imali visoke vrednosti u drugim atributima (slika 40). Međutim, senzorski profil T15, M15 i TR15 ulja je bio sličan onom kao za G15 i Q15 u voćnom ukusu, ali je imao manje gorkih i oštrih osobina.



Slika 39. Senzorski profili DMU iz berbe 2014. godine



U stvari, jasno se uočava da je senzorski kvalitet rezultat sinergističkog uticaja različitih komponenti ulja na čiji su sastav uticali geografski uslovi područja rasta maslina i vrsta sorte (Pardo i sar., 2011). Chtourou i sar. (2013) proučavali su DMU iz Tunisa (Chemlali sfaks i Arbekuina) i ovi autori su otkrili da su dva uzorka klasifikovana kao ekstra devičanska kategorija. Senzorski profil Arbekuina ulja bio je sličan onome kod Chemlali sfaks: voćni, dok su oštar i gorak, bili samo varirajući. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Issaoui i sar. (2010) su prijavili senzorske karakteristike za dva maslinova ulja iz različitih regiona Tunisa. Autori su primetili da je maslinovo ulje Chemlali pokazalo značajne razlike između dve lokacije. Sa severnih područja Chemlali maslinovo ulje je imalo više voćne arome, ali i sa veoma gorkim i ostrim karakteristikama, dok je sa južnih Chemlali ulje imalo manje voćnih atributa. Naši rezultati pokazuju da su libijska DMU iz različitih regiona slična u senzorskim karakteristikama sa DMU (Chemlali sfaks i Arbekuina) proizvedenim u Tunisu. G14, G15 i Q15 devičanska maslinova ulja su pokazala tri pozitivna opisa: voćni, gorki i oštri (EC Regulation, 1991).



Slika 40. Senzorski profili DMU iz berbe 2015. godine

#### 4.1.2. Kolorimetrijska merenja boje (vrednosti $CIE$ , $a^*$ , $b^*$ i $L^*$ )

Boja je jedan od ključnih faktora u prihvatljivosti hrane. Osim toga, boja se može koristiti za procenu sastava i hemijskih promena u prehrambenim proizvodima, što je jedan od indikatora kvaliteta proizvoda (Sikorska i sar., 2007). Obično se količina boje kvantifikuje pomoću jedinica koje je predložila Commission International d'Eclairage ( $CIE$ ). Boje su tako

definisane njihovim tristimulus vrednostima (X, Y i Z), koje se mogu koristiti za izračunavanje odgovarajućih izvedenih vrednosti,  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  koordinata boja (Calvo, 2004). U ovoj studiji, značajne razlike ( $p < 0.05$ ) su pronađene u vrednostima  $L^*$   $a^*$   $b^*$  u uljima iz 2014. godine, kako je i prikazano (Tabela 7a i 7b). Parametri boja pokazuju da je Q14 ulje tamnije od ostalih DMU. U suštini su  $L^*$  vrednosti bile ( $23,81 \pm 0,22$ ) veće od I14 ulja ( $21,27 \pm 0,19$ ). Vrednosti svetloće boje ( $L^*$ ) su bile veće u Q14 ulju, verovatno kao posledica smanjenog sadržaja pigmentata. Obično se ove koordinate povećavaju sa smanjenjem sadržaja pigmentata u uljima, jer pigmenti absorbuju deo svetla, umesto da ga propuste. Prema rezultatima, verovatno je boja ulja bila pod uticajem vremena berbe. Vrednosti  $a^*$  i  $b^*$  pokazuju značajne razlike ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 7a.** Karakteristike boje devičanskih maslinovih ulja iz berbe 2014. godine

Uzorak	$L^*$ -svetloća (%)	$a^*$ (+) udeo crvene boje $a^*$ (-) udeo zelene boje	$b^*$ (+) udeo žute boje $b^*$ (-) udeo plave boje	Dominantna talasna dužina $\lambda$ (nm)	Oblast boje
Gharyan	$22,37 \pm 0,05^a$	$-0,25 \pm 0,09^a$	$7,94 \pm 0,51^a$	$574,6 \pm 1,15^a$	Zelenkasta
Tarhuna	$23,06 \pm 0,30^b$	$0,23 \pm 0,07^b$	$8,08 \pm 0,82^a$	$576,0 \pm 0,00^a$	Žuto zelena
Msallata	$23,76 \pm 0,37^c$	$0,91 \pm 0,05^c$	$8,54 \pm 0,16^a$	$572,3 \pm 1,15^b$	Žuto - zelena
Tripoli	$23,31 \pm 0,09^{bc}$	$0,97 \pm 0,13^c$	$8,83 \pm 0,92^a$	$571,6 \pm 0,58^b$	Žuto - zelen
Q.B.Ghashir	$23,81 \pm 0,22^c$	$1,20 \pm 0,01^d$	$8,39 \pm 0,39^a$	$572,3 \pm 0,58^b$	Žuto - zelena
Italija	$21,27 \pm 0,19^d$	$1,15 \pm 0,09^d$	$5,92 \pm 0,17^b$	$576,6 \pm 0,58^a$	Žuto - zelena
Španija	$22,37 \pm 0,23^a$	$0,11 \pm 0,03^e$	$7,31 \pm 0,48^a$	$575,6 \pm 1,53^a$	Zelenkasta
Grčka	$20,79 \pm 0,23^e$	$1,10 \pm 0,08^d$	$6,34 \pm 0,39^c$	$576,6 \pm 1,15^a$	Žuto - zelena

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na značajno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 7 b.** Karakteristike boje devičanskih maslinovih ulja iz berbe 2014. godine

Uzorak	C – chroma, zasićenost boje (%)	h- ugao boje	y- sjajnost
Gharyan	7,94±0,51 <sup>a</sup>	91,78±0,55 <sup>a</sup>	3,60±0,02 <sup>a</sup>
Tarhuna	8,09±0,82 <sup>a</sup>	88,33±0,69 <sup>b</sup>	3,81±0,09 <sup>b</sup>
Msallath	8,59±0,17 <sup>a</sup>	96,09±0,22 <sup>c</sup>	402±0,11 <sup>c</sup>
Tripoli	8,88±0,93 <sup>a</sup>	96,96±1,36 <sup>c</sup>	3,89±0,03 <sup>bc</sup>
Q.B.Ghashir	8,48±0,38 <sup>a</sup>	98,17±0,32 <sup>d</sup>	4,04±0,06 <sup>b</sup>
Italija	6,03±0,16 <sup>b</sup>	78,99±0,60 <sup>e</sup>	3,31±0,50 <sup>d</sup>
Španija	7,31±0,48 <sup>a</sup>	89,08±0,18 <sup>b</sup>	3,62±0,06 <sup>a</sup>
Grčka	7,16±1,51 <sup>a</sup>	80,11±1,32 <sup>f</sup>	3,19±0,06 <sup>c</sup>

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na značajno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

**Tabela 8a.** Karakteristike boje devičanskih maslinovih ulja iz berbe 2015. godine

Oblast boje	Dominantna talasna dužina λ (nm)	b* (+) udeo žute boje b* (-) udeo plave boje	a* (+) udeo crvene boje a* (-) udeo zelene boje	L* -svetloća (%)	Uzorak
Gharyan	22,47 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,28± 0,00 <sup>a</sup>	8,32± 0,00 <sup>a</sup>	574,6±0,57 <sup>a</sup>	Zelenkasta
Tarhuna	24,33 ± 0,00 <sup>b</sup>	-1,18± 0,03 <sup>b</sup>	10,38± 0,01 <sup>b</sup>	572±0,00 <sup>b</sup>	Žuto - zelena
Msallata	23,39 ± 0,00 <sup>c</sup>	-0,59± 0,02 <sup>c</sup>	8,26±0,01 <sup>c</sup>	574±0,00 <sup>c</sup>	Zelenkasta
Tripoli	23,91 ± 0,00 <sup>d</sup>	-1,08± 0,01 <sup>d</sup>	10,41±0,01 <sup>d</sup>	573±0,00 <sup>d</sup>	Žuto - zelena
Q.B.Ghashir	24,13 ± 0,00 <sup>e</sup>	-1,34± 0,01 <sup>e</sup>	10,84± 0,04 <sup>e</sup>	573±0,00 <sup>d</sup>	Žuto - zelena

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

**Tabela 8b.** Karakteristike boje devičanskih maslinovih ulja iz berbe 2015. godine

y- sjajnost	h- ugao boje	C – chroma, zasićenost boje (%)	Uzorak
Gharyan	8,35±0,05 <sup>a</sup>	88,06±0,01 <sup>a</sup>	3,65±0,00 <sup>a</sup>
Tarhuna	10,44±0,01 <sup>b</sup>	96,42±0,17 <sup>b</sup>	4,21±0,00 <sup>a</sup>
Msallat	8,28±0,01 <sup>a</sup>	94,21±0,16 <sup>c</sup>	3,92±0,00 <sup>a</sup>
Tripoli	10,47±0,00 <sup>b</sup>	95,93±0,09 <sup>d</sup>	4,08±0,00 <sup>a</sup>
Q.B.Ghashir	10,92±0,04 <sup>c</sup>	97,08±0,01 <sup>e</sup>	4,14±0,00 <sup>a</sup>

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

za T14 ulje i b\* (6,34 ± 0,39) za GR14 ulje.

Dok je u godini 2015, kao što je prikazano (Tabela 8a i 8b), T15 ulje bilo tamnije od drugih DMU.  $L^*$  vrednost ( $24,33 \pm 0,00$ ) kod T15 ulja bila je viša od G15 ( $22,47 \pm 0,00$ ). Zapravo, G15 DMU pokazuje veliku vrednost svetloće i crveni udeo boje sa vrednošću ( $0,28 \pm 0,00$ ) i  $b^*$  ( $10,84 \pm 0,04$ ) za Q15 ulje. Međutim, male razlike u ovom odnosu su primećene između dve sezone. Važnije razlike između godišnjih doba primećene su u  $b^*$  hromatičnoj ordinati, koja odgovara žuto-plavoj zoni, sa manjim razlikama u koordinati  $a^*$ , što odgovara crveno-zelenoj zoni.

Chtourou i sar. (2013) takođe su proučavali DMU iz Tunisa (Chemlali sfak i Arbekuina), ti autori su otkrili da su  $L^*$  vrednosti Arbekulina ( $49,86 \pm 0,20$ ) niže od ulja Chemlali Sfak ( $16,19 \pm 0,10$ ). Vrednosti  $a^*$  i  $b^*$  pokazuju značajne razlike za dva maslinova ulja. Zapravo, ulje Arbekuina pokazuje veliku vrednost svetloće i zeleni aspekt oblasti boje sa vrednošću 1,10 za  $a^*$  i  $b^*$  od 10,58. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Criado i sar., (2008) takođe su proučavali profil pigmenta i boju monovarietalnih devičanskih maslinovih ulja iz sorte Arbekuina koji su dobijeni tokom dve uzastopne sezone i autori su našli za ove dve sezone Arbekuina ulja  $L^*$  vrednost (87,0 i 88,1) i  $a^*$  vrednost (-2,98 i -4,14) i  $b^*$  vrednost (75,9 i 92,4). Dakle, ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima u našoj studiji.

#### 4.1.3. Test transparentnosti ulja

Boja se može meriti kvantitativno koristeći spektrofotometre ili tristimulusni kolorimetre. Objektivno merenje boje od velike je važnosti za proizvođače hrane zbog odnosa između takvih atributa i prihvatljivosti hrane od strane potrošača (Moiano i sar., 2008). Boja je jedan od prvih senzorskih atributa devičanskog maslinovog ulja procenjen od strane potrošača i može se smatrati parametrom kvaliteta koji visoko utiče na njegovo prihvatanje i preferenciju. Devičansko maslinovo ulje je prirodni proizvod dobijen jednostavnim presovanjem maslina (*Olea europea*) i pokazuje boje od tamnozeleno do bleđožute. Među ostalim komponentama, boja maslinovog ulja direktno je povezana sa sadržajem hlorofila i karotenoida (Ceballos i sar., 2003). Zbog značaja senzorskih karakteristika procenjuje se i transparentnost (providnost, bistrina) maslinovog ulja visokog kvaliteta (čisto ili neprozirno).

Što se tiče transparentnosti, potrošači su više zainteresovani za kupovinu čistog maslinovog ulja. Uprkos velikom broju ljudi koji daju važnost transparentnosti maslinovog

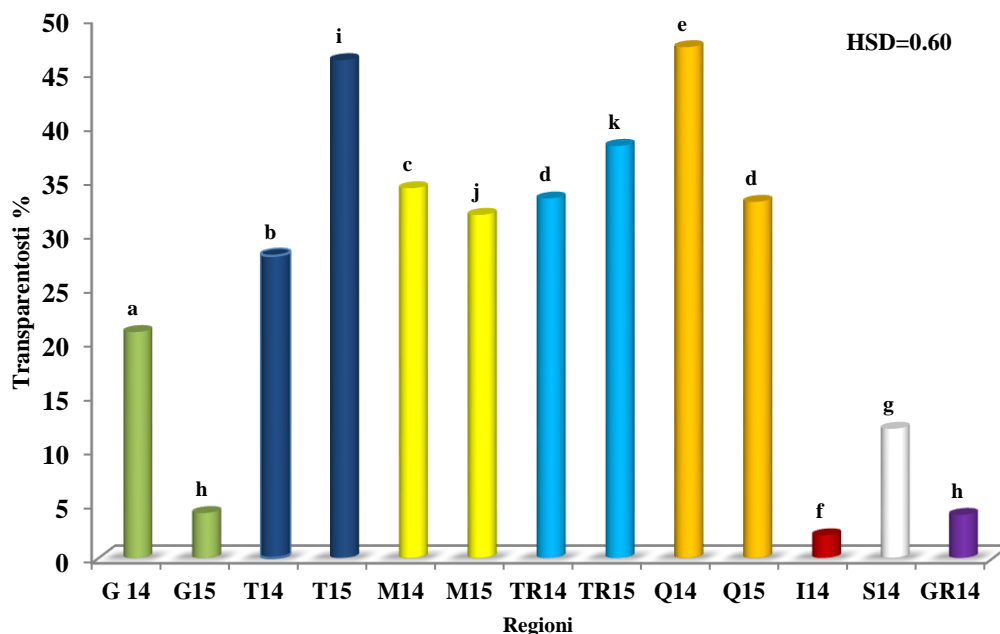
ulja, veruje se da ovaj atribut nije pravi izraz kvaliteta, već je samo izraz specifičnog tehnološkog procesa ili sorte (Di Vita i sar., 2013).

U ovoj studiji rezultati transparentije - T%, za berbu 2014, kao što je prikazano na slici 41, imaju značajnu razliku između svih uzoraka DMU ( $p < 0,05$ ). Najveći procenat transparentije je kod Q14 ulja, a najniži procenat kod G14.

Vrednosti transparentije ulja za berbu 2015. su pokazale da postoji značajna razlika između svih DMU ( $p \leq 0,05$ ), kao što je prikazano na slici (slika 41). Najveći procenat imali su T15 ulje pa ostali  $M15 > Q15 > TR15 > G15$ .

Naši rezultati poređenja za berbe 2014 i 2015. godine (slika 41), bili su značajno različiti ( $p \leq 0,05$ ) dok nije bilo značajne razlike između G15 i GR14 ulja.

Najmanji procenti transparentije su dobijeni za G15, I14 i GR14 DMU, a najveći procenat bio je kod Q14 i T15. Kao poređenje između evropskog DMU i libijskog DMU, ovi rezultati su pokazali da je G15 slično evropskom devičanskom maslinovom ulju.



**Slika 41.** Vrednosti transparentije (%) za DMU – poređenje berbi 2014. i 2015. godine

Di Vita i sar., (2013) takođe su proučavali percepciju o kvalitetu ekstra devičanskog maslinovog ulja u smislu koji atribut ulja ima najviše uticaja na italijanske potrošače. Autori su otkrili da je u pitanju transparentnost. Potrošači obe ispitivane oblasti Italije su bili više zainteresovani za kupovinu čistog, providnog, bistrog maslinovog ulja, 72% u središnjem-severnom regionu i 62,5% u južnoj oblasti.

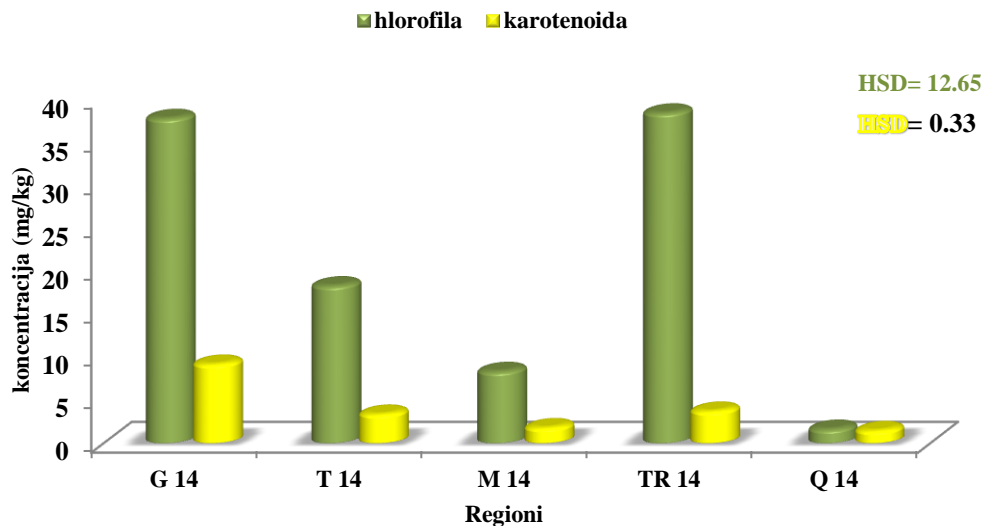
#### 4.1.4. Prirodni pigmenti u ulju

Sastav pigmenata u monovarietalnim devičanskim maslinovim uljima iz nekih grčkih sorti maslina u radovima Psomiadou i Tsimidou (2001) je doveo do zaključka da je važno povećati broj studija koje izveštavaju o sastavu pigmenata u različitim sortama devičanskih maslinovih ulja proizvedenih od maslina različitih sorti koje rastu u različitim geografskim područjima. Hlorofili i karotenoidi su uobičajeni pigmenti, koji daju boju povrću i nekim plodovima, gde igraju ključne uloge u fotosintezi (Giuffrida, i sar., 2011). Prirodni sadržaj pigmenta ulja je važan za parametre kvaliteta, jer su u korelaciji sa bojama i igraju ključnu ulogu kao faktor senzorske prihvatljivosti među potrošačima. Devičansko maslinovo ulje ima boju od zeleno-žute do zlatne, u zavisnosti od sorte i faze zrelosti (Salvador i sar., 2000).

##### 4.1.4.1. Hlorofili i karotenoidi

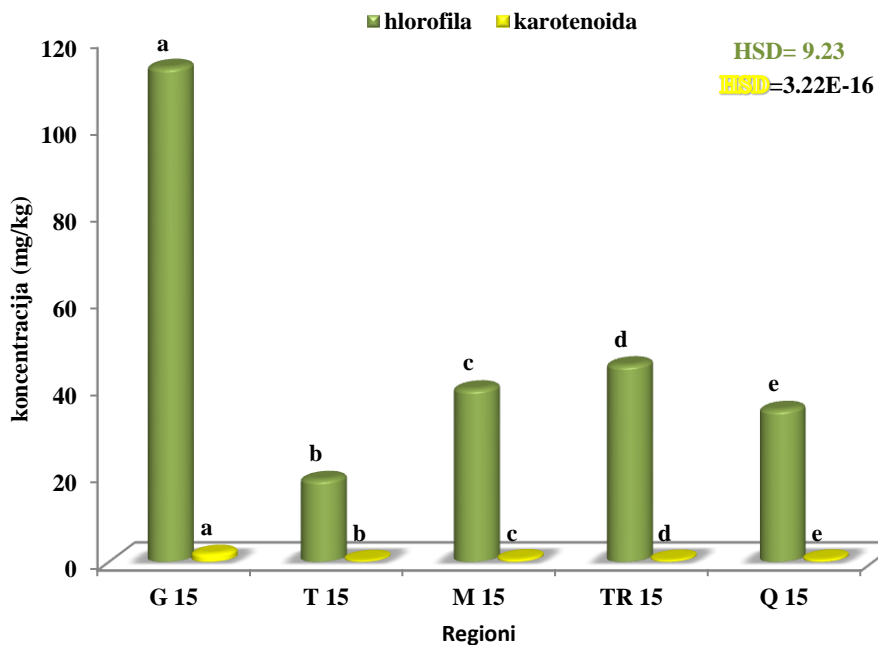
Kombinacija pigmenta hlorofila i karotenoida značajno utiče na boju maslinovog ulja (Moiano, i sar., 2008), što je veoma važan senzorski parametar procenjen od strane potrošača i koji izgleda da je u maslinovim uljima više uticao na period berbe nego na sezonu (Criado i sar., 2008). Pigmenti hlorofila su odgovorni za zelenkaste nijanse devičnog maslinovog ulja. Od svih hlorofila feofitin-a se nalazi u većim količinama u maslinovim uljima (Giuffrida i sar., 2011).

Kao što je prikazano na slici 42, za godišnju kulturu hlorofil je u rasponu od 1,61 do 37,77 mg/kg za sve ispitivane uzorke. Ovi rezultati pokazuju da su značajne razlike između uzoraka ( $p \leq 0,05$ ) primećene u sadržaju pigmenta. Nivoi karotenoida su bili u rasponu od  $1,45 \pm 0,01$  do  $9,15 \pm 0,07$  mg/kg za sve uzorke i ovi rezultati pokazuju da su značajne razlike između uzoraka ( $p \leq 0,05$ ), dok među uzorcima M 14 i Q14 ne postoje značajne razlike.



**Slika 42.** Sadržaj hlorofila i karotenoida (mg/kg) u DMU iz berbe 2014. godine

Kao što je prikazano na slici 43, za berbu 2015., sadržaj hlorofila se kretalo od  $19,10 \pm 0,23$  do  $113,47 \pm 0,17$  mg/kg, najviši nivo je bio u G15 ulju, a najniži nivo bio je u T15. Ovi rezultati pokazuju da su značajne razlike između uzoraka DMU ( $p \leq 0,05$ ).

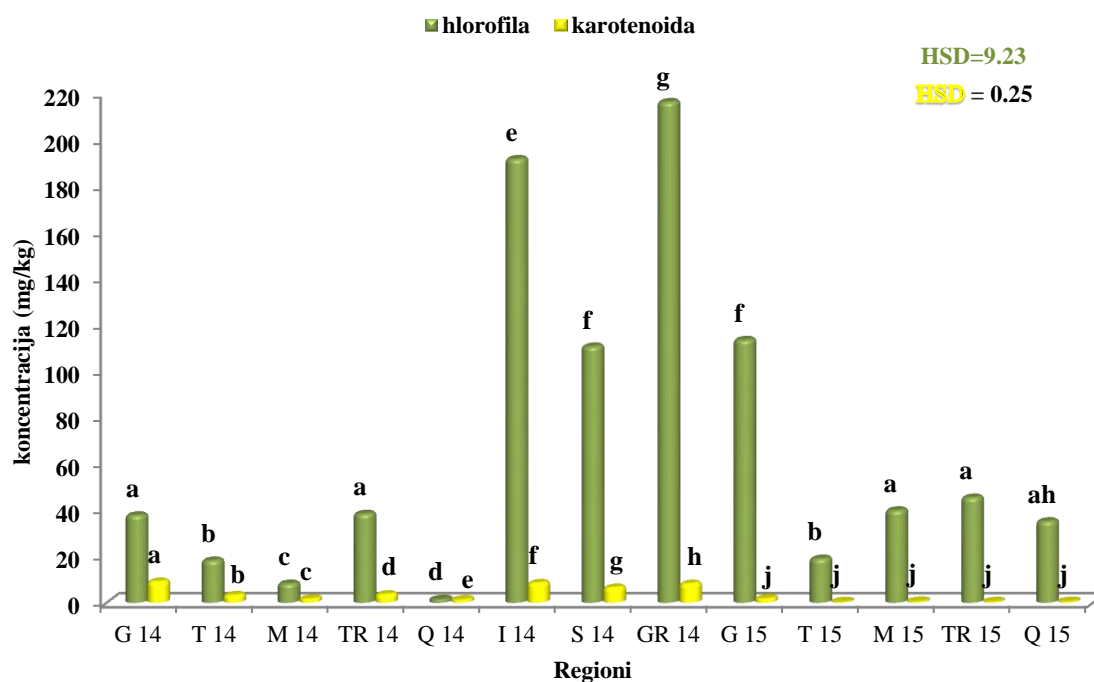


**Slika 43.** Sadržaj hlorofila i karotenoida (mg/kg) u DMU iz berbe 2015. godine



Sadržaj karotenoida se kretao u rasponu od  $0,48 \pm 0,00$  do  $1,9 \pm 0,72$  mg/kg, najviši nivo bio je u G15 ulju, a najniži nivo bio je u T 15. Dobijeni rezultati ukazuju na značajne razlike između uzoraka DMU ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015. godine (slika 44), su pokazali da su kod hlorofila postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između uzoraka, dok nije bilo značajnih razlika između (G 14, TR 14, M 15, TR 15 i Q 15) i (T 14 i T 15) i (S 14 i G 15).



**Slika 44.** Sadržaj hlorofila i karotenoida (mg/kg) u DMU poređenje berbi 2014 i 2015. godine

GR14 ulje je imalo najviši nivo, a M14 je imalo najniži nivo ukupnih karotenoida. Karotenoidi su imali značajne razlike između uzoraka ( $p \leq 0,05$ ), a nije bilo značajnih razlika između uzoraka (G15, T15, M15, TR15 i Q15) DMU. Razlike u sadržaju hlorofila i karotenoida u maslinovim uljima mogu zavisiti od sorte maslina, područja rasta i stepena zrelosti ploda, procesa izdvajanja ulja i uslova skladištenja proizvoda.

Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Psomiadou i Tsimidou (2001), koji su naveli da prisustvo pigmenta u uljima zavisi od nekoliko faktora, kao što su sorta maslina, tlo i klimatski uslovi, zrelost plodai procedure obrade. Chtourou i sar. (2013) takođe su proučavali komparativnu studiju kvaliteta maslinovog ulja od Chemlali Sfaks nasuprot Arbekuini, sortama kultivisanim u Tunisu; autori su zaključili da je količina hlorofila varirala

između 5,02 mg/kg u ulju sorte Chemlali Sfaks i 2,53 mg/kg u ulju sorte Arbekuina. Nivo karotenoida bio je 0,73 mg/kg za ulje Chemlali Sfaks i 0,42 mg/kg za ulje sorte Arbekuina. Ovi rezultati su slični rezultatima u našoj studiji. Karabagias i sar. (2013) su takođe proučavali klasifikaciju zapadno-grčkih devičanskih maslinovih ulja i otkrili da se sadržaj hlorofila kretao između 4,21% i 0,08%, prvi procenat koji se nalazi u maslinovom ulju iz sorte Koroneiki sa Zakintosu i drugog iz Lianolia sorte iz Kerkire. Sadržaj karotenoida kretao se između 2,28% i 0,87%, gde se prvi procenat nalazi u maslinovom ulju iz sorte Koroneiki sa Kefalonije, a drugi iz Thiaki sorte sa Kefalonije i Asprolia sorte sa Lefkade. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.1.4.2. Sadržaj $\beta$ -karotena

Svi ispitani uzorci DMU su sadržavali pigmente iz ploda, a glavne "žuti" pigmenti devičanskih maslinovih ulja su lutein i  $\beta$ -karoten. Prirodni sadržaj pigmenta ulja je važan za parametre kvaliteta jer su u korelaciji sa bojom i igraju ključnu ulogu kao faktor senzorske prihvatljivosti među potrošačima. DMU ima boju od zeleno-žute do zlatne, zavisno od sorte i faze zrelosti ploda (Salvador, 2000). Pigmenti su neposredno povezani sa kvalitetom EDMU, zbog njihove povezanosti sa svežinom, nutritivnim i antioksidativnim svojstvima. Među pigmentima u karotenoidnoj frakciji dominiraju  $\beta$ -karoten i lutein (Lazzerini i sar., 2017), dok drugi karotenoidi, odnosno ksantofili, kao što su  $\beta$ -kriptoksantin, violaksantin, neoksantin i drugi, se mogu naći u manjoj količini (Gandul i sar., 2016).

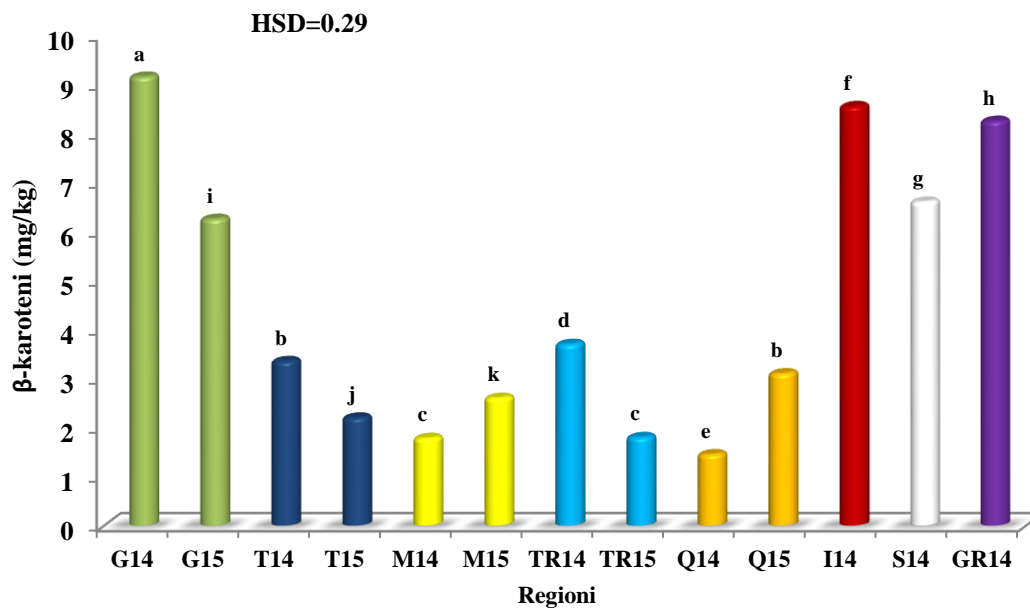
Naši rezultati za sadržaj  $\beta$ -karotena iz berbe 2014. (slika 45), kreću se od  $1,45 \pm 0,07$  do  $9,15 \pm 0,21$  mg/kg, najviši nivo je bio za ulje G 14, a najniži nivo bio je za ulje Q14. Ovi rezultati pokazuju da postoje značajne razlike između uzoraka DMU ( $p \leq 0,05$ ). Nije bilo značajnih razlika između M 14 i Q 14 DMU.

Kao što je prikazano na slici 45, za berbu 2015. sadržaj  $\beta$ -karoten-a je u rasponu od  $1,80 \pm 0,00$  do  $6,25 \pm 0,07$  mg/kg, a visok nivo je bio za ulje G14, a nizak nivo bio je za TR 14. Ovi rezultati pokazuju da postoje značajne razlike između uzoraka DMU ( $p \leq 0,05$ ).

Rezultati poređenja za godine berbe 2014. i 2015. (slika 45) za  $\beta$ -karoten su se kretali od 1.45 do 9,15 mg/kg. Najviši nivo bio je za G14 ulje, a najniži nivo bio je za Q14. Ovi rezultati pokazuju da postoje značajne razlike između uzoraka DMU ( $p \leq 0,05$ ), dok nije bilo

značajnih razlika između M14 i TR15. Poređenje između evropskih DMU i libijskih DMU je dalo rezultat koji ukazuje da su G 14 i G15 DMU slična evropskim DMU.

Giuffrida i saradnici (2007) su takođe proučavali sastav pigmenata u monovarietalnim devičanskim maslinovim uljima iz različitih sicilijanskih sorti maslina i otkrili su da je sadržaj  $\beta$ -karoten-a bio u opsegu od 8,06 do 16,27 mg/kg, a najviši nivo bio je u ulju Cerasuola.



**Slika 45.** Sadržaj  $\beta$ -karoten-a (mg/kg) u DMU, poređenje berbi 2014 i 2015. godine

Ovi rezultati su slični rezultatima u našoj studiji. Reboredo-Rodriguez i sar. (2016) takođe su proučavali karakterizaciju devičanskih maslinovih ulja proizvedenih od autohtonih galicijskih sorti. Ovi autori su otkrili da je sadržaj  $\beta$ -karoten-a bio u rasponu od 10,0 do 12,0 mg/kg. Ovi njihovi rezultati su slični sa našim ispitanim uzorcima G14 i G15, ali su veći od ostalih libijskih DMU. Uzrok tome je, verovatno zbog problema u vremenskoj razlici u sazrevanju plodova ili u dužini vremena transfera olodova u pogon za preradu. Issaoui i sar. (2010) takođe su proučavali uticaj područja rasta maslina na razliku između njihovih ulja Chemlali i Chetoui. Autori su ustanovili da je sadržaj  $\beta$ -karotena za Chemlali i Chetoui maslinova ulja sa juga imao najniže nivoe (3,7 i 5,2 mg/kg, respektivno). Ovi rezultati su, takođe slični rezultatima u našoj studiji.

## 4.2. Hemijska i fizička svojstva DMU

### 4.2.1. Peroksidni broj (Pbr)

Peroksidna vrednost ili broj (Pbr) je jedan od najčešće utvrđenih parametara kvaliteta tokom proizvodnje, skladištenja i marketinga maslinovog ulja (Saad i sar., 2006). Pbr, često izražena kao miliekvivalenti kiseonika po kilogramu ulja, predstavlja meru hidroperoksida prisutnih u ulju kao proizvoda primarne oksidacije ulja. Pbr je mera ukupnih peroksida u maslinovom ulju izražena kao mEq.O<sub>2</sub>/kg ulja i stoga je to glavni vodič za kvalitet (Stepanian i sar., 2005). Ekstrakcija maslinovog ulja koja koristi zdrave plodove sakupljene u pravoj fazi zrenja primenom odgovarajućih metoda, utiče na hemijske karakteristike maslinovog ulja (Olias i sar., 1993). Međutim, relevantnost Pbr kao parametra kvaliteta maslinovog ulja opravdava potrebu za pouzdanim, brzim i nedestruktivnim tehnikama, kao i visokim stepenom automatizacije kako bi se olakšala implementacija u industrijskim rutinskim analizama, a sve kako bi se obezbedile mere u realnom vremenu za procenu kvaliteta maslinovog ulja i njegovu promenu (Pizarro i sar., 2013). Kao što je prikazano u tabeli 9. za berbu 2014., Pbr se kreće od (5,36 ± 0,27 mmol/kg) do (13,52 ± 0,09 mmol/kg), najviši nivo je bio kod ulja G14, a najniži nivo bio je kod S14, a pojedinačni rezultati pokazuju značajne razlike (p ≤ 0,05).

**Tabela 9.** Peroksidni broj (Pbr) uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorak	2014	2015
	Pbr (mmol/kg)	Pbr ( mmol/kg )
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	13,52 ± 0,09 <sup>a</sup>	6,40 ± 0,14 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	6,74 ± 0,39 <sup>b</sup>	11,70 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Msallata</b>	12,37 ± 0,19 <sup>c</sup>	9,20 ± 0,00 <sup>c</sup>
<b>Tripoli</b>	7,82 ± 0,46 <sup>d</sup>	13,65 ± 0,35 <sup>d</sup>
<b>Q, B. Ghashir</b>	7,59 ± 0,04 <sup>bd</sup>	11,00 ± 0,14 <sup>b</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	5,59 ± 0,03 <sup>c</sup>	-
<b>Španija</b>	5,36 ± 0,27 <sup>c</sup>	-
<b>Grčka</b>	8,75 ± 1,09 <sup>e</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

Nije bilo značajnih razlika između T14 i Q14 DMU, a niti značajnih razlika između i 14, S14 i GR14. Za godinu berbe 2015., Pbr se kretao od 6,40 ± 0,14 mmol/kg do 13,65 ± 0,35 mmol/kg, a najviši nivo bio je za G15, dok je najniži nivo bio za T15.

Procena promene u vrednosti peroksida, i kvalifikovanje primarne oksidacije ulja, takođe se odnosi i na uslove skladištenja (kiseonik, izlaganje svetlosti i temperatura) i jako zavise od zrelosti maslina i tehnologije obrade.

Naši rezultati poređenja za berbe u 2014. i 2015. godini, pokazuju da su među uzorcima postojale značajne razlike za Pbr ( $p \leq 0,05$ ). Što se tiče poređenja između evropskih DMU i libijskih DMU, rezultati su pokazali da su T14, Q14 i G15 DMU slična evropskim DMU.

Manai i sar. (2008) su proučavali karakterizaciju monovarietalnih devičanskih maslinovih ulja iz šest ukrštenih sorti; autori su našli da se Pbr kreće od  $2,70 \pm 0,57$  mmol/kg do  $6,00 \pm 1,13$  mmol/kg. Ovi rezultati su slični rezultatima u našoj studiji. Reboredo-Rodriguez i sar. (2014) takođe su proučavali kvalitet ekstra devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u severozapadnoj Španiji i našli da se Pbr kreće od 2,24 do 8,79 mmol/kg. Ovi rezultati su, takođe u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Prema vrednosti peroksidnog broja ( $Pbr \leq 20$  mEq.O<sub>2</sub>/kg) svi ispitani uzorci su u kategoriji "ekstra devičanskih ulja", kako je navedeno uredbom EC/1989/2003 (EEZ, 2003).

#### 4.2.2. Kiselost – slobodne masne kiseline

Kiselost, izražena kao % oleinske kiseline, je sadržaj slobodnih masnih kiselina prisutnih u maslinovom ulju. Sadržaj slobodnih masnih kiselina (SMK) jedan je od najvažnijih parametara koji ukazuje na kvalitet maslinovog ulja i najčešće se određuje kako bi se klasifikovao i/ili procenio kvalitet ulja (Mariotti i Mascini, 2001). To je merenje hidrolitičke razgradnje lanaca masnih kiselina iz triglicerida u digliceride i monogliceride, uz oslobađanje slobodnih masnih kiselina (Vossen, 2007).

Kao što je prikazano u Tabeli 10, za berbu 2014. godine SMK je bio u rasponu od  $0,72 \pm 0,3$  do  $8,18 \pm 0,30\%$ , a najviši procenat je bio za T14 ulje, dok je najniži procenat bio kod G14 ulja. Ovi rezultati pokazuju značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Za berbu 2015. vrednosti za SMK bile su u rasponu od  $0,73 \pm 0,07\%$  do  $2,78 \pm 0,07\%$ , visok procenat bio je za M15 ulje, a nizak procenat bio je za Q15. Nije bilo značajnih razlika između G15 i Q14 ulja. Može se pretpostaviti da je veća kiselost uglavnom izazvana metodom žetve koja se primenjivala.

Vrednosti kiselosti više od 0,8% mogu se objasniti lošim statusom plodova pre obrade ili vremenom žetve (El Antari i sar., 2000). Grati-Kammoun i sar. (1999) pokazali da karakteristike promene ulja zavise od zrelosti, a naročito se kiselina povećava sa zrelošću ploda. Ovo povećanje može biti rezultat povećane aktivnosti lipolitičkih enzima (Salvador i sar., 2001).

**Tabela 10.** Sadržaj slobodnih masnih kiselina uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	SMK (%ol.kis.)	SMK (%ol.kis.)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	0,72 ±0,08 <sup>a</sup>	0,80 ±0,14 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	8,18 ± 0,30 <sup>b</sup>	2,23 ±0,21 <sup>g</sup>
<b>Msallata</b>	5,22 ±0,09 <sup>c</sup>	2,78 ±0,07 <sup>h</sup>
<b>Tripoli</b>	3,21 ±0,06 <sup>d</sup>	2,38 ±0,07 <sup>b</sup>
<b>Q, B. Ghashir</b>	4,06 ±0,05 <sup>e</sup>	0,73 ±0,07 <sup>a</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	0,58 ±0,01 <sup>a</sup>	-
<b>Španija</b>	0,40 ±0,03 <sup>af</sup>	-
<b>Grčka</b>	0,72 ±0,02 <sup>a</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe u 2014. i 2015 godini, za vrednosti SMK%, ukazuju na to da su postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između uzoraka. Poređenjem između evropskih DMU i libijskih DMU nadjeno je da u G14, G15 i Q15 DMU slična evropskim DMU.

Issaoui i sar. (2010) takođe su proučavali uticaj uslova kultivacije maslinovih stabala na diferencijaciju maslinovih ulja Chemlali i Chetoui. Autori su otkrili da SMK% za ulja iz sorti Chemlali (1% kiselost) i Chetoui (0,9% kiselost) sa juga Tunisa prelazi granicu kiselosti od 0,8%, što predstavlja povećani nivo degradacije. Sa druge strane ulje proizvedeno od sorti koje su rasle na severu pokazalo je nizak procenat kiselosti. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima u našoj studiji. Rodriguez i sar. (2014) takođe su proučavali kvalitet ekstra devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u severozapadnoj Španiji i našli da je SMK% u rasponu od  $0,15 \pm 0,01$  do  $0,42 \pm 0,00\%$ . Ove vrednosti su niže od vrednosti dobijenih u ovoj studiji. Ovirezultatisuniži od

naših rezultata u ovoj studiji. (Kiselost  $\leq$  0,8%), oni pripadaju kategoriji "ekstradevičanskog", kako je navedeno Uredbom EC/1989/2003 (EEZ, 2003).  
Jedinjenje

#### 4.2.3. Sadržaj vlage

Međunarodni savet za maslinovo ulje (ICO) zahteva da nivo vlage i nečistoće budu manji od 0,2 i 0,1% respektivno za maslinovo ulje kvaliteta ekstra devičansko i devičansko.

Kao što je prikazano u Tabeli 11, za berbu 2014. godine sadržaj vlage se kretao od 0,07 do 0,15%, visok procenat je bio za T14 ulje, a nizak procenat je bio za G14. Dobijeni rezultati, međutim, nisu pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između pojedinačnih uzoraka. Za ulje iz berbe u 2015. godini vrednosti za sadržaj vlage su bile u rasponu od  $0,12 \pm 0,03$  do  $0,20 \pm 0,08\%$ . Najveći procenat je bio za G15 ulje, a najniži procenat bio je za Q15.

Naši rezultati poređenja za berbe u 2014. i 2015. godini, pokazali su da za M% vrednosti nije bilo značajnih razlika među uzorcima. Svi uzorci su bili u rasponu dozvoljenim od strane ICO.

**Tabela 11 . Sadržaj vlage uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine**

Uzorci	2014	2015
	Vlaga (%)	Vlaga (%)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	$0,07 \pm 0,05^a$	$0,20 \pm 0,08^a$
<b>Taruana</b>	$0,15 \pm 0,00^a$	$0,15 \pm 0,04^a$
<b>Msallata</b>	$0,10 \pm 0,01^a$	$0,19 \pm 0,07^a$
<b>Triploi</b>	$0,12 \pm 0,05^a$	$0,18 \pm 0,06^a$
<b>Q.B.Ghashir</b>	$0,14 \pm 0,03^a$	$0,12 \pm 0,03^a$
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	$0,11 \pm 0,01^a$	-
<b>Španija</b>	$0,03 \pm 0,02^a$	-
<b>Grčka</b>	$0,05 \pm 0,04^a$	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4.2.4. Relativna gustina

Vrednosti relativne gustine, odnosno, relativne zapreminske mase u odnosu na vodu pri temperaturi od 20°C u uzorcima DMU su prikazane u Tabeli 12, za berbu 2014. godinu. Rezultati pokazuju da je gustina ulja bila u rasponu od 0,915 do 0,917g/ml. Visoka vrednost je nađena za ulje Q14, a niska za T14 i M14. Ovi rezultati su pokazali da nije bilo značajne razlike među uzorcima ( $p \leq 0,05$ ). Za berbu 2015. gustina je bila u rasponu od 0,914 do 0,916 g/ml. Najviša vrednost bila je za T14 ulje, a najniža za G14. Među uzorcima nije bilo značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015. za relativnu gustinu su pokazali da nije bilo značajnih razlika između uzoraka u odnosu na godinu berbe. Svi uzorci su bili u rasponu dozvoljenim od strane ICO.

**Tabela 12.** Relativna gustina uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	Relativna gistina (g/ml, voda 20 °C)	Relativna gistina (g/ml, voda 20 °C)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	0,916 <sup>a</sup>	0,914 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	0,915 <sup>a</sup>	0,916 <sup>a</sup>
<b>Msallata</b>	0,915 <sup>a</sup>	0,914 <sup>a</sup>
<b>Tripoli</b>	0,916 <sup>a</sup>	0,915 <sup>a</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	0,917 <sup>a</sup>	0,915 <sup>a</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	0,914 <sup>a</sup>	-
<b>Španija</b>	0,915 <sup>a</sup>	-
<b>Grčka</b>	0,916 <sup>a</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Aiadi i sar. (2009) su proučavali fizičko-hemijske promene i toplotnu stabilnost ekstra devičanskih maslinovih ulja, aromatizovanih sa odabranim tuniškim aromatičnim biljkama i utvrdili su da se relativna gustina kretala od  $0,915 \pm 0,45$  do  $0,921 \pm 0,17$  g/ml. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.



#### 4.2.5. Indeks refrakcije

Refrakcioni indeks (IR) igra važnu ulogu u mnogim oblastima fizike, biologije i hemije. Poznavanje indeksa refrakcije vodenih rastvora i ulja je od presudnog značaja u određivanju čistoće, odnosno prisustva nečistoća u ulju.

Kao što je prikazano u Tabeli 13, za berbu 2014. godine rezultati za IR su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između T14 i G14, M14, TR14 i Q14 DMU. Dok je za berbu 2015. godine nije bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ) između G15 i M15 DMU i T15, TR15 i Q15 DMU. Svi uzorci su bili u rasponu dozvoljenom od strane ICO.

**Tabela 13.** Indeks refrakcije uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	IR ( $n_D^{40^\circ C}$ )	IR ( $n_D^{40^\circ C}$ )
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	1,469 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,467 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	1,467 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,468 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Msallata</b>	1,468 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,467 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Tripoli</b>	1,469 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,468 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	1,469 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,468 ± 0,00 <sup>b</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	1,469 ± 0,00 <sup>a</sup>	-
<b>Španija</b>	1,468 ± 0,00 <sup>a</sup>	-
<b>Grčka</b>	1,468 ± 0,00 <sup>a</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015. godine ukazuju da u vrednostima za IR nije bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ) između uzoraka. Rezultati IR za libijska DMU su slični evropskim DMU.

Shahat i sar. (2013) su, takođe vršili evaluaciju kvaliteta nekih libijskih sorti maslinovog ulja i ustanovili da je indeks refrakcije na 20°C u rasponu od 1,4702 do 1,4707. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.2.5. Specifična apsorbcija

Međunarodni savet za maslinovo ulje zahteva da su nivoi specifičnih apsorbanacija pri talasnoj dužini od 232 nm - K232 i pri talasnoj dužini od 270 nm - K270 manji od  $\leq 2,5$  i  $\leq 0,25$  za maslinovo ulje iz kvaliteta ekstra devičansko i devičansko. Kao što je prikazano u Tabeli 14, za berbu 2014. godine K232 i K270 variraju od  $7,89 \pm 3,13$  do  $9,67 \pm 8,61$  i  $0,79 \pm 0,64$  do  $1,29 \pm 0,56$  respektivno. Visok nivo je bio za M14 i T14 ulja, a nizak nivo za T14 i M14 ulja respektivno. Među ovim rezultatima nije bilo značajne razlike. Dok su za berbu 2015. godine rezultati za K232 i K270 bili u rasponu od  $8,69 \pm 0,59$  do  $14,14 \pm 0,19$  i  $0,69 \pm 0,17$  do  $0,92 \pm 0,30$  respektivno. Najviši nivo je bio za T15, Q15 ulja respektivno, a najniži je bio za G15 ulje. Među dobijenim rezultatima nije bilo značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 14 .** Specifične apsorbanacije uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014		2015	
	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>
<i>Ulja iz Libije</i>				
<b>Gharyan</b>	$9,47 \pm 3,47^a$	$1,03 \pm 0,25^a$	$8,69 \pm 0,59^a$	$0,69 \pm 0,17^a$
<b>Tarhuna</b>	$7,89 \pm 3,13^a$	$1,29 \pm 0,56^a$	$14,14 \pm 0,19^a$	$0,76 \pm 0,21^a$
<b>Msallata</b>	$9,67 \pm 8,61^a$	$0,79 \pm 0,64^a$	$9,87 \pm 2,18^a$	$0,87 \pm 0,53^a$
<b>Tripoli</b>	$9,31 \pm 2,77^a$	$1,18 \pm 0,14^a$	$13,87 \pm 1,79^a$	$0,87 \pm 0,52^a$
<b>Q.B.Ghashir</b>	$9,26 \pm 3,69^a$	$0,89 \pm 0,07^a$	$12,97 \pm 1,39^a$	$0,92 \pm 0,30^a$
<i>Ulja iz Evrope</i>				
<b>Italija</b>	$6,63 \pm 0,84^a$	$0,79 \pm 0,05^a$	-	-
<b>Španija</b>	$6,92 \pm 1,48^a$	$0,89 \pm 0,32^a$	-	-
<b>Grčka</b>	$7,18 \pm 1,82^a$	$0,65 \pm 0,19^a$	-	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe u 2014. i 2015. godini za K232 i K270 (Tabela 14) su pokazali da nije bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ) između uzoraka. Međutim, vrednosti kod svih uzoraka su bile veće od ograničenja dozvoljenog od strane ICO. Ovo govori da su ova ulja sadržavala sekundarne proizvode oksidacije (ketoni, aldehidi, itd.). Ovaj rezultat može biti vezan za prekomerno izlaganje maslina i ulja vazduhu i svetlosti kao i duge faze mešanja (Amelio, 2003; Torres i sar., 2006).

Issaoui i sar. (2010) su proučavali uticaj područja rasta na razliku između maslinovih ulja Chemlali i Chetoui. Ovi autori su našli da merenjem apsorpcije na 232 i 270 nm (K232 i K270) nisu pređene vrednosti 2,5 i 0,22, koje su utvrđene granice za ekstra devičansko

maslinovo ulje. Rodriguez i sar., (2014) takođe su proučavali kvalitet ekstra devičanskih maslinovih ulja proizvedenih u severozapadnoj Španiji; ovi autori su otkrili da su se K232 i K270 kretali od  $1,45 \pm 0,11$  do  $1,71 \pm 0,22$  i  $0,12 \pm 0,03$  do  $0,15 \pm 0,01$  respektivno. Ovi rezultati su znatno bolji od naših rezultata u ovoj studiji.

#### 4.2.6. Fosfolipidi

Fosfolipidi, koji su minorne komponente prisutne u ulju, mogu uticati na fizičko-hemijsko stanje nefiltriranog maslinovog ulja i na njegov antioksidativni kapacitet. Njihovo prisustvo u maslinovom ulju proučavalo je samo nekoliko istraživača. Devičanska maslinova ulja sadrže fosfolipide prema staroj studiji Vitagliano (1961). Jedinjenja kao što su: fosfatidilholin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinozitol i fosfatidilserin su glavni fosfolipidi prisutni u maslinovom ulju (Koidis i Boskou, 2006).

Kao što je prikazano u Tabeli 15, za berbu 2014. Sadržaj ukupnih fosfolipida se kretao od  $1,45 \pm 0,07$  do  $3,60 \pm 0,70$  mg/kg, a najviši nivo nađen je u T14 DMU, dok je najniži nivo bio u TR14 ulju. Rezultati su pokazali da nema značajnih razlika između uzoraka. U berbi 2015., fosfolipidi su se kretali od  $0,28 \pm 0,38$  do  $1,46 \pm 0,19$  mg/kg. Visoki nivo je bio u M15 DMU, a nizak nivo bio je u T15 ulju. Postojala je značajna razlika ( $p \leq 0,05$ ) između M15 i G15, T15, TR15 i Q15 DMU.

**Tabela 15.** Sadržaj fosfolipida uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	Ukupni fosfolipidi (mg/kg)	Ukupni fosfolipidi (mg/kg)
<i>Ulja iz Libije</i>		
Gharyan	$2,35 \pm 0,49^a$	$0,83 \pm 0,45^a$
Tarhuna	$3,60 \pm 0,70^a$	$0,28 \pm 0,38^a$
Msallata	$0,00 \pm 0,00^b$	$1,46 \pm 0,19^b$
Tripoli	$1,45 \pm 0,07^a$	$0,80 \pm 0,73^a$
Q.B.Ghashir	$3,20 \pm 1,69^a$	$0,30 \pm 0,41^a$
<i>Ulja iz Evrope</i>		
Italija	$0,70 \pm 0,98^a$	-
Španija	$1,95 \pm 0,77^a$	-
Grčka	$0,60 \pm 0,84^a$	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015. godine za sadržaj fosfolipida, pokazuju da nije bilo značajnih razlika. Svi uzorci su bili u granicama dozvoljenim od strane ICO.

Koidis i Boskou (2006) su proučavali sadržaj proteina i fosfolipida u zamućenim devičanskim maslinovim uljima. Ovi autori su otkrili da su za 24 uzorka grčkih maslinovih ulja, nivoi fosfora bili u rasponu od 0,8 do 4,8 mg/kg. Ovo približno odgovara 21-124 mg/kg fosfolipida koristeći faktor 26 za transformaciju fosfora u fosfolipide. Ovi rezultati su znatno veći od naših rezultata u ovoj studiji.

#### 4.2.7. Anisidinski broj (Abr)

Anisidinski broj - Abr meri sekundarne neisparljive proizvode oksidacije, uključujući aldehide, ketone i razne druge supstance. Maslinovo ulje sadrži trigliceride sastavljene uglavnom od oleinske kiseline (mononezasićene masne kiseline, MUFA) i male količine zasićene masne kiseline, što rezultira dobrom stabilnošću skladištenja (O'Brien, 2004). Međutim, bilo kakva oksidacija rezultira gubitkom hranljivih materija i ukusa ulja, konverziju nezasićene u zasićenu masnu kiselinu i razvojem štetnih proizvoda kao što su reaktivne vrste kiseonika. Zaštita od oksidacije lipida je kritičan faktor kvaliteta ulja (Sun-Vaterhouse i sar., 2011).

Kao što je prikazano u Tabeli 16, za berbu 2014. godine Abr je varirao od  $2,02 \pm 1,56$  do  $8,41 \pm 0,59$  ( $100A^{1\%}_{350nm}$ ), a najviši nivo bio je u G14 DMU, a najniži nivo bio je u TR14. Među ovim rezultatima je bilo značajnih razlika. Međutim, nisu bile su značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između T14, M14, TR14 i Q14 DMU. Za berbu 2015. Abr je bio u rasponu od  $3,10 \pm 0,51$  do  $11,94 \pm 6,30$  ( $A^{1\%}_{350nm}$ ). Visoki nivo je bio u Q15 DMU, a nizak nivo bio je u TR15. Značajna razlika ( $p \leq 0,05$ ) je postojala između G15, Q15 DMU i T15, M15, TR15. Svi uzorci su bili u granicama dozvoljenim od strane ICO.

Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015 godine za Abr su pokazali da nisu postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) među uzorcima, izuzev kod ulja sa područja Q. B. Ghashir. Kod libijskih ulja sa područja Tarhuna, Msallata i Tripoli anisidinski broj je u dve uzastopne godine ispitivanja imao znatno niže vrednosti u odnosu na evropska ulja.

**Tabela16.** Anisidinski broj uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	Abr ( $100A_{350nm}^{1\%}$ )	Abr ( $100A_{350nm}^{1\%}$ )
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	8,41 ± 0,59 <sup>a</sup>	8,34 ± 1,27 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	2,13 ± 0,65 <sup>b</sup>	3,84 ± 0,23 <sup>b</sup>
<b>Msallata</b>	2,37 ± 0,63 <sup>b</sup>	3,64 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Tripoli</b>	2,02 ± 1,56 <sup>b</sup>	3,10 ± 0,15 <sup>b</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	2,09 ± 0,57 <sup>b</sup>	11,94 ± 6,30 <sup>a</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	9,07 ± 0,72 <sup>a</sup>	-
<b>Španija</b>	6,86 ± 0,52 <sup>a</sup>	-
<b>Grčka</b>	5,78 ± 0,45 <sup>a</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

Issaoui i saradnici (2009) su proučavali razliku među tuniškima sortama maslinovog ulja i našli su da je Abr bio u rasponu od  $4,32 \pm 0,66$  do  $20,26 \pm 0,41$ . Najviši nivo bio u Rekhama maslinovom ulju, a najniži nivo bio u Zarrazi Zarzis ulju. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Mohaddam i sar., (2012) su takođe proučavali karakterizaciju različitih maslinovog ulja i otkrili da je Abr bio u rasponu od  $2,87 \pm 0,65$  do  $5,39 \pm 0,16$ . Najviši nivo bio je u maslinovom ulju Beledi, a najniži nivo je bio u Šengeh maslinovom ulju. Ovi rezultati su, takođe slični našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.2.8. Jodni broj (Jbr)

Jodni broj - Jbr je hemijski parametar koji se takođe koristi za procenu hemijsko-fizičkih karakteristika masti (Berhe i sar., 2016; Seman i sar., 2013). Jodni broj pokazuje stepen nezasićenosti ulja i često se koristi za predviđanje hemijskih i fizičkih osobina masti i ulja, kao što su oksidativna stabilnost i tačka topljenja (Miiake i sar., 1998). Jbr se često koristi i za određivanje količine nezasićenih veza u sastavu masnih kiselina. Ova nezasićenost je u obliku dvostrukih veza, koje reaguju sa jedinjenjima joda. Što je veći jodni broj, više je C = C veza prisutnih u uljima i mastima (Alfred, 2002).

Kao što je prikazano u Tabeli 17, za berbu 2014, Jbr je u rasponu od  $83,73 \pm 0,05$  do  $95,01 \pm 0,30$  (g/100g). TR14 DMU je imalo najviši Jbr dok je ulje T14 imalo najniži Jbr. Ovi rezultati su pokazali da su postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Međutim, za berbu 2015. Jbr je bio u rasponu od  $82,98 \pm 0,39$  do  $89,18 \pm 0,11$  (g/100g). TR15 DMU je imalo najvišu Jbr, a G15 ulje je imalo najnižu Jbr. Ovi rezultati su pokazali da su postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) među uzorcima.

**Table 17.** Jodni broj uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	Jbr (g/100g)	Jbr (g/100g)
<i>Ulja iz Libije</i>		
Gharyan	$87,97 \pm 0,04^a$	$82,98 \pm 0,39^a$
Tarhuna	$83,73 \pm 0,05^b$	$88,18 \pm 0,11^b$
Msallata	$85,25 \pm 0,24^c$	$85,66 \pm 0,12^c$
Tripoli	$95,01 \pm 0,30^d$	$89,18 \pm 0,02^d$
Q.B.Ghashir	$94,44 \pm 0,04^e$	$88,97 \pm 0,11^d$
<i>Ulja iz Evrope</i>		
Italija	$81,53 \pm 0,17^f$	-
Španija	$84,02 \pm 0,18^g$	-
Grčka	$82,34 \pm 0,04^h$	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja vrednosti Jbr za berbe 2014. i 2015. godine su pokazali da su postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) među uzorcima.

Dabbou i saradnici (2010) su proučavali Jbr u sortama maslina Chemlali iz Tunisa i autori su primetili da je vrednost jodnog broja u Chemlali Sfaks ulju iznosio 87,83 g/100g, a Chemlali Zarzis ulju 80,20 g/100g.

Oueslati i saradnici (2009) su takođe proučavali Jbr u maslinovim uljima u Tunisu. Ovi autori su primetili da je vrednost joda u Hemalali Tataouinovom ulju 81,47 g/100g i Fahari Douirat ulju 96,39g/100g. Torres i saradnici (2006) takođe su proučavali Jbr u DMU Traslasierra Valley (Cordoba, Argentina) i ovi autori su primetili da je vrednost jodnog broja u Nevadilovo ulju 84,2 g/100g, a u Arbekuina ulju 88,7 g/100g. Rezultati jodnog broja uzoraka devičanskih maslinovih ulja ispitanih u okviru ispitivanja ove disertacije su slične navedenim literaturnim podacima.

#### 4.2.9. Saponifikacioni broj (Sbr)

Maslinovo ulje se sastoji uglavnom od frakcije koja se može osaponifikovati i koja čini ukupnu masu od 98,5 do 99,5%. Ona se sastoji od lipidne matrice triglicerida, diglicerida i monoglicerida, a posljednja dva sa samo oko 1,5% ukupnih masnih kiselina (Civantos, 1999a). Sastav masnih kiselina maslinovog ulja karakteriše oleinska kiselina kao glavni deo, što daje visok odnos mononezasićenih prema polinezasićenim masnim kiselinama, a to je i glavni uzrok oksidativne stabilnosti ulja (Velasco i Dobarganes, 2002).

U ovoj studiji, u berbi 2014. godine, Sbr se kreće od  $183,0 \pm 8,48$  do  $193,5 \pm 4,95$  mgKOH/g. Najveća vrednost je nađena u Q14 DMU, a najniža u G14 ulju. Ovi rezultati nisu otkrili nikakve značajne razlike među uzorcima. Za berbu 2015. Sbr je bio u rasponu od  $152,04 \pm 24,87$  do  $190,90 \pm 1,55$  mgKOH/g. Sbr je bio u Q15 DMU na visokom nivou, a nizak nivo bio je u G15 ulju. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike među uzorcima ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 18.** Saponifikacioni broj uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	Sbr (mgKOH/g)	Sbr (mgKOH/g)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	$183,0 \pm 8,48^a$	$152,04 \pm 24,87^b$
<b>Tarhuna</b>	$188,5 \pm 9,19^a$	$168,97 \pm 21,87^a$
<b>Msallata</b>	$189,0 \pm 5,65^a$	$186,40 \pm 1,49^a$
<b>Tripoli</b>	$193,0 \pm 1,41^a$	$185,70 \pm 6,78^a$
<b>Q.B.Ghashir</b>	$193,5 \pm 4,95^a$	$190,90 \pm 1,55^a$
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	$193,0 \pm 4,24^a$	-
<b>Španija</b>	$198,5 \pm 3,54^a$	-
<b>Grčka</b>	$207,0 \pm 8,49^a$	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja Sbr za berbe 2014. i 2015.godine su bili u rasponu od  $152,04 \pm 24,87$  do  $207,0 \pm 8,49$  mgKOH/g. Najviši nivo bio je u GR14 DMU, a najniži je bio u G15 ulju. Nije bilo značajnih razlika među uzorcima. Naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.

Azlan i saradnici (2010) su proučavali i upoređivali saponifikacione brojeve u maslinovom i palminom ulju. Autori su našli da je Sbr maslinovog ulja bio  $189,30 \pm 1,16$  mgKOH/g. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Shahat i saradnici (2013) su izvršili evaluaciju kvaliteta nekih libijskih sorti maslinovog ulja i ovi autori su otkrili da saponifikacioni broj devičanskog ulja dobijen iz sorte Gargashi (191,15) skoro isti za sortu Ocolana DMU (193,61), dok je kod sorte Nab-Elgamal nađena najmanja vrednost (186,10). Rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Benkaial i saradnici (2013) su takođe radili evaluaciju masnih kiselina u libijskim maslinovim uljima gasno-tečnom hromatografijom i oni su otkrili da je saponifikacioni broj između 182,3-203,5 mgKOH/g. Ovi rezultati su slični sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.2.10. Neosapunjive materije

Maslinovo ulje se uglavnom sastoji od triglicerida (više od 98%), dok frakciju neosapunjivih materija devičanskog maslinovog ulja predstavlja 1-2% ulja. Ova frakcija je sastavljena od minornih sastojaka, koji mogu varirati i kvalitativno i kvantitativno u zavisnosti od biljnih vrsta, klimatskih uslova, procedura ekstrakcije, prerade i uslova skladištenja (Canabate-Diaz i sar., 2007). Biljni steroli ili fitosteroli čine glavni deo neosaponifikovane frakcije maslinovog ulja. Najprisutniji sterol maslinovog ulja je beta-sitosterol, a zatim D5-avenasterol. Kampesterol i stigmasterol su prisutni u nižim koncentracijama (Harwood i Aparicio, 2000).

Neosapunjiva frakcija maslinovog ulja sastoji se od velikog broja jedinjenja, kao što su triterpenski alkoholi, alifatski alkoholi, steroli, ugljovodonici, vitamini, beta-karoten, fitosteroli, pigmenti i razna isparljiva jedinjenja (Cardeno i sar., 2014).

U našoj studiji, za berbu 2014., neosapunjiva frakcija se kreće od  $5,13 \pm 0,03$  do  $7,47 \pm 0,14$  g/kg. Najviši nivo je bio u TR14 DMU, a najniži nivo je bio u Q14 ulju. Ovi rezultati nisu pokazali nikakve statistički značajne razlike. Za berbu 2015. godine neosapunjiva frakcija je bila u rasponu od  $4,41 \pm 0,01$  do  $8,05 \pm 0,07$  g/kg. Visok nivo je bio u G15 DMU, a nizak nivo je bio u TR15 ulju. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) dok nije bilo značajnih razlika između (G15, T15 i Q15) i (T15, M15 i TR15).



**Tabela 18.** Sadržaj neosapunjivih materija uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	neosapunjiva frakcija(g/kg)	neosapunjiva frakcija (g/kg)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	6,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	8,05 ± 0,07 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	5,96 ± 0,12 <sup>a</sup>	7,25 ± 0,03 <sup>ab</sup>
<b>Msallata</b>	6,68 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,42 ± 0,00 <sup>b</sup>
<b>Tripoli</b>	7,47 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,41 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	5,13 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,79 ± 0,02 <sup>ab</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	9,91 ± 0,01 <sup>b</sup>	-
<b>Španija</b>	9,37 ± 0,04 <sup>b</sup>	-
<b>Grčka</b>	8,02 ± 0,16 <sup>ca</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

Naši rezultati upoređivanja vrednosti neosapunjivih materija za berbe 2014. i 2015. godine su se kretali od 4,41 ± 0,00 do 9,91 ± 0,01 g/kg, najviši nivo bio je I 14 DMU, a najniži nivo bio je u TR15 ulju. Među ovim rezultatima je bilo značajnih razlika (p ≤ 0,05). Neki naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.

Shahat i saradnici (2013) su radili evaluaciju kvaliteta nekih libijskih sorti maslinovog ulja i ovi autori su našli da je sadržaj nesaponifikovane frakcije devičanskih maslinovih ulja kod sorti Nab-Elgamal i Ocolana bio oko 12,0 i 11,9 g/kg što je više nego kod sadržaja devičanskog maslinovog ulja dobijenog kod sorte Gargashi (9,7% g/kg). Ovi rezultati su veći od naših rezultata u ovoj studiji.

### 4.3. Sadržaj nutritivnih komponenata u DMU

#### 4.3.1. Ukupan sadržaj fenolnih jedinjenja

Fenolna jedinjenja iz maslinovog ulja su od izuzetnog interesa zbog njegovih osobina koje su korisne za zdravlje ljudi. Ova jedinjenja poseduju antiinflamatorni kapacitet zahvaljujući svojoj sposobnosti da inhibiraju enzime ciklooksigenaze (COX) koji su uključeni u metabolički put biosinteze prostaglandina (Behram i sar., 2005). Iako je koncentracija i sastav fenola u EDMU važan faktor, stepen do kojeg su ove komponente biološki dostupne (apsorbovane, metabolizovane, distribuirane i

eliminirane) je baza za razumevanje i procenu zdravstvenih koristi povezanih s takvim jedinjenjima. Za postizanje efekta u specifičnim tkivima ili organima, fenolna jedinjenja maslinovog ulja moraju biti biodostupna (Soler i sar., 2010).

Ukupan sadržaj fenola (TPC) predstavljen je u Tabeli 19. Za berbu 2014., TPC se kretao od  $30,7 \pm 00,28$  do  $266,5 \pm 31,53$  mg GAE/kg, najviši TPC je pronađen u G14 DMU, a najniži TPC je bio pronađen u Q14 ulju. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) dok nije bilo značajnih razlika između T14, M14, TR14 i Q14 DMU. Za berbu u 2015. godini TPC je bio u rasponu od  $56 \pm 21,49$  do  $238,3 \pm 16,26$  mg GAE/kg, najveći nivo TPC je pronađen u G15 DMU, a najniži TPC je pronađen u TR15 ulju. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) dok nije bilo značajnih razlika između T15, M15 i Q15 DMU.

Naši rezultati poređenja nivoa TPC za berbe 2014. i 2015. godine su se kretali u rasponu od  $30,7 \pm 00,28$  do  $266,5 \pm 31,53$  mg GAE/kg. Najviši nivo bio je u G 14 DMU, a najniži nivo bio je u Q14 DMU. Među ovim rezultatima je bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ). Naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.

**Tabela 19.** Sadržaj ukupnih fenola uzoraka DMU iz berbe 2014. i 2015. godine

Uzorci	2014	2015
	TPC (mgGAE/kg)	TPC (mgGAE/kg)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	$266,5 \pm 31,53^a$	$238,3 \pm 16,26^a$
<b>Tarhuna</b>	$44,4 \pm 0,49^b$	$144,2 \pm 29,69^c$
<b>Msallata</b>	$40,4 \pm 2,05^b$	$139,4 \pm 7,70^c$
<b>Tripoli</b>	$49,7 \pm 11,31^b$	$56,0 \pm 21,49^b$
<b>Q. B .Ghashir</b>	$30,7 \pm 0,28^b$	$136,8 \pm 0,07^c$
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	$162,8 \pm 17,39^c$	-
<b>Španija</b>	$78,7 \pm 6,15^b$	-
<b>Grčka</b>	$108,1 \pm 2,82^{bc}$	-

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Nakbi i saradnici (2010) su proučavali TPC u Chetoui i Chemlali sortama iz Tunisa i našli su da je TPC bio  $113,40 \pm 1,32$  i  $53,19 \pm 1,50$  mg GAE/kg, respektivno. Gargouri i saradnici (2013) su proučavali uticaj regiona rasta na karakteristike kvaliteta i fenolna jedinjenja Chemlali EDMU, pri čemu su našli da je TPC bio u rasponu od

117,64 ± 1,23 do 151,7 ± 1,97 mg GAE/kg. Najviši nivo bio je u ulju sa područja Hammameta, a najniži nivo bio je u ulju sa područja Zarzis. Luna i Aparicio (2002) takođe su proučavali karakterizaciju monovarietalnih DMU i našli su da je TPC bio 247 i 256 mg GAE/kg za sorte Hojiblanca i Blankueta, respektivno. Svi ovi rezultati su slični našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.3.2. HPLC analiza sastava fenolnih jedinjenja

Glavna fenolna jedinjenja koja su identifikovana i kvantificirana u maslinovom ulju pripadaju u pet različitih klasa: fenolne kiseline (posebno derivati benzoeva i cimetne kiseline); flavoni (luteolin i apigenin), lignani [(+) - pinorezinol i (+) - acetokipinorezol], fenil-etil alkoholi (hidroksitirozol i tirozol) i secoiridoidi (aglikon derivati oleuropeina i ligstrozida) (Servili i Montedoro, 2002). Fenolna jedinjenja daju gorak i pikantan ukus maslinovom ulju. Fenolne kiseline, kao što su benzoeva i cimetna kiselina, odgovorne su za gorak ukus, dok secoiridoidi daju posebnu oporost (Visioli i sar., 2002). Količina fenolnih jedinjenja u EDMU je važan faktor pri proceni njegovog kvaliteta, s obzirom na to da prirodni fenoli poboljšavaju otpornost na oksidaciju i u određenoj meri su odgovorni za njegov oštar i gorak ukus (Gutierrez i sar., 2001).

Frakciona analiza fenolnih jedinjenja pomoću HPLC-a je predstavljeno u Tabeli 20, za berbu 2014. god. Fenolni alkoholi (tirozol i hidroksitirozol) su bili u rasponu od 4,07 ± 0,92 do 164 ± 9,00 i 0,34 ± 0,04 do 16,3 ± 0,50 mg/kg, respektivno. U G14 DMU je nivo bio najviši dok je u M14 DMU bio najniži. Koeficijent tirozola: hidroksitirozola bio je manji u T15, M15, TR15 i Q15 DMU od G15 DMU; ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) između G14 DMU i T14, M14, TR14 i Q14.

U DMU, hromatografska analiza pomoću HPLC-a pokazuje (Slika 46 i 47) i druge fenolne kiseline prisutne u veoma niskim koncentracijama, u svim slučajevima <0,1 mg/kg. Koncentracija kofeinske kiseline bila je u rasponu od 0,07 ± 0,02 do 0,19 ± 0,01 mg/kg. U T14 DMU je nivo bio najviši, a u TR14 DMU je bio najniži. Luteolinska kiselina je bila u rasponu od 0,36 ± 0,03 do 3,48 ± 0,30 mg/kg. Najviši nivo je bio u TR14 DMU, dok je najniži nivo bio u G14 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

Nivo hrizoeriola kretao se od  $0,04 \pm 0,01$  do  $0,19 \pm 0,01$  mg/kg. U Q14 DMU je posedovao najviši nivo, a najniži nivo bio je u G14 DMU. Nivo naringenina bio je u rasponu od  $0,05 \pm 0,00$  do  $0,61 \pm 0,05$  mg/kg. Visoki nivo je bio u TR14 DMU, a nizak nivo bio je u G14 DMU. Nivo apigenina bio je u rasponu od  $0,15 \pm 0,01$  do  $2,15 \pm 0,14$  mg/kg. Najviši je bio u TR14 DMU, dok je najniži nivo pronađen u G14 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

Kao što je prikazano u Tabeli 21 i Slici 58 za berbu 2015., fenolni alkoholi (tirozol i hidroksitirozol) variraju od  $4,36 \pm 0,33$  do  $11,4 \pm 1,50$  i  $0,33 \pm 0,01$  do  $10,90 \pm 1,20$  mg/kg . U G15 DMU je bio najviši nivo, dok je u M15 DMU bio najniži. Sadržaj tirozola i hidroksitirozola je bio manji u T15, M15, TR15 i Q15 DMU od G15 DMU. Ovi rezultati su imali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Hromatografska analiza pomoću HPLC-a pokazala je (Slika 49) da su i druge fenolne kiseline prisutne u veoma niskim koncentracijama, u svim slučajevima  $<0,1$  mg/kg. Koncentracija kofeinske kiseline iznosila je  $<0,07$  u G15, TR15 DMU i Q15 DMU. Ovi rezultati su imali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).



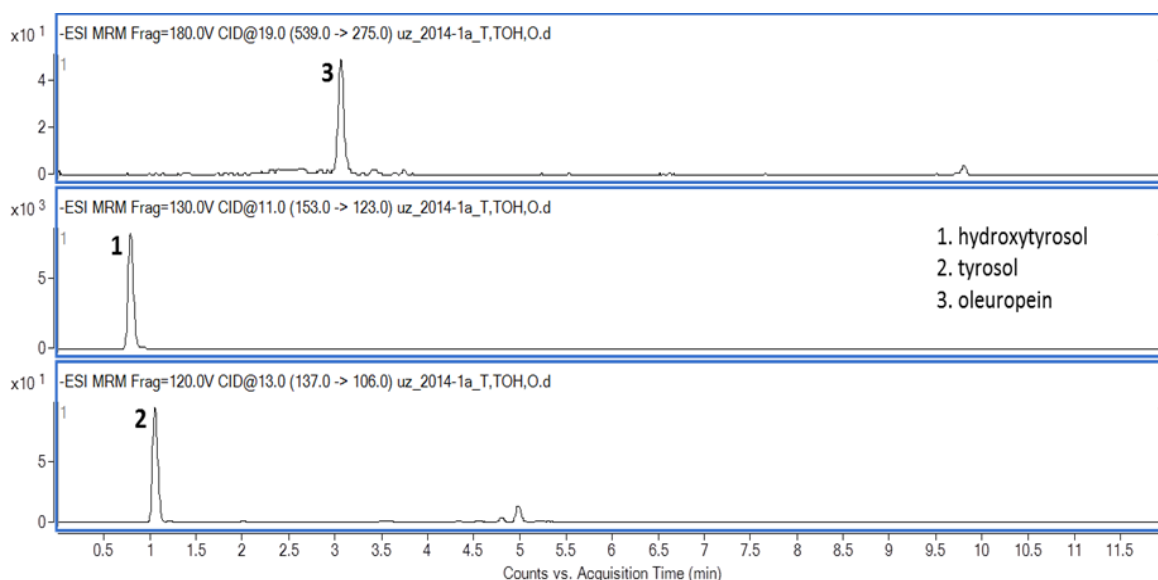
Tabela 20. Sastav fenolnih frakcija (mg/kg) u uzorcima DMU, berba 2014. godina

jedinjenje	Gharyan	Tarhuna	Msallata	Tripoli	Q.B.Ghashier	Italija	Španija	Grčka
Tyrosol	164 ± 9,00 <sup>a</sup>	6,39 ± 0,44 <sup>b</sup>	4,07 ± 0,92 <sup>b</sup>	6,10 ± 0,85 <sup>b</sup>	4,81 ± 0,42 <sup>b</sup>	26,2 ± 1,00 <sup>c</sup>	8,63 ± 1,05 <sup>b</sup>	26,8 ± 1,40 <sup>c</sup>
Hydroxytyrosol	16,3 ± 0,5 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,34 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,90 ± 0,07 <sup>d</sup>	1,75 ± 0,11 <sup>b</sup>	26,6 ± 1,0 <sup>f</sup>	9,49 ± 1,29 <sup>g</sup>	24,1 ± 1,1 <sup>h</sup>
p-coumaric acid	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,55 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,95 ± 0,19 <sup>d</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>ac</sup>
Vanillic acid	< 0,1	< 0,1	0,18 ± 0,03	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Caffeic acid	0,16 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Ferulic acid	< 0,02	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>b</sup>	< 0,02	< 0,02	0,02 ± 0,01
Luteolin	0,36 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,98 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,66 ± 0,10 <sup>c</sup>	3,48 ± 0,30 <sup>d</sup>	2,12 ± 0,11 <sup>f</sup>	1,42 ± 0,05 <sup>g</sup>	0,81 ± 0,13 <sup>bc</sup>	1,70 ± 0,09 <sup>d</sup>
p-hydroxybenzoic acid	0,55 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,08 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,06 ± 0,00 <sup>b</sup>	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Protocatechuic acid	0,08 ± 0,00	< 0,01	0,05 ± 0,00	< 0,01	< 0,01	0,02 ± 0,00	< 0,02	< 0,02
Quinic acid	1,32 ± 0,11	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Naringenin	0,05 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,52 ± 0,04 <sup>d</sup>	0,61 ± 0,05 <sup>e</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>f</sup>	0,14 ± 0,02 <sup>g</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>g</sup>
Apigenin	0,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,66 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,05 <sup>c</sup>	2,16 ± 0,14 <sup>d</sup>	1,22 ± 0,08 <sup>e</sup>	0,77 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,38 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,80 ± 0,05 <sup>b</sup>
chrysoeriol	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,17 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,40 ± 0,03 <sup>cd</sup>

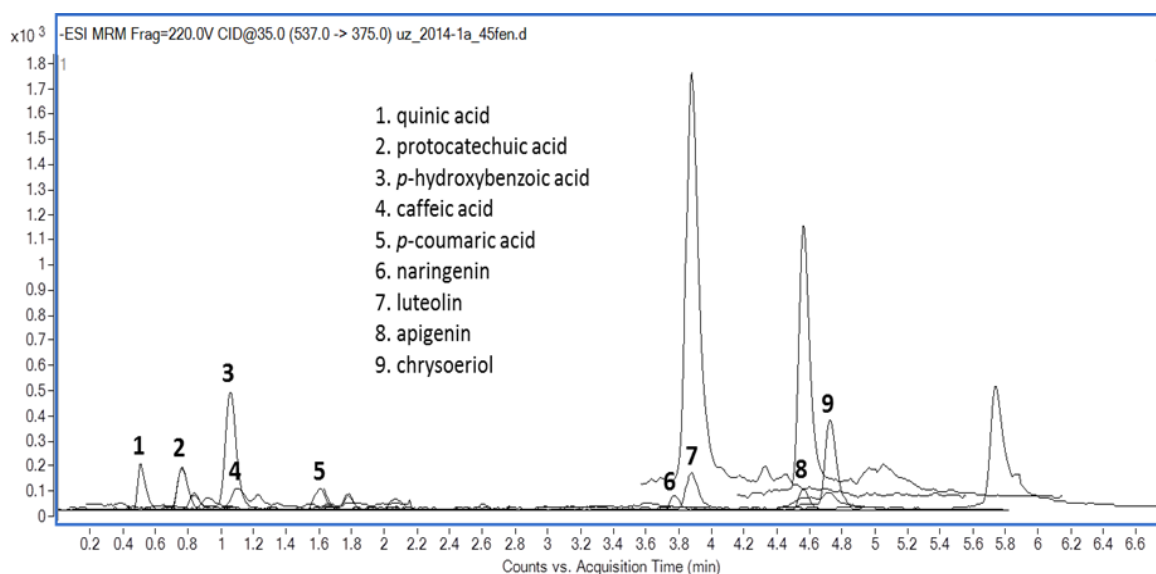
Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05)



Nivo krizoeriola se kretao od  $0,07 \pm 0,01$  do  $0,15 \pm 0,01$  mg/kg. Q15 DMU je imalo najviši nivo, a najniži nivo je bio u G15 DMU. Kod ovih rezultata su postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Međutim, nije bilo značajnih razlika između G15, T15 i M15 DMU. Nivo naringenina je bio u rasponu od  $0,18 \pm 0,02$  do  $0,36 \pm 0,01$  mg/kg. Nivo apigenina bio je u rasponu od  $0,34 \pm 0,02$  do  $0,70 \pm 0,02$  mg/kg. U Q15 je nivo bio dominantan, a najniži nivo je pronađen u T15 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).



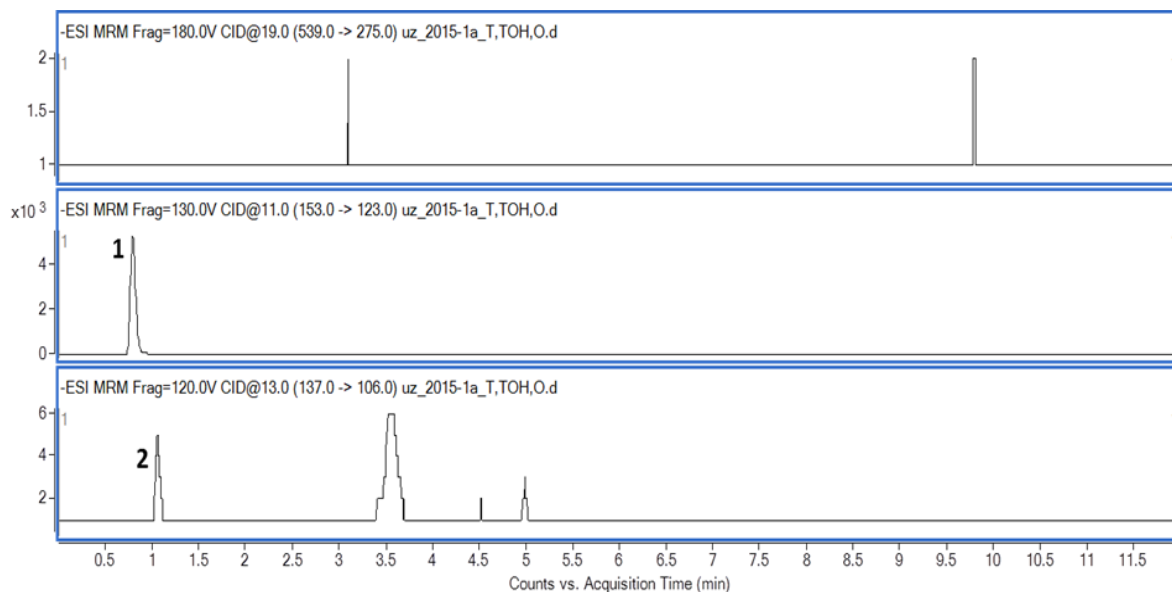
**Slika 46.** HPLC hromatogrami (280 nm) fenolnih ekstrakata DMU, berba 2014. godina



**Slika 47.** HPLC hromatogrami (280 nm) fenolnih ekstrakata DMU, berba 2014. godina

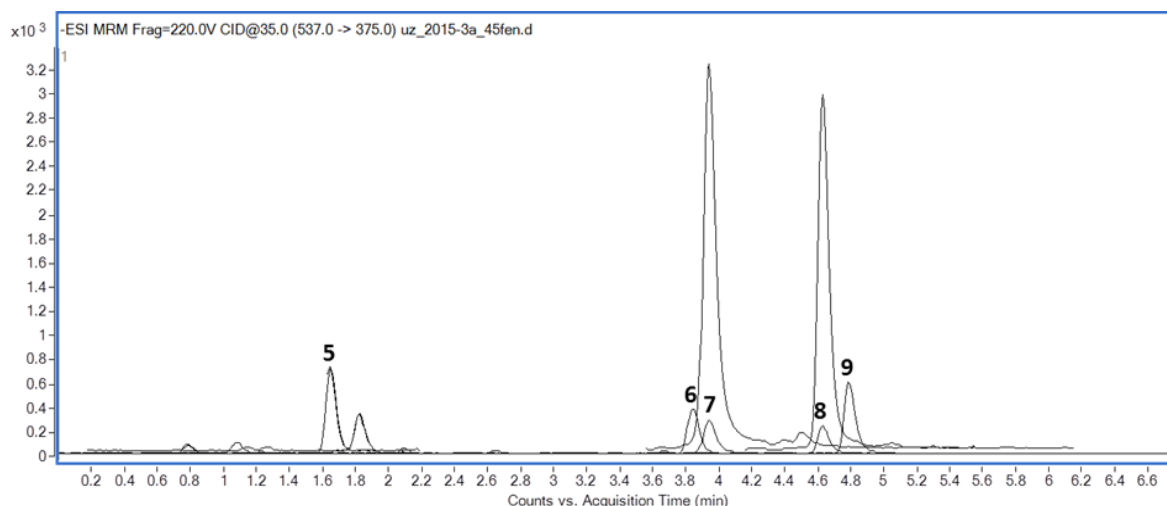


Naši rezultati poređenja za berbe 2014. i 2015. godine, za frakcioni sastav fenola, pokazuju da su među fenolnim alkoholima (tirozol i hidroksitirozol) bile značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Takođe, ostale fenolne kiseline bile su prisutne u veoma niskim koncentracijama, u svim slučajevima  $<0,1$  mg/kg. Koncentracija kofeinske kiseline je bila  $<0,07$  mg/kg. Ovi rezultati su imali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Neki naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.



**Slika 48.** HPLC hromatogrami (280 nm), fenolnih ekstrakata DMU, berba 2015. god.

1- hidroksitirozol; 2- tirozol.



**Slika 49.** HPLC hromatogrami (280 nm) fenolnih ekstrakata DMU, berba 2015.god.

5- p-kumarna; 6- naringenin; 7- luteolin; 8- apigenin; 9- hrizoeriol

Tabela 21. Sastav fenolnih frakcija (mg/kg) u DMU za berbu 2015. god.

jedinjenje	Gharyan	Tarhuna	Msallata	Tripoli	Q.B.Ghashir
Tyrosol	11,4 ± 1,5 <sup>a</sup>	4,83 ± 0,30 <sup>b</sup>	4,36 ± 0,33 <sup>bc</sup>	5,76 ± 0,64 <sup>bc</sup>	8,60 ± 0,71 <sup>c</sup>
Hydroxytyrosol	10,9 ± 1,2 <sup>a</sup>	0,36 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,08 ± 0,14 <sup>b</sup>	10,7 ± 0,5 <sup>c</sup>
p-coumaric acid	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,28 ± 0,03 <sup>d</sup>	0,09 ± 0,00 <sup>e</sup>
Vanillic acid	< 0,1	< 0,1	0,18 ± 0,03	< 0,1	< 0,1
Caffeic acid	< 0,07	0,07 ± 0,00	0,09 ± 0,02	< 0,07	< 0,07
Ferulic acid	< 0,02	0,04 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,06 ± 0,00	< 0,07
Luteolin	0,90 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,86 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,07 <sup>c</sup>
p-hydroxybenzoic acid	< 0,03	< 0,03	0,08 ± 0,01	< 0,03	< 0,03
Protocatechuic acid	< 0,01	< 0,01	0,04 ± 0,00	< 0,01	< 0,01
Quinic acid	< 0,1	0,13 ± 0,02	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Naringenin	0,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,35 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,36 ± 0,01 <sup>b</sup>
Apigenin	0,40 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,45 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,69 ± 0,02 <sup>c</sup>
chrysoeriol	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>c</sup>

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05).

Ovi rezultati su bili saglasni sa onima koje je objavilo nekoliko autora za druge sorte maslinovog ulja (Stefano, 1999; Akasbi i sar., 1993). Monasterio i sar. (2013) su objavili da je hidroksitirozol imao mnogo veći antioksidativni kapacitet od onog koji je primećen za tirozol. To je u skladu sa podacima drugih autora o drugim maslinovim uljima (Tsimidou i sar., 1992; Caponio i sar., 1999). Međutim, nekoliko fenolnih jedinjenja opisanih od strane ovih autora kao što su vanilinska, p-hidroksibenzojeva, protokatehična, kininska kiselina su <01. Peres i saradnici (2016) takođe su proučavali fenolna jedinjenja u uljima "Galega Vulgar" i "Cobrancosa" tokom rane faze zrenja i oni su otkrili da je samo sedam jedinjenja bilo moguće identifikovati i kvantifikovati zbog nedostatka standarda za ostale: hidroksitirozol, tirozol, vanilinsku kiselinu, vanilin, p-kumarinsku, luteolin i apigenin, te niske količine fenolnih kiselina i fenolnih alkohola.

Hidroksitirozol i tirozol su bili u rasponu od 1,60 mg/kg za Galega vulgar DMU i 3,17 mg/kg Cobrancosa DMU i 2,19 mg/kg Cobrancosa DMU i 4,28 mg/kg Galega vulgar DMU, respektivno. Ovi rezultati su niži od naših rezultata u ovoj studiji.

Kotsiou i Tasioula-Margari (2016) takođe su proučavali fenolna jedinjenja u grčkim ekstra devičanskim maslinovim uljima tokom skladištenja i našli su da su

fenolna jedinjenja flavonoidi, luteolin i apigenin, nastali su u količinama manjim od 1,69 mg/kg i 1,49 mg/kg. Takođe jednostavne fenolne kiseline (vanilinska, p-kumarna i ferulinska kiselina) i hidroksitirozol acetat su nađeni u malim količinama. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Camargo i saradnici (2014) takođe su proučavali fenolna jedinjenja u maslinovom ulju i ovi autori su našli fenolne kiseline i fenolne alkohole. Hidroksitirozol i tirozol su bili  $3,18 \pm 0,46$  i  $2,01 \pm 0,17$  mg/kg respektivno, a ferulna kiselina i kofeinska kiselina su bili  $4,94 \pm 0,58$  i  $8,75 \pm 1,24$  mg/kg, respektivno. Takođe, vanilinska kiselina i p-kumarinska kiselina su bile  $2,12 \pm 0,14$  i  $1,01 \pm 0,04$  mg/kg, respektivno. Ovi rezultati su slični našim rezultatima u ovoj studiji.

### 4.3.3. Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola (TTC)

Tokoferoli i tokotrienoli, zajedno se skraćeno zovu tokoli i rezimirani su pod pojmom vitamin E. Oni su grupa antioksidanata rastvorljivih u masti sa hromanolnim prstenom i hidrofobnim bočnim lancem (fital u slučaju tokoferola, izoprenil u slučaju tokotrienola). Pojedinačni tokoferoli ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\lambda$ - i  $\delta$ -tokoferol) i odgovarajući tokotrienoli se razlikuju po broju i pozicijama metil supstituenata na fenolnom delu hromanolnog prstena (Schvartz i sar., 2008). Važnost ovih jedinjenja podržavaju dokazi o njihovoj ulozi u kvalitetu i autentičnosti devičanskog maslinovog ulja, kao i njihov doprinos ljudskom zdravlju (Saiago i sar., 2007; Garcia-Gonzalez i sar., 2008).

Kao dodatni važan kriterijum za procenu maslinovog ulja, ukupni tokoferoli i tokotrienoli (TTC) predstavljani su u Tabeli 22. TTC su varirali od  $209,5 \pm 2,12$  do  $350,0 \pm 14,14$  mg/kg. Najviši nivo TTC je pronađen u G14 DMU, a najniži TTC je bio u M14 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ) dok značajnih razlika nije bilo između G14 DMU i T14 DMU takođe i M14, TR14 i Q14 DMU. Za berbu 2015., TTC je bio u rasponu od  $221,6 \pm 4,31$  do  $528,6 \pm 14,49$  mg/kg. Najviši nivo TTC je pronađen u G15 DMU, a najniži TTC je bio u TR15 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja nivoa TTC za berbe 2014 i 2015. godine, variraju od  $209,5 \pm 2,12$  do  $528,6 \pm 14,49$  mg/kg. Najviši nivo je bio u G15 DMU, a najniži nivo

bio je u M14 DMU. Među ovim rezultatima je bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ). Naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.

**Tabela 22.** Sadržaj ukupnih tokoferola i tokotrienola u DMU za berbu 2014 i 2015. god.

Uzorci	2014	2015
	TTC(mg/kg)	TTC(mg/kg)
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	350,0 ± 14,14 <sup>a</sup>	528,6 ± 14,49 <sup>e</sup>
<b>Tarhuna</b>	339,5 ± 16,26 <sup>a</sup>	253,4 ± 34,86 <sup>b</sup>
<b>Msallata</b>	209,5 ± 2,12 <sup>b</sup>	334,5 ± 44,90 <sup>a</sup>
<b>Tripoli</b>	236,0 ± 8,49 <sup>b</sup>	221,6 ± 04,31 <sup>b</sup>
<b>Q, B .Ghashir</b>	242,5 ± 19,09 <sup>b</sup>	452,1 ± 18,31 <sup>d</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	624,5 ± 10,61 <sup>c</sup>	-
<b>Španija</b>	345,5 ± 0,71 <sup>a</sup>	-
<b>Grčka</b>	418,5 ± 0,71 <sup>d</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ )

Nakbi i saradnici (2010) su proučavali TTC u Chetoui i Chemlali sortama iz Tunisa i ovi autori su objavili da je ulje Chemlali imalo najviši TTC (234,30 ± 35,25 mg/kg), dok je ulje Chetoui imalo najniži TTC (270,00 ± 12,44 mg/kg). Ovi rezultati su slični sa DMU sa područja Tripoli u našoj studiji. Escuderos i sar., (2009) su ispitivali sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u devičanskom maslinovom ulju luminescentnom metodom. Ovi autori su objavili da je TTC bio u rasponu od 142,0 ± 30,0 do 329,0 ± 25,0 mg/kg. Najviši nivo bio je u Coratina ulju, a najniži nivo je bio u ulju Cornicabra. Ovi rezultati su saglasni sa našim rezultatima u ovoj studiji. Beltran i saradnici (2010) su analizirali varijabilnost vitamina E u devičanskom maslinovom ulju prema agronomskim i genetskim faktorima i oni su našli da je TTP bio 232,0 ± 23,0 i 271,0 ± 21,0 mg/kg, za Frantoio ulje i Hojiblanca ulje respektivno. Ovi rezultati su, takođe u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Podaci za talijanska i španska ulja ukazuju na širok opseg nivoa tokoferola: 55-264 mg/kg (Boskou i sar., 2006).

#### 4.3.4. HPLC analiza sastava tokoferola

Vitamin E je generički naziv koji se koristi za grupu lipidnih jedinjenja, koja uključuju 4 tokoferola ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -) i 4 tokotrienola ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -) (Beltran i sar., 2010). U devičanskom maslinovom ulju opisani su  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\delta$ -tokoferoli, od kojih  $\alpha$ -tokoferol

predstavlja više od 95% ukupnog sadržaja tokoferola i koji se kreće između 50 i 300 mg/kg (Boskou, 1996). Tokotrienoli nisu prisutni u devičanskom maslinovom ulju, dok su samo tri tokoferola kvantifikovana u procentima koji variraju od 52-87% za  $\alpha$ -tokoferol do 15-20% i 7-23% za  $\beta$ - i  $\gamma$ -tokoferole. Tokoferoli doprinose antioksidativnim osobinama devičanskog maslinovog ulja, a njihov profil i sastav često su kriterijumi čistoće (Escuderos i sar., 2009).

Sastav tokoferola analiziran pomoću HPLC je prikazan u Tabeli 23. Postoji određena razlika u sastavu tokoferola u DMU iz različitih regiona. Očigledno da su  $\alpha$ -tokoferoli posedovali veći procenat u poređenju sa  $\beta + \gamma$ ,  $\delta$ -tokoferolom u DMU. Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u uzorcima je bio od  $27,30 \pm 1,39$  do  $117,0 \pm 5,85$  mg/kg u M14, G14 DMU, dok je  $\beta + \gamma$ -tokoferol bio  $0,76 \pm 0,04$  u Q14 DMU do  $2,98 \pm 0,15$  mg/kg u T14 DMU.  $\delta$ -tokoferol se kretao od  $0,21 \pm 0,01$  u TR14 DMU do  $1,13 \pm 0,06$  mg/kg u G14 DMU. Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 23.** Sastav tokoferola DMU berbe 2014. godine

Uzorci	sastav tokoferola ( mg/ kg )			
	$\alpha$ - tokoferol	$\beta+\gamma$ - tokoferol	$\delta$ - tokoferol	Ukupan sadržaj
<i>Ulja iz Libije</i>				
Gharyan	$27,30 \pm 1,39^a$	$1,23 \pm 0,06^a$	$1,13 \pm 0,06^a$	$30,19 \pm 1,51^a$
Tarhuna	$79,17 \pm 3,96^b$	$2,98 \pm 0,15^b$	$0,31 \pm 0,02^b$	$82,46 \pm 4,12^b$
Msallata	$117,0 \pm 5,85^c$	$1,92 \pm 0,09^c$	$0,77 \pm 0,04^c$	$120,57 \pm 6,03^c$
Tripoli	$45,42 \pm 2,27^d$	$1,53 \pm 0,08^d$	$0,21 \pm 0,01^d$	$47,16 \pm 2,36^d$
Q.B.Ghashir	$37,33 \pm 1,90^e$	$0,76 \pm 0,04^e$	$0,53 \pm 0,03^e$	$38,62 \pm 1,93^e$
<i>Ulja iz Evrope</i>				
Italija	$37,30 \pm 1,87^e$	$1,39 \pm 0,07^f$	$0,66 \pm 0,03^f$	$39,35 \pm 1,97^f$
Španija	$27,15 \pm 1,36^a$	$1,46 \pm 0,07^{bf}$	$0,36 \pm 0,02^b$	$28,97 \pm 1,45^g$
Grčka	$32,37 \pm 1,62^f$	$1,21 \pm 0,06^a$	$0,36 \pm 0,02^b$	$33,94 \pm 1,70^h$

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

TC analiziran pomoću HPLC za berbu 2015. je prikazan u Tabeli 24. Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u uzorcima je bio od  $29,35 \pm 1,17$  do  $97,52 \pm 4,88$  mg/kg u G15, M15 DMU respektivno, dok je  $\beta + \gamma$ - tokoferol bio  $1,37 \pm 0,07$  u TR15 DMU i  $4,69 \pm 0,23$  mg/kg u T15 DMU.  $\delta$ -tokoferol se kretao od  $0,30 \pm 0,02$  u TR15 DMU do  $1,16 \pm 0,06$  mg/kg u G15 DMU. Ovi rezultati su imali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Naši rezultati poređenja TC analiziranih pomoću HPLC za berbe 2014. i 2015. godine, pokazuju da su među

sadržajima  $\alpha$ -tokoferola,  $\beta + \gamma$ -tokoferola i  $\delta$ -tokoferola, postojale značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ). Naši rezultati u ovoj studiji su slični rezultatima za evropska DMU.

**Tabela 24.** Sastav tokoferola DMU berbe 2015. godine

Uzorci	sastav tokoferola (mg/kg)			
	$\alpha$ - tokoferol	$\beta+\gamma$ - tokoferol	$\delta$ - tokoferol	Ukupan sadržaj
<b>Gharyan</b>	29,35 $\pm$ 1,17 <sup>a</sup>	1,89 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	1,16 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	32,4 $\pm$ 1,62 <sup>a</sup>
<b>Tarhuna</b>	78,89 $\pm$ 3,94 <sup>b</sup>	4,69 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	0,52 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	84,1 $\pm$ 4,20 <sup>b</sup>
<b>Msallata</b>	97,52 $\pm$ 4,88 <sup>c</sup>	3,54 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>	0,66 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	101,7 $\pm$ 5,09 <sup>c</sup>
<b>Tripoli</b>	48,71 $\pm$ 2,44 <sup>d</sup>	1,37 $\pm$ 0,07 <sup>d</sup>	0,30 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	50,38 $\pm$ 2,52 <sup>d</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	43,93 $\pm$ 2,20 <sup>e</sup>	1,76 $\pm$ 0,09 <sup>e</sup>	0,52 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	46,21 $\pm$ 2,31 <sup>d</sup>

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Matthaus i Ozcan (2011) su analizirali tokoferole u četiri maslinova ulja iz različitih regija Turske. Autori su приметili da se TC nalazi između 2,38 u Sarulak i 21,51 mg/kg u Gemlik ulju. Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola uzoraka je bio između 0,56 u Sarulak i 20,29 mg/kg u Gemlik ulju. Naši rezultati pokazuju da su nivoi tokoferola za libijska DMU iz različitih regija bili najviši. Procenat različitih tokoferola u maslinovom ulju bio je 88,5%  $\alpha$ -tokoferola, 9,9%  $\beta + \gamma$ -tokoferola i 1,6%  $\delta$ -tokoferola (Allam, 2001 i IOOC 1984). Beltran i saradnici (2010) su analizirali varijabilnost vitamina E u devičanskom maslinovom ulju po agronomskim i genetskim faktorima i našli su da je sadržaj  $\alpha$ -tokoferola bio 240 do 33,0 mg/kg u maslinovom ulju Frantoio i  $307 \pm 46,0$  mg/kg u maslinovom ulju Hojiblanca, dok je sadržaj  $\beta + \gamma$ -tokoferola u maslinovom ulju Frantoio iznosio između  $4,7 \pm 1,6$  mg/kg i  $7,1 \pm 3,1$  mg/kg u Picual maslinovom ulju. Ovi rezultati su slični našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.3.5. Sastav masnih kiselina (MK)

Masne kiseline prisutne u maslinovom ulju su palmitinska (C16: 0), palmitoleinska (C16: 1), stearinska (C18: 0), oleinska (C18: 1), linolna (C18: 2) i linolenska (C18: 3). Miristinska (C14: 0), heptadekanska i eikozanoinska kiseline se nalaze u tragovima (Scano i sar., 1999). Sastav masnih kiselina može se razlikovati od uzorka do uzorka, u zavisnosti od zone proizvodnje, geografske širine, klime, sorte i faze zrelosti plodova. Grčka, italijanska i španska maslinova ulja imaju nizak sadržaj linolne i palmitinske kiseline i imaju visok procenat oleinske kiseline. Tunižanska maslinova ulja su visoka u linolnim i palmitinskim

kiselinama i niža u oleinskoj kiselini. Na osnovu analize uzoraka iz različitih zemalja maslinova ulja se svrstavaju u dva tipa, jedan sa niskim sadržajem linoleikopalmitinske i visokim oleinskih kiselina, a drugi sa visokim sadržajem linoleikopalmitinske i niskim oleinske kiseline. Sastav masnih kiselina ulja zavisi i od stepena zrelosti ploda (Boskou i sar., 2006).

Rezultati za sastav masnih kiselina (MK) su sumirani u Tabeli 25. Za berbu 2014., sedam glavnih MK su detektovane u DMU uzorcima. Palmitinska, oleinska i linolna kiselina su dominantne u DMU, a druge MK su nadjene u malim količinama. Sastav MK se može razlikovati od uzorka do uzorka. Može se videti da je najveći procenat palmitinske kiseline ( $18,92 \pm 0,23\%$ ) nadjen u TR14 DMU ( $p \leq 0,05$ ), a slede Q14, M14, T14 i G14 DMU koji su imali najmanju vrednost palmitinske kiseline ( $11,81 \pm 0,01\%$ ). Esencijalne MK (linolna i linoleinska) takođe su registrovane u Tabeli 25. Oleinska kiselina je dominantna u poređenju sa linolnom i linoleinskom.

Najveći procenat oleinske kiseline je pronađen u G14 DMU ( $68,44 \pm 0,06\%$ ), dok je najniži procenat bio u TR14 DMU ( $46,83 \pm 0,02\%$ ). Linolna kiselina imala najveći procenat u TR14 DMU ( $28,87 \pm 0,10\%$ ), a najniži procenat je bio u T14 DMU ( $13,89 \pm 0,09\%$ ). Ovi rezultati su pokazali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati pokazuju da je linoleinska kiselina u malom procentu u poređenju sa oleinskom i linolnom kiselinom. TR14 DMU je imalo najveći procenat linoleinske kiseline ( $0,87 \pm 0,05\%$ ). Ne postoji značajna razlika između G14, T14 i M14 DMU, kao i između TR14 i Q14 DMU. Generalno, TR14DMU je imalo najvišu vrednost u SFA i PUFA, dok je G14 DMU imalo najveću vrednost u MUFA.

Kao što je prikazano u Tabeli 26. za berbu godine 2015., takođe je detektovano sedam glavnih MK u uzorcima DMU. Najveći procenat palmitinske kiseline ( $18,77 \pm 0,05\%$ ) je bio u TR15 DMU ( $p \leq 0,05$ ), a sledili su T15, Q15, M15 i G15 DMU, koja su imala najmanju vrednost palmitinske kiseline ( $13,20 \pm 0,23\%$ ). Esencijalne MK (linolna i linoleinska) takođe su registrovana u Tabeli 26. Oleinska kiselina je dominantna u poređenju sa linolnom i linoleinskom.

Najveći procenat oleinske kiseline je pronađen u G15 DMU ( $70,09 \pm 0,18\%$ ), dok je najmanji procenat bio u TR15 DMU ( $52,14 \pm 0,05\%$ ). Linolna kiselina imala najveći procenat

u TR15 DMU ( $23,11 \pm 0,03\%$ ). Najniži procenat je bio u G15 DMU ( $11,55 \pm 0,34\%$ ). Ovi rezultati su imali značajne razlike ( $p \leq 0,05$ ).





Tabela 25. Sastav masnih kiselina DMU za berbu 2014. godine

MK(% m/m)	Ulja iz Libije					Ulja iz Evrope		
	Gharyn	Trahuna	Msallata	Tripoli	Q.B.Ghashir	Italija	Španija	Grčka
16:0	11,81 ± 0,01 <sup>a</sup>	15,40 ± 0,06 <sup>b</sup>	16,29 ± 0,47 <sup>c</sup>	18,92 ± 0,23 <sup>d</sup>	18,24 ± 0,03 <sup>e</sup>	10,78 ± 0,05 <sup>f</sup>	12,93 ± 0,09 <sup>g</sup>	11,75 ± 0,03 <sup>a</sup>
16:1	0,29 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,72 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,07 <sup>cb</sup>	2,57 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,53 ± 0,02 <sup>e</sup>	0,60 ± 0,02 <sup>f</sup>	01,13 ± 0,01 <sup>g</sup>	0,71 ± 0,01 <sup>h</sup>
18:0	2,63 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,51 ± 0,01 <sup>b</sup>	2,95 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,64 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,87 ± 0,01 <sup>e</sup>	2,73 ± 0,03 <sup>a</sup>	02,67 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,01 <sup>ab</sup>
18:1	68,44 ± 0,06 <sup>a</sup>	65,54 ± 0,21 <sup>b</sup>	60,99 ± 1,00 <sup>c</sup>	46,83 ± 0,02 <sup>d</sup>	48,29 ± 0,06 <sup>e</sup>	77,87 ± 0,25 <sup>f</sup>	70,34 ± 0,09 <sup>g</sup>	75,12 ± 0,19 <sup>h</sup>
18:2n-6	15,65 ± 0,10 <sup>a</sup>	13,89 ± 0,09 <sup>b</sup>	17,09 ± 0,41 <sup>c</sup>	28,87 ± 0,10 <sup>d</sup>	27,92 ± 0,01 <sup>e</sup>	6,91 ± 0,12 <sup>f</sup>	11,86 ± 0,11 <sup>g</sup>	8,64 ± 0,07 <sup>h</sup>
18:3n-3	0,66 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,87 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,83 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,77 ± 0,07 <sup>c</sup>	0,73 ± 0,02 <sup>ac</sup>	0,80 ± 0,04 <sup>c</sup>
20:0	0,30 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,29 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,05 <sup>b</sup>
20:1	0,22 ± 0,01	-	-	-	-	-	-	-
ΣSFA <sup>A</sup>	14,44	18,21	19,56	20,85	20,43	13,85	15,94	14,74
ΣMUFA <sup>B</sup>	68,95	67,26	62,77	49,4	50,82	78,47	71,47	75,83
ΣPUFA <sup>C</sup>	16,31	14,53	17,67	29,74	28,75	7,68	12,59	9,44
ΣMUFA + ΣPUFA	82,27	81,79	80,44	79,14	79,57	86,15	84,06	85,27
ΣMUFA / ΣSFA	4,57	3,69	3,21	2,37	2,49	5,67	4,48	5,14
ΣPUFA / ΣSFA	1,13	0,80	0,90	1,43	1,41	0,55	0,79	0,64
ΣMUFA + ΣPUFA / ΣSFA	5,70	4,49	4,11	3,80	3,89	6,22	5,27	5,78
ω- 6 / ω- 3 <sup>D</sup>	23,7	21,7	29,5	33,2	33,6	8,9	16,3	10,8

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istom redu ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ). A; Ukupne zasićene masne kiseline. B; Ukupne mononezasićene masne kiseline. C; Ukupne polinezasićene masne kiseline. D; Linolna kiselina/Linoleinska kiselina.

**Tabela 25.** Sastav masnih kiselina DMU za berbu 2015. godine

MK (% m/m)	Gharyan	Trahuna	Msallata	Tripoli	Q.B. Ghashir
<b>16 : 0</b>	13,20 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	17,76 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	16,22 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	18,77 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	17,44 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>
<b>16 : 1</b>	1,08 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	2,02 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	1,69 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	2,48 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	2,18 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
<b>18 : 0</b>	2,98 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	2,43 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	2,66 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	2,39 $\pm$ 0,01 <sup>db</sup>	2,18 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
<b>18 : 1</b>	70,09 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	55,66 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	61,35 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	52,14 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>	55,77 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>
<b>18 :2n-6</b>	11,55 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	21,02 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	17,01 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	23,11 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	21,26 $\pm$ 0,05 <sup>be</sup>
<b>18 : 3n-3</b>	0,64 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,76 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,70 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	0,75 $\pm$ 0,02 <sup>abc</sup>	0,81 $\pm$ 0,02 <sup>bcd</sup>
<b>20 : 0</b>	0,46 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,36 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
<b>20 : 1</b>	-	-	-	-	-
<b><math>\Sigma</math>SFA<sup>A</sup></b>	16,64	20,55	19,24	21,52	19,98
<b><math>\Sigma</math>MUFA<sup>B</sup></b>	71,17	57,68	63,04	54,62	57,95
<b><math>\Sigma</math>PUFA<sup>C</sup></b>	12,19	21,7	17,71	23,86	22,07
<b><math>\Sigma</math>MUFA +<math>\Sigma</math>PUFA</b>	83,36	79,46	80,75	78,48	80,02
<b><math>\Sigma</math>MUFA /<math>\Sigma</math>SFA</b>	4,28	2,81	3,28	2,54	2,90
<b><math>\Sigma</math>PUFA /<math>\Sigma</math>SFA</b>	0,73	1,06	0,92	1,11	1,10
<b><math>\Sigma</math>MUFA +<math>\Sigma</math>PUFA /<math>\Sigma</math>SFA</b>	5,01	3,87	4,20	3,65	4
<b><math>\omega</math>- 6 / <math>\omega</math>- 3<sup>D</sup></b>	18	27,7	24,3	30,8	26,2

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  standardna odstupanja ( $n = 3$ ). Različita slova u istom redu ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ). A; Ukupne zasićene masne kiseline. B; Ukupne mononezasićene masne kiseline. C; Ukupne polinezasićene masne kiseline. D; Linolna kiselina / Linoleinska kiselina.

Naši rezultati pokazuju da Q15 DMU ima najveći procenat linoleinske kiseline ( $0,81 \pm 0,02$ ). Ne postoji značajna razlika između G15, M15 i TR15 DMU, kao ni između T15 i M15 DMU. Generalno, TR15 DMU je imalo najvišu vrednost u SFA i PUFA, dok je G15 DMU imalo najvišu vrednost u MUFA.

Naši rezultati poređenja za MK, za berbe 2014. i 2015. godine, pokazuju da je prisutno sedam glavnih MK u DMU uzorcima. Palmitinska, oleinska i linoleinska su kiseline dominantne u DMU. Druge MK su prisutne u malim količinama. Među uzorcima je bilo značajnih razlika ( $p \leq 0,05$ ). Neki naši rezultati u ovoj studiji su slični evropski DMU.

MK distribucija maslinovog ulja prema Međunarodnom savetu za maslinovo ulje (1984) je: 55,0-83,0% oleinske, 7,5-20,0% palmitinske, 3,5-21,0% linolna i 0,5-5,0% stearinske kiseline. Boggia i saradnici (2005) su određivali FA u maslinovim uljima sorte Kolumbija; rezultati su bili: 61,96-72,03% oleinske, 9,78-18,30% linolne, 13,15-14,77% palmitinske i 2,35-3,90% stearinske kiseline. Ranalli i saradnici (1997) su našli da je procenat oleinske kiseline negativno koreliran sa relativnom vlažnošću atmosfere.

Chtourou i saradnici (2013) su takođe proučavali DMU iz Tunisa (Chemlali Sfaks i Arbekuina) i ovi autori su našli da je ulje Arbekuina imalo veći procenat oleinske kiseline (63,85%) u poređenju sa Chemlali Sfaks, dok je najniži procenat ove FA bio (58,04%). Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji, gde je isto nadjeno da je oleinska kiselina dominantna.

Chourou i saradnici (2013) su takođe proučavali SFA, MUFA i PUFA u DMU iz Tunisa, gde su autori utvrdili da su SFA u Chemlali Sfaks DMU bile (21,05%), MUFA (66,07%) u Arbekuini DMU i PUFA su bile (18,11%) u Chemlali DMU. Libijska DMU iz različitih regiona su imala sličan procenat ukupnih nezasićenih masnih kiselina. Noorali i saradnici (2014) su proučavali sastav masnih kiselina maslinovog ulja kao indikator sorte i područja uzgoja i našli su da su sorte Beleidi klasifikovane kao sorte sa visokim nivoima linoleinske kiseline ( $13,44 \pm 0,07$  i  $14,90 \pm 0,05\%$  u Kom i Gorgan respektivno), i palmitinske kiseline ( $17,66 \pm 0,95$  i  $16,18 \pm 0,22\%$  u Kom i Gorgan, respektivno) i niske oleinske kiseline ( $61,84 \pm 0,84$  i  $61,77 \pm 0,10\%$  u Kom i Gorgan, respektivno). Takođe ulja sorti Beleidi su bogate sa SFA ( $20,88 \pm 0,85$  i  $19,65 \pm$

0,16% u Kom i Gorgan, respektivno) i PUFA ( $14,28 \pm 0,0$  i  $15,78 \pm 0,06\%$  u Kom i Gorgan, respektivno). Sorte koje su uzgajale u području Kom imale su manji PUFA/SFA odnos od onih koji su odrasli u Gorganu. Ovo su rezultati slični našim rezultatima.

#### 4.3.6. Određivanje bioaktivnosti DMU

Glavni antioksidanti u DMU su lipofilni i hidrofilni fenoli, uz prisustvo karotenoida. Alfa tokoferol (lipofilni fenol) je primarni antioksidant, i predstavlja glavni tokoferol u DMU, sa širokim rasponom koncentracije (23-751 mg/kg) (Servili i sar., 2014). Fenoli, sekundarni biljni metaboliti, glavni su antioksidanti u DMU i predstavljaju složenu matricu jedinjenja gde su derivati oleuropeina i ligstrozida najrašireniji u mnogim sortama. Koncentracija lipofilnih i hidrofilnih fenola varira u uljima i zavisi od agronomskih i klimatskih faktora (Romero i sar., 2016).

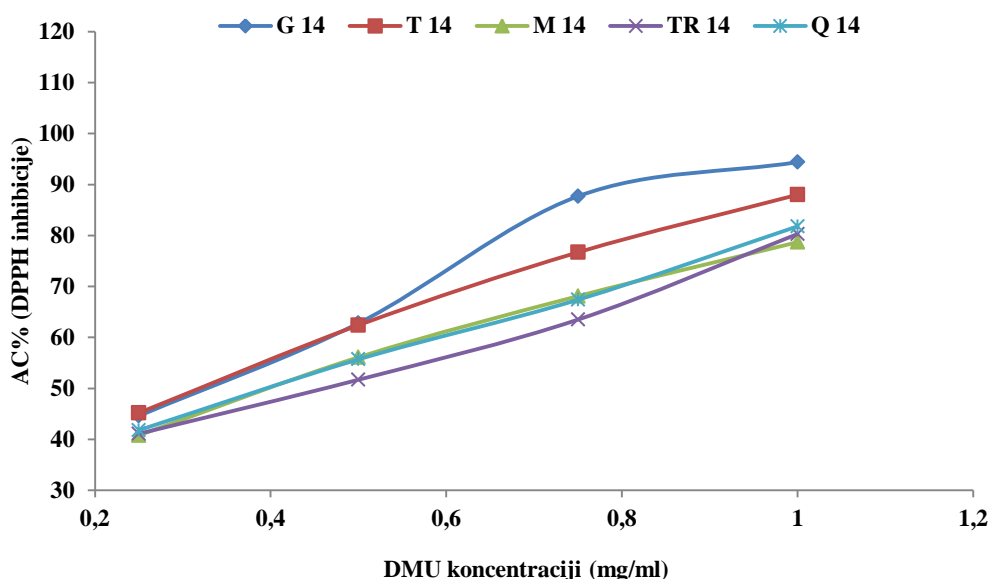
##### 4.3.6.1. Antiradikalni kapacitet DMU na bazi DPPH testa

Antioksidanti prisutni u DMU odlažu autooksidaciju inhibiranjem formiranja slobodnih radikala ili prekidanjem širenja slobodnih radikala pomoću nekoliko mehanizama. Najefikasniji antioksidanti su oni koji prekidaju lančanu reakciju slobodnih radikala (Ballus i sar., 2015; Brever, 2011). Među metodama ispitivanja primenjuje se određivanje sadržaja ukupnih fenola pomoću reagensa Folin-Ciocalteu (FCR) i test kapaciteta hvatanja radikala pomoću 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH test). In *vitro* DPPH• test je široko prihvaćen kao metoda za procenu aktivnosti antioksidanata u hvatanju slobodnih radikala (Brahmi i sar., 2012). Štaviše, ovaj test je prihvaćen kao model za merenje slobodnih radikala poreklom iz lipida (Arabshahi-Delouee i Urooj, 2007). Smatra se da je efekat antioksidanata na DPPH• ostvaruje zbog njihove sposobnosti doniranja vodonika (Baumann i sar., 1979).

Uočeno je da su (%) udeli inhibicije u DPPH testovima DMU za različite sorte bile povezane sa povećanjem koncentracije fenolnih jedinjenja uzoraka, što zavisi prvenstveno od sadržaja polifenola i tokoferola koji igraju ključnu ulogu antioksidanta. Kao što je prikazano na slici 50. G14 DMU je pokazalo znatno veći ( $P \leq 0,05$ )  $AC^{DPPH}$  (antiradikalni kapacitet u odnosu na DPPH) od 94,4% kada je koncentracija uzorka bila (1,00 mg/ml) u poređenju sa drugim

DMU. Efekt hvatanja DPPH radikala opadao je redosledom: G14> T14> Q14> TR14 DMU, dok je M14 DMU pokazalo najniži  $AC^{DPPH}$  koji je bio 78,2% u (1,00 mg/ml).

$EC_{50}$  je definisana kao neophodna koncentracija pri kojoj su radikali generisani u reakcionim sistemima umanjani za 50% i može poslužiti kao indikator aktivnosti hvatanja (eliminacije, čišćenja) slobodnih radikala. Vrednost  $EC_{50}$  izražava koncentraciju (mg/ml) DMU neophodnu da bi se smanjila apsorpcija DPPH radikala za 50%. Vrednost se može grafički odrediti ilustracijom inhibicije % DPPH• prema koncentraciji (mg/ml) DMU, a zatim upotrebom regresione jednačine za izračunavanje  $EC_{50}$ . Veća  $EC_{50}$  vrednost odgovara nižim aktivnostima hvatanja DPPH radikala.



**Slika 50.** Udeo inhibicije DPPH radikala (%) prema koncentraciji (mg/ml) DMU za berbu 2014.

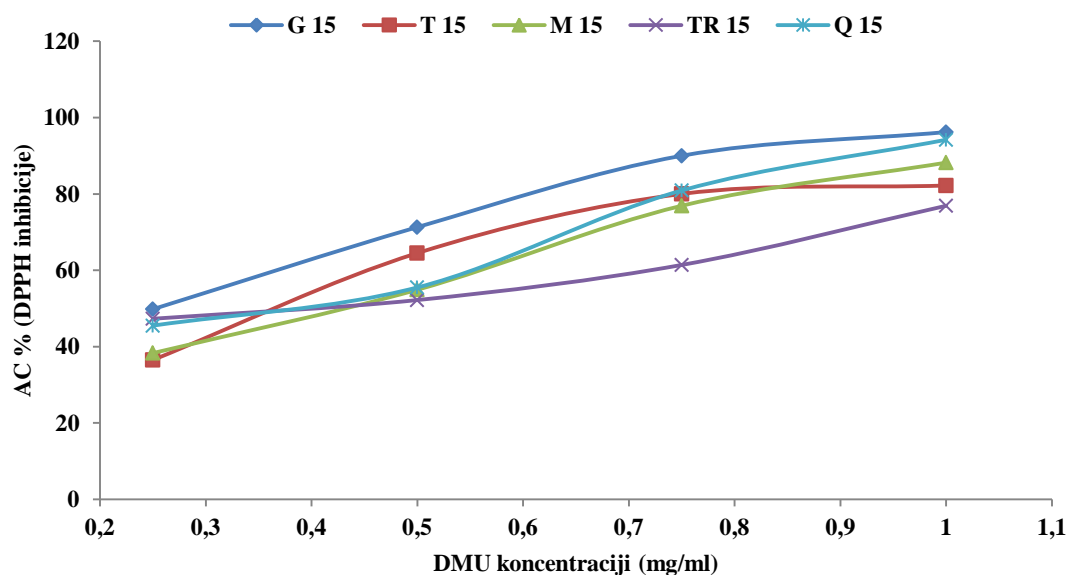
Vrednosti  $EC_{50}^{DPPH}$  DMU u svim uzorcima su izračunate i navedene u Tabeli 27.  $EC_{50}^{DPPH}$  vrednost DMU u ovoj studiji varira od 0,30 do 0,45 (mg/ml). Shodno tome, najveća  $EC_{50}^{DPPH}$  je registrovana u TR14 DMU, dok je najniža  $EC_{50}^{DPPH}$  pronađena u G14 DMU ( $P \leq 0,05$ ). Kao što je prikazano u Tabeli 27., G14 DMU je imao najveći antiradikalni potencijal-ARP praćen sa T14, M14 i Q14 DMU, a najniži ARP je pronađen u TR14 DMU.

Tabela 27. Antiradikaliski kapacitet DMU za berbu 2014. godine

Uzorci	DPPH* čišćenje (%)*	EC <sub>50</sub> <sup>DPPH</sup> (mg/ml)	ARP 1/EC <sub>50</sub> <sup>DPPH</sup> ( ml/mg)
<i>Ulja iz Libije</i>			
Gharyan	94,4 ± 0,28 <sup>a</sup>	0,30	3,29
Tarhuna	88,0 ± 1,41 <sup>b</sup>	0,31	3,25
Msallata	78,2 ± 0,13 <sup>c</sup>	0,41	2,45
Tripoli	80,3 ± 0,14 <sup>d</sup>	0,45	2,32
Q. B. Ghashir	81,4 ± 0,34 <sup>de</sup>	0,40	2,48
<i>Ulja iz Evrope</i>			
Italija	96,6 ± 0,28 <sup>f</sup>	0,34	2,97
Španija	96,5 ± 0,28 <sup>f</sup>	0,16	6,21
Grčka	95,3 ± 0,28 <sup>f</sup>	0,17	6,00

\*Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti (p ≤ 0,05). ARP; antiradikaliski potencijal. EC<sub>50</sub><sup>DPPH</sup>; količina uzorka ulja potrebna za smanjenje početne koncentracije DPPH\* za 50%.

Kao što je prikazano na slici 51. G15 DMU je pokazalo značajno veći ( $P \leq 0,05$ ) AC<sup>DPPH</sup>, koji je bio 96,2% kod koncentracije uzorka (1,00 mg/ml) u poređenju sa drugim DMU. Efekt eliminacije DPPH radikala opadao je redosledom: G15 > Q15 > M15 > T15 DMU, dok je TR15 DMU pokazalo najmanji AC<sup>DPPH</sup>%, koji je bio 76,9% pri koncentraciji od 1,00 mg/ml.



Slika 51. Udeo inhibicije DPPH radikala (%) prema koncentraciji (mg/ml) DMU za berbu 2015. godine

Vrednosti  $EC_{50}^{DPPH}$  DMU u svim DPPH testovima su izračunate i navedene u tabeli 28.  $EC_{50}^{DPPH}$  vrednost za DMU u ovoj studiji variraju od 0,20 do 0,41 (mg/ml). Shodno tome, najveći  $EC_{50}^{DPPH}$  je registrovan u M15 DMU, dok je najniži  $EC_{50}^{DPPH}$  pronađen u G15 DMU ( $P \leq 0,05$ ). Kao što je prikazano u Tabeli 28., G15 DMU je imao najvišu ARP praćenu sa Q15, T15, TR15 DMU dok je najniža ARP pronađena u M15 DMU.

**Tabela 28.** Antiradikalni kapacitet DMU za berbu 2015. godine

Uzorci	DPPH* čišćenje (%)*	$EC_{50}^{DPPH}$ (mg/ml)	ARP 1/ $EC_{50}^{DPPH}$ ( ml/mg)
Gharyan	96,2 ± 0,20 <sup>a</sup>	0,20	5,00
Tarhuna	82,2 ± 1,00 <sup>b</sup>	0,37	2,73
Msallata	88,2 ± 1,00 <sup>c</sup>	0,41	2,43
Tripoli	76,9 ± 1,00 <sup>d</sup>	0,38	2,60
Q. B. Gashir	94,2 ± 0,20 <sup>a</sup>	0,35	2,87

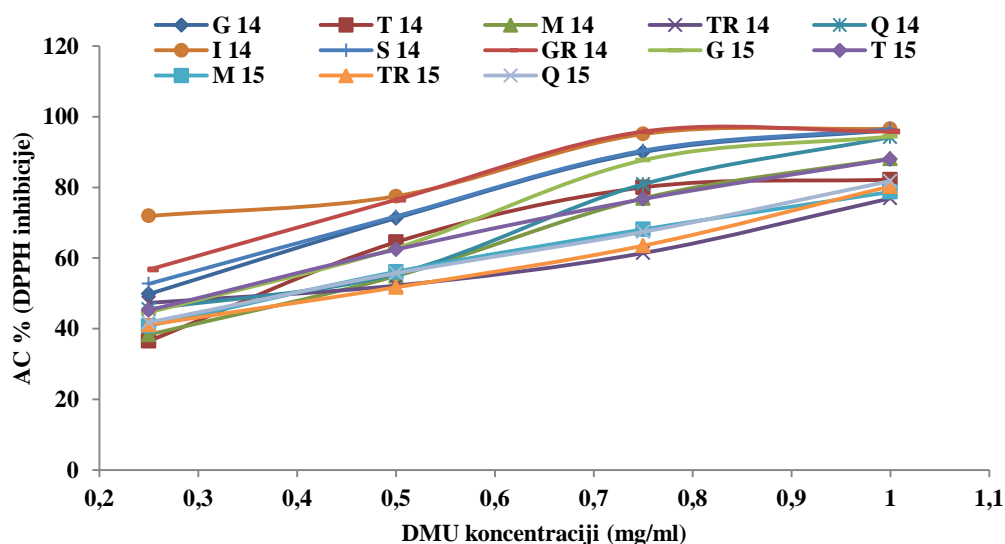
\* Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ). ARP; antiradikalna moć.  $EC_{50}^{DPPH}$ ; koncentracija uzorka potrebna za smanjenje početne koncentracije DPPH \* za 50%.

Naši rezultati poređenja za berbe 2014.i 2015., su prikazani na slici 52. Italijansko I14 DMU je pokazalo značajno veći ( $P \leq 0,05$ )  $AC^{DPPH}$ , koji je bio 96,6% kada je koncentracija ulja bila 1,00 mg/ml u poređenju sa drugim DMU, dok je TR15 DMU pokazao najmanji  $AC^{DPPH}$  koji je bio 76,9% (pri 1,00 mg/ml). Postojale su značajne razlike među uzorcima ( $p \leq 0,05$ ). Naši rezultati u ovoj studiji su pokazali manje vrednosti antiradikalne aktivnosti od vrednosti kod evropskih DMU.

Vrednosti  $EC_{50}^{DPPH}$  DMU u svim DPPH testovima su izračunate i navedene u tabeli 27 i 28 .  $EC_{50}^{DPPH}$  vrednosti DMU u ovoj studiji varira od 0,16 do 0,45 (mg/ml). Shodno tome, najveći  $EC_{50}^{DPPH}$  je registrovan u TR14 DMU, dok je najniži  $EC_{50}^{DPPH}$  pronađen u S14 DMU ( $P \leq 0,05$ ). Kao što je prikazano u Tabeli 27 i 28., ARP je bio u rasponu od 2,33 do 6,21 ml/mg.



Ulje iz Španije, S14 DMU je imalo najveći ARP, a najniži ARP je pronađen u TR14 DMU. Naši rezultati u ovoj studiji su niži od vrednosti za evropska DMU. Antiradikalni kapacitet (AC) maslinova ulja zavisi od nekoliko faktora kao što su sorta, agro-klimatski uslovi i metode uzgoja maslina (Beltran i sar., 2005).



**Slika 52.** Udeo inhibicije DPPH radikala (%) prema koncentraciji (mg/ml) DMU za berbu 2014. i 2015. godine

$EC_{50}^{DPPH}$  u ovoj studiji je bio veći od  $EC_{50}^{DPPH}$  vrednosti koje su dobili Chtourou i saradnici (2013). Ovi autori su našli da je vrednost  $EC_{50}^{DPPH}$  za ulje Chemlali Sfaks bila 0,01 mg/ml, dok je za Arbekuina ulje bila 0,02 mg/ml. Bubonja-Sonje i saradnici (2011) su proučavali antioksidativnu i antilisterijsku aktivnost polifenolnih ekstrakata maslinovog ulja, kakaoa i ruzmarina. Ovi autori su utvrdili da je vrednost  $EC_{50}^{DPPH}$  madagaskarskog maslinovog ulja bila 0,03 mg/ml. Ovaj rezultat je znatno niži od vrednosti dobijenih u ovoj studiji. Franco i saradnici (2014) su proučavali fenolna jedinjenja i antioksidativni kapacitet devičanskog maslinovog ulja i autori su utvrdili da je vrednost  $EC_{50}$  bila u rasponu od 0,01 do 0,02 mg/ml, gde je najviša vrednost bila u ulju Morisca, a najniža u Caraskuena ulju.

Ove vrednosti su, takođe znatno manje od vrednosti u našoj studiji. Nakbi i saradnici (2010) su radili procenu antioksidativnih aktivnosti fenolnih jedinjenja iz dva tipa ekstra

devičanskih maslinovih ulja; autori su otkrili da je  $AC^{DPPH}$  bio  $37,23 \pm 0,92\%$  u Chemlali ulju i  $78,56 \pm 5,69\%$  u Chetoui ulju. Ove vrednosti su niže od vrednosti u našoj studiji. Issaoui i saradnici (2010) takođe su proučavali AC između Chemlali i Chetoui maslinovih ulja i autori su otkrili da je  $EC_{50}$  vrednost bila u rasponu od 0,06 do 0,79 mg/ml. Najviša vrednost je bila za maslinovo ulje Southern Chemlali, a najmanja vrednost za severni Chetoui. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.4. Procena oksidativne stabilnosti - rok trajanja

Oksidativna stabilnost (OS) je jedan od glavnih parametara za procenu kvaliteta ulja i masti jer daje dobru procenu njihove podložnosti oksidativnoj degradaciji, glavnom izvoru njihove izmene u sastavu (Carrasco-Pancorbo i sar., 2005). Devičansko maslinovo ulje, jedno od nekoliko ulja koje se dobija bez hemijskog tretmana, ima visoku otpornost na oksidativno kvarenje, uglavnom zbog dva razloga: prvo, sastav njegovih masnih kiselina karakteriše visok odnos mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina, a drugo, sadrži bazu minornih jedinjenja moćne antioksidativne aktivnosti među kojima se ističu polifenoli (Velasco i Dobarganes, 2002).

Pogoršanje kvaliteta ulja je uglavnom zbog oksidacije izazvane visokom reaktivnošću slobodnih radikala prema masnim kiselinama. Iako su uvedene brze metode procene oksidativne stabilnosti ulja, kao što je aparat Rancimat (Salvador i sar., 1999), koji dobro korelira sa metodom aktivnog kiseonika, nijedan od utvrđenih kriterijuma kvaliteta nije objavljen da dobro korelira sa rokom trajanja maslinovog ulja. Oksidacija je glavni uzrok degradacije kvaliteta maslinovog ulja i njena brzina reakcije određuje rok trajanja ulja (Gomez-Alonso i sar., 2007). Oksidacija koja se javlja u jestivim uljima odnosi se na gubitak manjih komponenti i stvaranje novih jedinjenja, uzrokujući nutritivne gubitke, kao i razvoj užeglih i drugih ukusa (Velasco i sar., 2003; Sun-Vaterhouse i sar., 2011; Cicerale i sar., 2013).

Uslovi skladištenja smatraju se kritičnim varijablama koje utiču na kvalitet maslinovog ulja i rok trajanja je taj koji se pripisuje mehanizmu oksidacije lipida koji dovodi do užegnuće (Vacca i sar., 2006). Pošto se maslinovo ulje proizvodi u ograničenom vremenskom

periodu, ali konzumira tokom cele godine, ono mora biti uskladišteno i ovaj period skladištenja određuje "komercijalni život" maslinovog ulja (Hrncirik i Fritsche, 2005; Zaroni i sar., 2005).

#### **4.4.1. Test na bazi fluorescentnog svetla**

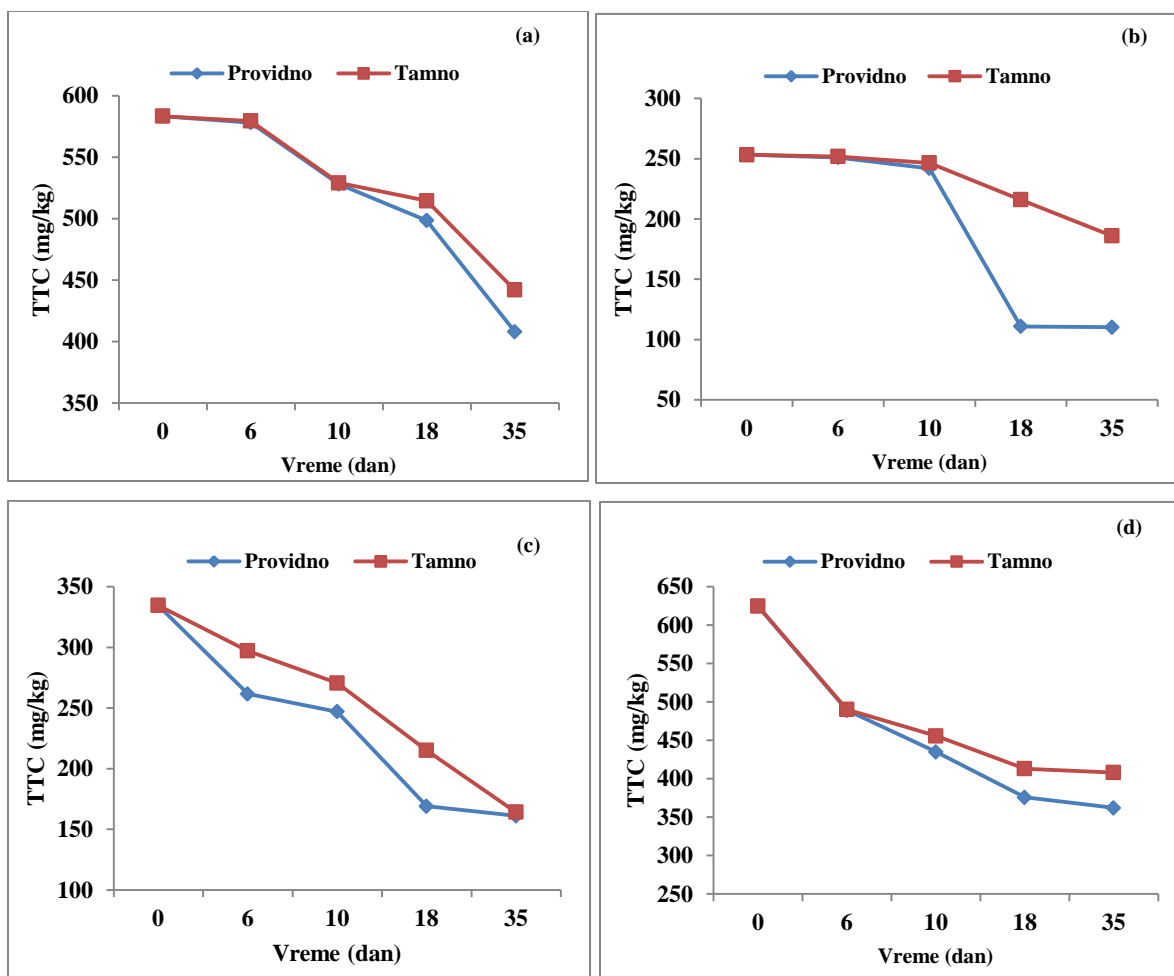
##### **4.4.1. Fluorescentni test**

Svetlost je treća važna spoljna varijabla koja ima veliki uticaj na fotoensenzibilizovanu oksidaciju. Poznato je da manja jedinjenja (hlorofil i derivati u devičanskom maslinovom ulju) mogu biti elektronski pobuđeni zbog apsorpcije svetlosti. Nakon toga, takav molekul je u stanju da prenese svoj višak energije na molekul kiseonika, što dovodi do singletnog kiseonika, koji reaguje sa olefinskim dvostrukim vezama pomoću "jednog" tipa mehanizma. Primećeno je da singlet kiseonik reaguje oko 1000-10,000 puta brže od normalnog kiseonika u tripletnom stanju na temperaturi okoline. Zbog toga je prevencija fotodoksidacije tokom skladištenja od velike važnosti za osiguranje visoke oksidativne stabilnosti ulja (Jadhav i sar., 1995; Velasco i Dobarganes, 2002).

Kvalitet maslinovog ulja počinje da se pogoršava neposredno od vremena njegovog izdvajanja i moraju se usvojiti sve metode koje su na raspolaganju za smanjenje stope ovog pogoršanja. Ovaj projekat je pokazao da su niska temperatura skladištenja i isključivanje kiseonika važni faktori u održavanju dužeg roka trajanja maslinovog ulja. Takođe je pokazano da izlaganje svetlosti utiče na sastav maslinovog ulja i stoga su uslovi skladištenja koji isključuju svetlost takođe važan faktor (Aiton i sar., 2012).

##### **4.4.1.1. Promena ukupnog sadržaja tokoferola**

Slika 53 prikazuje zavisnost ukupnog sadržaja tokoferola u uzorcima ulja od vremena provedenog pod uticajem fluorescentnog svetla.



**Slika 53.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ukupni sadržaj tokoferola (mg/kg) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana. (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Izlaganje svetlosti je značajno uticalo na promenu sadržaja tokoferola ulja u ovoj studiji. Smanjenje sadržaja tokoferola je započeto, neposredno nakon izlaganja ulja fluorescentnoj svetlosti. Degradacija tokoferola se, međutim, odvijala različitim intenzitetom u zavisnosti od uzorka. Kod libijskih ulja u periodu do oko deset dana smanjenje je sadržaja tokoferola bilo slabije, a nakon toga je usledio njihov ubrzan nestanak. Odmah nakon skladištenja ulja, oni koji su izloženi svetlosti pali su tokom prvih 10 dana skladištenja, smanjenje sadržaja tokoferola se pokazalo daleko sporijim. Kao primer, Gharyan DMU je imao sadržaj tokoferola od  $583,3 \pm 5,66$  mg/kg, koji se smanjio na  $408 \pm 0,02$  mg/kg nakon 35 dana skladištenja, izložen svetlosti. Od šestog dana

skladištenja pa do kraja analize, 35. dana skladištenja, sadržaj tokoferola je npr. u Tarhuna DMU bio  $253,3 \pm 0,01$  mg/kg i pao je do  $110,2 \pm 7,99$  mg/kg. Sva ulja izložena svetlosti su pokazala približno sličan obrazac. Uzorci čuvani u tamnoj ambalaži pokazali su sličan trend promene sadržaja tokoferola, ali sa slabije izraženom degradacijom.

Takođe se može reći da ne postoji značajna razlika u sadržaju tokoferola nakon testa između uzoraka u providnom i onih u tamno smeđoj ambalaži. Najočiglednije razlike se vide u uzorku ulja sa područja Tarhuna na kraju testa.

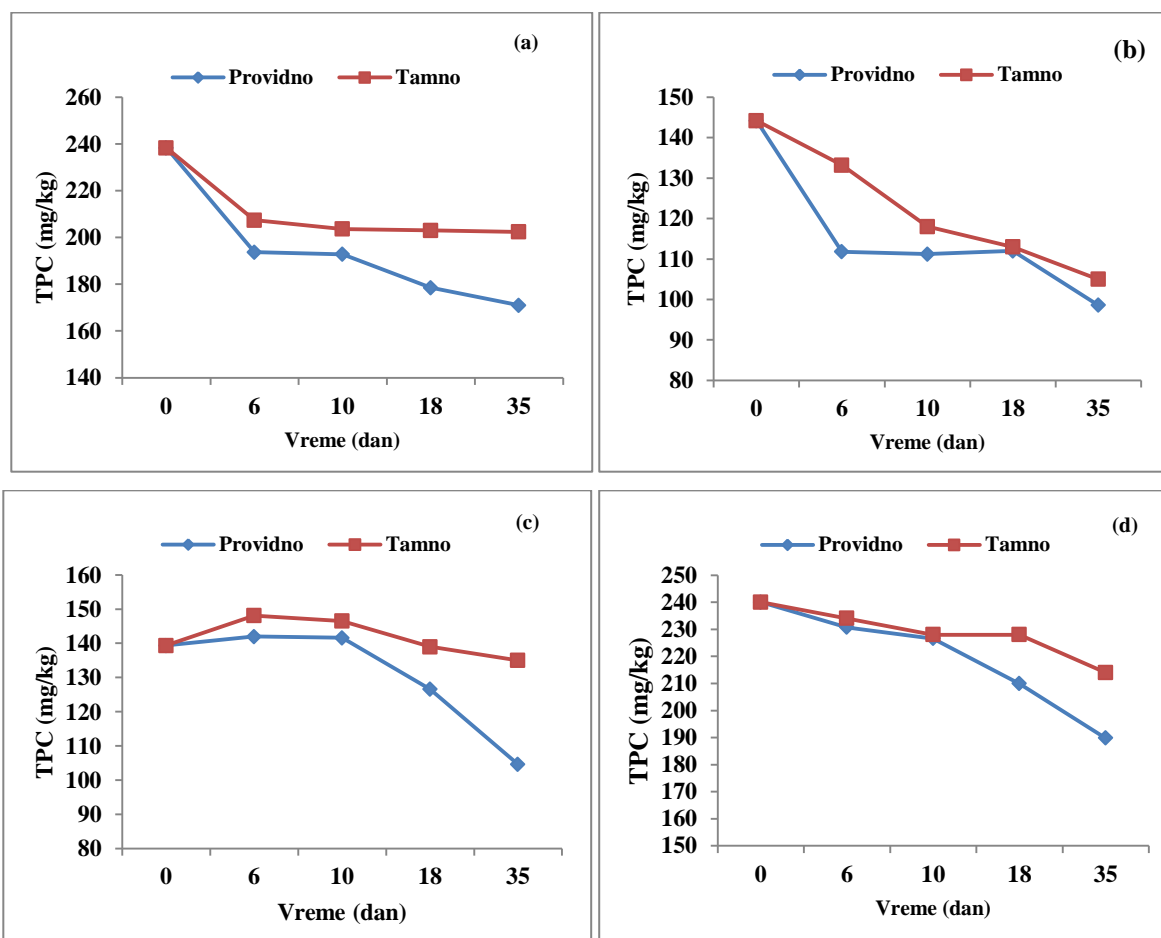
Takođe, u uzorcima Msallata i Italije, nakon završetka testa, pronađen je veći ukupni sadržaj tokoferola u uzorcima koji su bili izloženi svetlosti u tamno-smeđoj ambalaži, u odnosu na one uzorke ulja u transparentnoj ambalaži. Rezultati pokazuju pozitivan zaštitni efekat tamne ambalaže na smanjenje ukupnog sadržaja tokoferola u uljima. Tokoferoli pod uticajem fluorescentne svetlosti su podložni oksidaciji, koja može uticati na određenu promenu boje, kao i na stabilnost ulja kojoj značajno doprinose.

Postoji veći pad tokoferola u uzorcima izloženim svetlosti. Rezultati ovog istraživanja u potpunosti su saglasni sa onima iz drugih studija (Caponio i sar., 2005; Bilancia i sar., 2007). Tokoferoli imaju prirodnu antioksidativnu aktivnost i inhibiraju proces oksidativne dekompozicije ulja. Prosečan udeo tokoferola u maslinovom ulju iznosi 150-330 mg/kg, a najveća količina je u  $\alpha$ -formi (vitamin E), koja ima najznačajnije biološke aktivnosti. Kvantitativna veza između vitamina E izražena u mg i proporcije polinezasićenih masnih kiselina ne bi trebalo da bude manja od 0,79 mg/g, da bi  $\alpha$ -tokoferol imao ovu važnu pomenutu ulogu. U maslinovom ulju ovaj odnos je oko 3 mg/g (Žanetić i Gugić, 2006).

Vacca i saradnici (2006) su proučavali promene u parametrima kvaliteta, antioksidantna jedinjenja, oksidativnu stabilnost i antioksidativnu aktivnost EDMU iz sorte "Bosana", izložene svetlosti i tami tokom skladištenja u periodu od 18 meseci. Analiza podataka je pokazala da su svi parametri pretrpeli značajne promene tokom skladištenja: sadržaj  $\alpha$ -tokoferola je smanjen tokom skladištenja (29,6%). Što se tiče uslova izlaganja svetlosti, skladištenje u mraku bilo je efikasnije u zadržavanju kvaliteta ulja.

#### 4.4.1.2. Promene sadržaja ukupnih fenola

Fenolna jedinjenja su od osnovnog značaja u devičanskom maslinovom ulju za njihove nutritivne osobine, senzorske karakteristike i rok trajanja proizvoda (Morello i sar., 2004; Servili i sar., 2008). Na slici 56. prikazana je zavisnost ukupnog sadržaja fenola u uzorcima ulja i vremena provedenog pod uticajem fluorescentnog svetla.



Slika 54. Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ukupni sadržaj tokoferola (mg/kg) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana. (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija

Sadržaj fenolnih jedinjenja može značajno da varira u devičanskim maslinovim uljima, što zavisi od više faktora, pre svega sorte, stepena zrelosti i procesa ekstrakcije ulja.

Izloženost svetlosti nije značajno uticala na ukupan sadržaj fenola ulja u ovoj studiji. Sva ulja pokazuju smanjenje ukupnog sadržaja fenola tokom vremena. Na primer, kod Gharyan DMU se sadržaj smanjio sa  $238,3 \pm 0,07$  mg/kg na  $171,0 \pm 6,15$  mg/kg kada se čuva na svetlu u poređenju sa smanjenjem na  $202,4 \pm 0,92$  mg/kg kada se skladišti u mraku (slika 54). U DMU sa područja Italije se kretao od  $240 \pm 0,01$  mg/kg do  $189,8 \pm 18,31$  mg/kg, kada se čuva na svetlosti, a u mraku iznosi  $214 \pm 5,66$  mg/kg. Sva ulja pokazuju vrlo slične rezultate. Ovi rezultati su u saglasnosti sa onima drugih istraživača (Caponio, i sar., 2005) gde su se sadržaji smanjivali tokom skladištenja kako na svetlosti tako i u mraku i nisu zabeležene značajne razlike između dva uslova skladištenja.

Fenoli predstavljaju grupu jedinjenja koja značajno doprinose korisnim nutritivnim i senzorskim karakteristikama devičanskog maslinovog ulja. U maslinovom ulju nalazi se najmanje 36 strukturno različitih fenolnih jedinjenja. Nutricioni aspekt fenolne komponente je značajan jer se ove komponente smatraju odgovornim za specifični antioksidativni efekat hladno cedjenog maslinovog ulja. Veruje se da polifenoli imaju takvu antioksidativnu aktivnost usled postojanja o-dihidroksi fenolne strukturne. Može im se pripisati uticaj na kardiovaskularne bolesti, a i moguće terapijske uloge, pored sposobnosti antioksidacije i drugih metaboličkih procesa (Bors i sar., 1990; Virgili i sar., 2001; Kroon i Villiamson, 2005; Choe, 2008; Vujasinović, 2011).

U maslinovom ulju, najvažniji faktori za procenu nutritivne vrednosti su sastav masnih kiselina, sadržaj tokoferola, kao i sastav i sadržaj fenolnih komponenti (Kovač, 2004). Polifenoli imaju najveći doprinos stabilnosti maslinovog ulja. Takođe, mnogi podaci otkrivaju štetni efekat rafinisanja na sadržaj antioksidanata kao što su tokoferol i fenolna jedinjenja. Prema Najafi i saradnici (2015), sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u devičanskim maslinovim uljima Leccino i Frantoio su dva do tri puta veći od sadržaja u istim, ali rafiniranim uljima. Takođe, ukupan sadržaj tokoferola bio je znatno viši u navedenim devičanskim uljima u poređenju sa prečišćenim (Najafi i sar., 2015). Bilancia i saradnici (2007) takođe su proučavali parametre kvaliteta u ekstra devičanskom

maslinovom ulju tokom skladištenja i autori su našli da je ukupan sadržaj fenola bio 361 mg/kg, dok je nakon skladištenja u tamnom staklu bio 238 mg/kg i u providnom staklu 295 mg/kg. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

Na osnovu rezultata fluorescentnog testa, može se videti da tokoferoli i fenolna jedinjenja, kao važne bioaktivne komponente maslinovog ulja, podležu svetlosnim efektima. Ove komponente su takođe podložne promenama u uslovima neadekvatne temperature. Rezultati Lužaić (2015) pokazuju smanjenje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja u uzorcima maslinova ulja iz regiona Libije i Italije. Materijal za pakovanje igra glavnu ulogu u održivosti osetljivih prehrambenih proizvoda pod uticajem temperature i promena svetlost pa tako i kvaliteta ulja (Dimić, 2005).

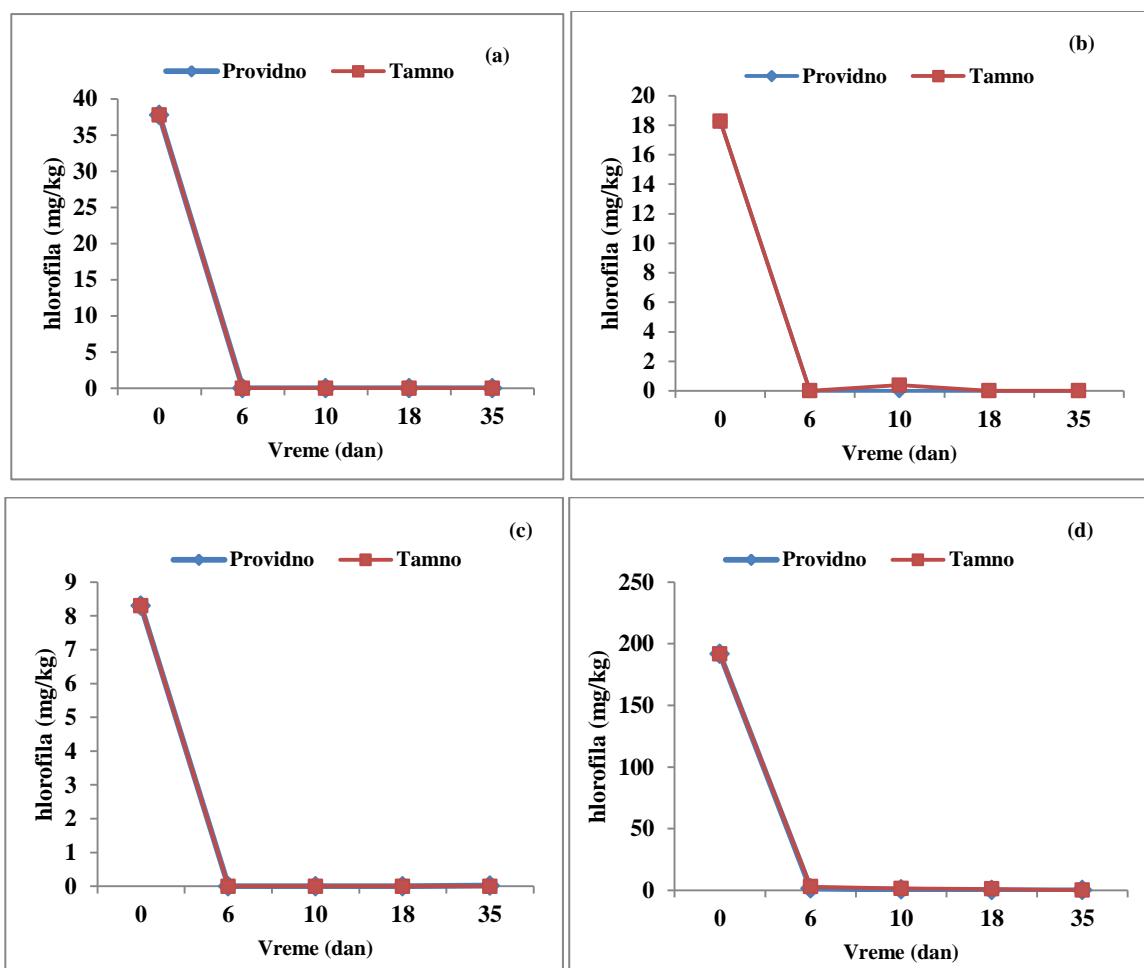
#### **4.4.1.3. Promene karakteristika boje**

U eksperimentima ispitivanja uticaja fluorescentnog svetla na promene karakteristike ulja ispitane su i promene sadržaja pigmenata: hlorofila, karotenoida i  $\beta$ -karotena. Zbog mnogih dobiti pigmenta za zdravlje, poželjan je njihov što veći sadržaj u ulju, a zahvaljujući njihovim antioksidativnim svojstvima, ove komponente doprinose i stabilnosti i održivosti ulja.

##### **4.4.1.3.1. Promene u ukupnom sadržaju hlorofila**

Hlorofili i karotenoidi igraju važnu ulogu u stabilnosti, vezanu za njihovu antioksidativnu prirodu u mraku i prooksidantnoj aktivnosti na svetlosti, što zavisi od njihove koncentracije u plodu. Slika 55 prikazuje zavisnost sadržaja ukupnih hlorofila u uzorcima ulja i vremenu provedenom pod uslovima fluorescentnog osvetljenja.





**Slika 55.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ukupni sadržaj hlorofila (mg/kg) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana. (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

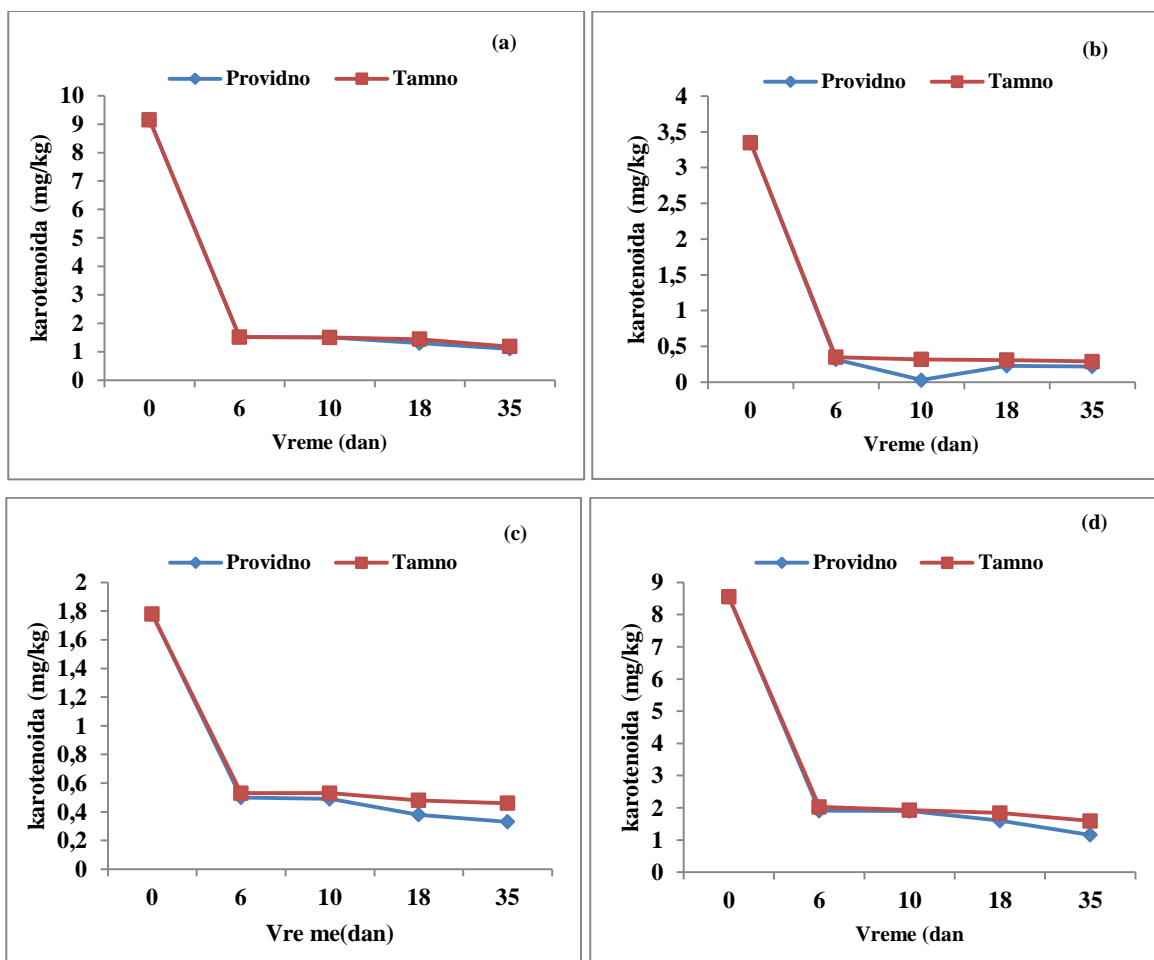
Najveći sadržaj ukupnih hlorofila u uzorcima pronađen je u uzorku ulja iz Italije  $191,6 \pm 2,28$  mg/kg. Ovaj sadržaj je skoro dvostruko veći od sadržaja hlorofila u uzorku Gharyan i više od dvostruko više sadržaja hlorofila u Tarhuna i Msallata uzorcima iz regiona Libije. U uzorku Gharyan-a, početni sadržaj ovih pigmenta bio je  $37,77 \pm 0,17$  mg/kg, dok su vrednosti ukupnog sadržaja hlorofila u uzorcima Tarhuna i Msallata bile  $18,27 \pm 0,23$  i  $8,3 \pm 0,00$  mg/kg, respektivno. Slika 55 pokazuje, takođe, i ukupan sadržaj hlorofila u uzorku ulja iz Italije. Kao što pokazuju rezultati, nakon izlaganja fluorescentnom efektu svetlosti u period od 35 dana, hlorofil ostaje u ovom ulju, ali u vrlo malim količinama. U preostala tri uzorka poreklom iz Libije, koristeći gore pomenutu metodu za određivanje hlorofila, nakon 6 dana pod svetlom, hlorofili nisu detektovani u ulju.

Utvrđeno je da s obzirom da se sadržaj hlorofila u plodu smanjuje tokom zrenja, sadržaj hlorofila u ulju se takođe smanjuje, a ova činjenica ukazuje na to da se ulja Tarhune i Msallata proizvodilo od zrelih maslina. Na osnovu rezultata, može se zaključiti da je došlo do potpune degradacije hlorofila pod uticajem svetlosti. Hlorofili su važne bioaktivne komponente maslinovog ulja koje značajno doprinose kvalitetu, a takođe su i najosjetljivije na degradaciju pod uticajem fluorescentnog svetla.

Hrana je često pakovana u transparentnoj ambalaži i postavljena je visoko na policama u prodavnicama kako bi privukla pažnju potrošača. Ovo je praksa čak i kod fotoosetljivih proizvoda, kao što je maslinovo ulje. Uopšteno gledano, testovi održivosti se obavljaju radi dobijanja informacija o održivosti proizvoda tokom skladištenja pod kontrolisanim uslovima. Međutim, ako su ulja u prodavnicama izložene neadekvatnim uslovima, njihova održivost je slaba (Manzocco i sar., 2011). Bilancia i saradnici (2007) takođe su proučavali parametre kvaliteta u ekstra devičanskom maslinovom ulju tokom skladištenja i otkrili su da je ukupan sadržaj hlorofila bio 25,70 mg/kg, dok je posle čuvanja u tamnom staklu bio 24,41 mg/kg, au providnom staklu 0,16 mg/kg. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji. Vacca i saradnici (2006) su proučavali promene u parametrima kvaliteta, antioksidantnim jedinjenjima, oksidativnoj stabilnosti i antioksidativnoj aktivnosti EDMU iz sorte "Bosana", izloženih svetlosti i tami tokom skladištenja u periodu od 18 meseci. Analiza podataka pokazala je da su svi parametri pretrpeli značajne promene tokom skladištenja. Hlorofili i karotenoidi su se smanjili za osam meseci skladištenja za 49%. Što se tiče uslova ekspozicije, skladištenje u mraku bilo je efikasnije u zadržavanju kvaliteta ulja.

#### 4.4.1.3.2. Promene u sadržaju ukupnih karotenoida

Karotenoidi igraju važnu ulogu u stabilnosti, vezanu za njihovu antioksidativnu prirodu u uslovima bez svetla i prooksidantnoj aktivnosti na svetlosti, što zavisi od njihove koncentracije u ulju. Slika 56 prikazuje zavisnost ukupnog sadržaja karotenoida u uzorcima ulja i vremena provedenog pod uslovima fluorescentnog osvetljenja.



**Slika 56.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ukupni sadržaj karotenoida (mg/kg) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana. (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Najveći sadržaj ukupnih karotenoida u početnim uzorcima pronađen je u uzorku ulja iz Gharyan,  $9,15 \pm 0,01$  mg/kg. Ovaj sadržaj je sličan u sadržaju karotenoida u uzorku iz Italije i više od dvostruko više sadržaja karotenoida u uzorcima Tarhune i Msallata. U uzorku Italija, početni sadržaj ovih pigmenta bio je  $8,55 \pm 0,02$  mg/kg, dok su vrednosti ukupnog sadržaja karotenoida u uzorcima Tarhuna i Msallata bile  $3,35 \pm 0,23$  i  $1,78 \pm 0,00$  mg/kg, respektivno. Kao što pokazuju rezultati, nakon izlaganja efektu fluorescentne svetlosti od 35 dana, karotenoidi ostaju u ovom ulju, ali u vrlo malim količinama.

Na osnovu rezultata, može se zaključiti da je došlo do degradacije karotenoida pod uticajem svetlosti. Karotenoidi su važne bioaktivne komponente maslinovog ulja koje takođe doprinose kvalitetu, a takođe su osetljivi i na degradaciju pod uticajem fluorescentnog svetla, kao

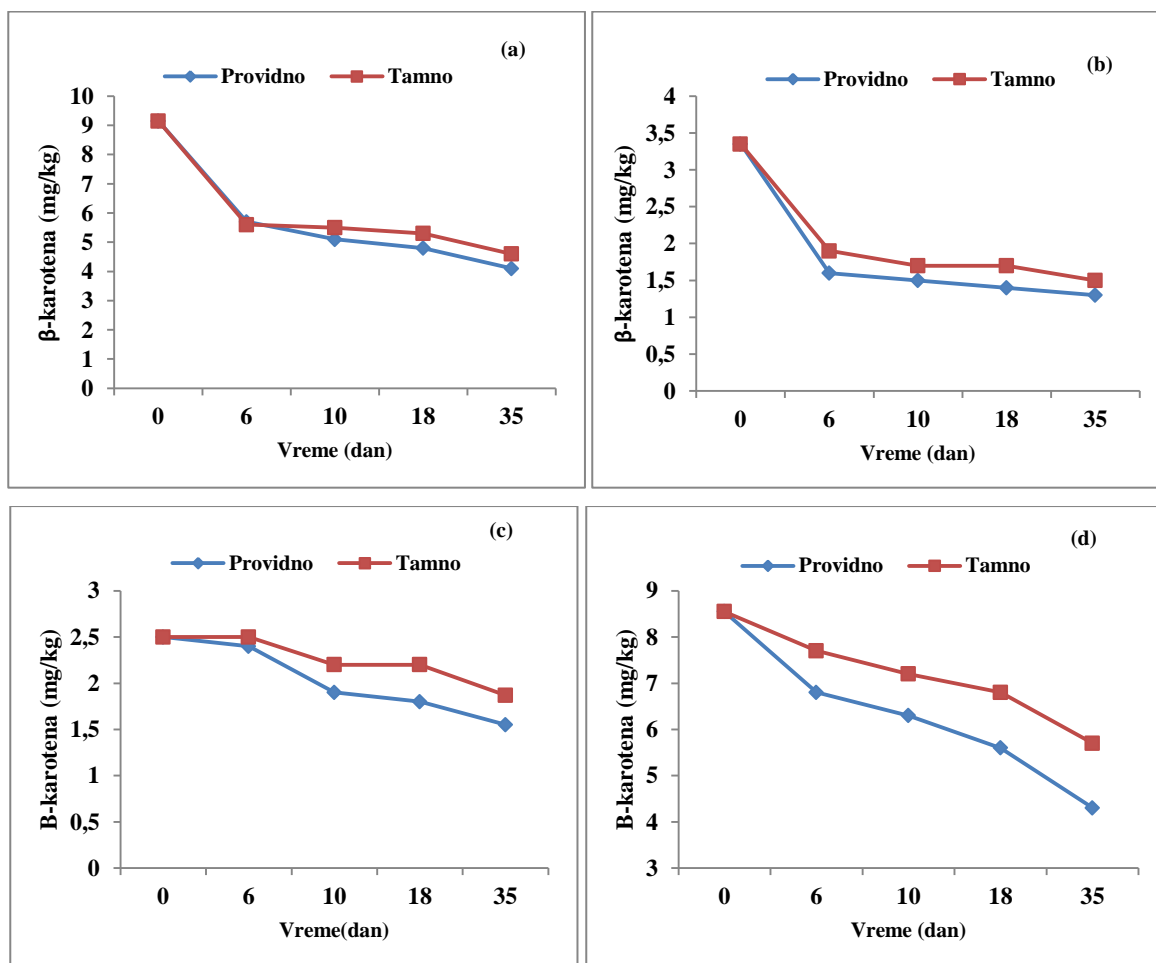
izuzetno fotoosetljiva jedinjenja. Bilancia i saradnici (2007) takođe su proučavali parametre kvaliteta za ekstra devičansko maslinovo ulje tokom skladištenja i autori su otkrili da je ukupan sadržaj karotenoida bio 9,80 mg/kg, a nakon skladištenja u tamnom staklu bio je 8,57 mg/kg, a u providnom staklu je bilo 7,22 mg/kg. Ovi rezultati su slični našim rezultatima u ovoj studiji. Rezultati su u saglasnosti i sa rezultatima drugih istraživača (Caponio i sar., 2005) gde je sadržaj karotenoida smanjen tokom skladištenja kako u svetlosti, tako i u tami i nisu zabeležene značajne razlike između dva načina skladištenja. Dabboui saradnici (2011) su proučavali uticaj materijala za pakovanje i vreme skladištenja na kvalitet maslinovog ulja. Nivo karotena smanjio se sa 18 mg/kg na 4 do 13 mg/kg tokom prvih tri meseca skladištenja, a zatim se i dalje smanjivao. Vacca i saradnici (2006) su proučavali promene u parametrima kvaliteta, antioksidantnim jedinjenjima, oksidativnoj stabilnosti i antioksidativnoj aktivnosti EDMU iz sorte "Bosana", izloženih svetlosti i tami tokom skladištenja u periodu od 18 meseci. Analiza podataka pokazala je da su svi parametri pretrpeli značajne promene tokom skladištenja; karotenoidi su se smanjili za osam meseci skladištenja (za 30%). Što se tiče uslova ekspozicije, skladištenje u mraku bilo je efikasnije u očuvanju kvaliteta ulja.

#### 4.4.1.3.3. Promene u sadržaju $\beta$ -karotena

Slika 57 prikazuje zavisnost sadržaja beta-karotena u uzorcima ulja u korelaciji sa vremenom provedenom pod uslovima fluorescentnog osvetljenja.

Sadržaj  $\beta$ -karotena je bio najviši u ulju sa područja Gharyan,  $9,15 \pm 0,21$  mg/kg, a tome najbliža vrednost je pronađena u uzorku iz Italije,  $8,55 \pm 0,07$  mg/kg, dok je najmanji sadržaj pronađen u Msallata DMU,  $2,5 \pm 0,02$  mg/kg. Sadržaj  $\beta$ -karotena devičanskih maslinovih ulja pod uticajem fluorescentne svetlosti vidljivo se smanjuje sa vremenom izlaganja fluorescentnom svetlu, kao što je prikazano na slici 59. Nakon 35 dana testa, sadržaj  $\beta$ -karotena u ulju Gharyan, izloženom dejstvu svetlosti u providnoj ambalaži, smanjio se na  $4,1 \pm 0,28$  mg/kg, dok je sadržaj u uzorku koji je bio u tamnoj ambalaži bio  $4,6 \pm 0,71$  mg/kg u poređenju sa početnim sadržajem. U preostala dva uzorka ulja iz Libije, takođe postoji razlika u sadržaju  $\beta$ -karotena u uzorcima u providnoj i tamnoj ambalaži na kraju testa. Sadržaj  $\beta$ -karotena u Tarhuna DMU koje je bilo izloženo svetlosti u prozirnom pakovanju se smanjio na  $1,4 \pm 0,14$  mg/kg, dok je uzorak u

tamnom pakovanju bio  $1,9 \pm 0,14$  mg/kg. U Msallata DMU, sadržaj  $\beta$ -karotena se smanjio za  $1,55 \pm 0,21$  mg/kg i  $1,87 \pm 0,00$  mg/kg u providnoj i tamnoj ambalaži, respektivno.



**Slika 57.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ukupni sadržaj  $\beta$ -karotena (mg/kg) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Karotenoidi, naročito  $\beta$ -karoten, su efikasni zaštitnici DMU od fotooksidacije, jer su sposobni deaktivirati singlet kiseonik (Cuppert i sar., 1997; Vagner i Elemafda, 1999). Caponio i sar., (2005) su ustanovili smanjenje sadržaja  $\beta$ -karotena prilikom skladištenja kako na svetlosti, tako i u mraku, pri čemu nije bilo značajnih razlika između ta dva načina skladištenja.

4.4.1.3.4. Promene u kolorimetrijskim vrednostima, *CIE*,  $a^*$ ,  $b^*$  i  $L^*$ 

Tabela 29 prikazuje promenu parametara boje maslinovog ulja u providnoj i tamnoj ambalaži koja je bila podvrgnuta izlaganju fluorescentnog svetla tokom različitih vremenskih perioda.

Prema rezultatima dobijenim *CIE*  $L^*$   $a^*$   $b^*$  sistemom, tabela 29, minimalna svetloća boje ( $L^*$  vrednost) bila je za uzorak iz Italija DMU ( $21,27 \pm 0,20$ ). To je u oblasti zelenkaste boje. Najsvetliju boju ima uzorak ulja Tarhuna DMU ( $24,33 \pm 0,00$ ), koja se nalazi u oblasti žuto-zelene boje. Takođe, najniža vrijednost ( $a^*$ ) ima Tarhuna DMU ( $-1,18 \pm 0,03$ ), a u isto vreme najveća vrednost ( $b^*$ ) je ( $10,38 \pm 0,08$ ) za Tarhuna DMU, kao najsjajnije. Izloženost svetlosti značajno je uticala na boju maslinovih ulja u ovoj studiji (Tabela 29). Svetloća ( $L^*$ ) je povećana u uljima izloženim uticaju svetlosti. Najviše vrednosti svetloće boje nakon ispitivanja su utvrđene u uzorcima Msallata i Tarhuna DMU, koji su na kraju testa imali znatno manju količinu pigmenata. ( $L^*$ ) je u direktnoj korelaciji sa smanjenjem sadržaja pigmenta. Promene koje su se dogodile tokom izlaganja uzoraka testu fluorescencije su takođe odražavane u vrednostima dominantne talasne dužine i čistoće boje, kao i svetlosti / sjajnosti svih ispitanih uzoraka. Dok su uzorci čuvani u mraku ostali stabilniji na promene boje tokom perioda ispitivanja. U većini slučajeva vrednost  $a^*$  (udeo zelene boje) je bilo malo niže u uljima koja su bila izložena svetlosti, međutim, to nije bilo uočeno u svim uljima, jer su neka ostala stabilna, kao i ona koja su bila uskladištena u mraku.

Posmatranjem parametra svetloće boje, vidi se da svetloća uzoraka raste sa porastom vremena tokom kojeg su uzorci bili izloženi dejstvu svetla. Promene do kojih je došlo tokom izlaganja uzoraka fluorescentnom testu su se odrazile i na vrednosti dominantne talasne dužine i čistoće boje. Koeficijent žutoće ( $b^*$ ) značajno je uticao na uzorke izložene svetlima koji značajno padaju, dok su oni u mraku ostali konstantni tokom perioda čuvanja. Ovi rezultati ukazuju na to da je svetloća ulja bila malo veća u uljima koja su se čuvala na svetlosti (više "bela"), ta ulja su bila nešto manje "braon" ( $a^*$ ) i znatno manje žuta ( $b^*$ ). Ovi rezultati su slični onima drugih istraživača (Pristouri i sar., 2010). Promene u boji odnose se na razlaganje hlorofila u procesu foto-oksidacije. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih istraživača (Caponio i sar., 2005) gde su vrednosti smanjene tokom skladištenja pri svetlosti i neznatno u mraku, a razlike su takođe primećene između dva načina skladištenja.

**Tabela 29.** Parametri boje uzoraka maslinovog ulja izloženi uticaju fluorescentnog svetla u period do 35 dana određeni prema sistemu *CIE L\* a\* b\**

	Uzorak	<i>CIE L* a* b* sistem</i>					Oblast Boje <sup>2</sup>		
		L* (%)	a*	b*	h-nijansaboj e ugaoboje	$\lambda^1$ (nm)		c- hroma	
Vreme izlaganja ulja FS (dani)	0	<i>Polazna ulja u providnoj i tamnoj ambalaži</i>							
		Gharyan	22,47 ± 0,01	0,28± 0,00	8,32± 0,00	88,06±0,01	574,6±0,57	8,35±0,05	Zelenkasta
		Tarhuna	24,33 ± 0,01	-1,18± 0,03	10,38± 0,01	96,42±0,17	572±0,00	10,44±0,01	Žuto - zelena
		Msallata	23,39 ± 0,01	-0,59± 0,02	8,26±0,01	94,21±0,16	574±0,00	8,28±0,01	Zelenkasta
		Italija	21,27± 0,20	1,15±0,09	5,92±0,14	78,99±0,60	576,6±0,58	6,03±0,16	Žuto - zelena
	6	<i>Ulja u providnoj ambalaži</i>							
		Gharyan	22,32 ± 0,00	-0,57 ±0,04	10,53 ±0,00	93,12 ± 0,23	574,5 ± 0,00	10,54 ± 0,01	Zelenkasta
		Tarhuna	23,94 ± 0,01	-2,14 ±0,01	10,21 ±0,01	101,9 ± 0,01	571 ± 0,00	10,43 ± 0,01	Žuto - zelena
		Msallata	23,76 ± 0,00	-1,95 ±0,01	11,69 ±0,06	99,50 ± 0,05	572,4 ± 0,07	11,9 ± 0,01	Žuto - zelena
		Italija	22,03 ± 0,01	0,33 ± 0,03	9,89 ± 0,05	88,12 ± 0,22	575,5 ± 0,00	9,90 ± 0,05	Zelenkasta
		<i>Ulja u tamnoj ambalaži</i>							
		Gharyan	23,01 ± 0,01	-0,65 ±0,00	10,91 ±0,03	93,43 ± 0,01	575 ± 0,00	10,9 ± 0,07	Zelenkasta
Tarhuna		23,42 ± 0,03	-1,93 ±0,01	9,89 ± 0,01	101 ± 0,01	571 ± 0,00	10,08 ± 0,08	Žuto - zelena	
Msallata	23,65 ± 0,01	-1,85 ±0,11	11,24 ±0,01	99,34 ± 0,56	573.5 ± 0,00	11,40 ± 0,04	Žuto - zelena		
Italija	22,03 ± 0,00	0,43 ± 0,01	9,73 ± 0,06	87,51 ± 0,08	576 ± 0,00	9,74 ± 0,06	Zelenkasta		
<i>Ulja u providnoj ambalaži</i>									

10	Gharyan	23,1 ± 0,15	-0,85 ± 0,06	11,3 ± 0,04	94,32 ± 0,28	572 ± 0,00	11,26 ± 0,04	Žuto - zelena	
	Tarhuna	24,45 ± 0,11	-1,84 ± 0,06	8,4 ± 0,16	102,6 ± 0,10	571,8 ± 0,00	8,36 ± 0,16	Žuto - zelena	
	Msallata	23,98 ± 0,01	-2,02 ± 0,01	11,7 ± 0,01	99,80 ± 0,09	573 ± 0,00	11,7 ± 0,06	Žuto - zelena	
	Italija	22,01 ± 0,01	0,12 ± 0,00	9,69 ± 0,03	89,3 ± 0,01	574 ± 0,00	9,70 ± 0,04	Žuto - zelena	
	<i>Ulja u tamnoj ambalaži</i>								
	Gharyan	22,34 ± 0,06	-0,68 ± 0,06	10,14 ± 0,11	93,84 ± 0,26	573,5 ± 0,00	10,14 ± 0,11	Žuto - zelena	
	Tarhuna	23,98 ± 0,00	-2,15 ± 0,03	10,19 ± 0,41	101,9 ± 0,18	572,2 ± 0,07	10,31 ± 0,16	Žuto - zelena	
	Msallata	23,21 ± 0,01	-1,72 ± 0,03	10,77 ± 0,00	99,1 ± 0,15	572 ± 0,00	10,91 ± 0,00	Žuto - zelena	
	Italija	22,04 ± 0,00	0,35 ± 0,07	9,44 ± 0,03	87,87 ± 0,42	576 ± 0,00	9,45 ± 0,03	Zelenkasta	
	18	<i>Ulja u providnoj ambalaži</i>							
Gharyan		23,53 ± 0,02	-1,04 ± 0,03	11,43 ± 0,01	95,22 ± 0,13	573,5 ± 0,00	11,47 ± 0,00	Žuto - zelena	
Tarhuna		24,03 ± 0,01	-2,23 ± 0,04	9,32 ± 0,02	103,5 ± 0,21	571,3 ± 0,00	9,58 ± 0,00	Žuto - zelena	
Msallata		23,86 ± 0,01	-2,16 ± 0,03	10,73 ± 0,00	101,4 ± 0,14	571,5 ± 0,00	10,95 ± 0,00	Žuto - zelena	
Italija		23,01 ± 0,01	-0,24 ± 0,04	9,91 ± 0,01	91,37 ± 0,19	574,2 ± 0,07	9,91 ± 0,00	Žuto - zelena	
<i>Ulja u tamnoj ambalaži</i>									
Gharyan		23,53 ± 0,00	-0,73 ± 0,02	10,21 ± 0,01	94,07 ± 0,13	574 ± 0,00	10,23 ± 0,00	Žuto - zelena	
Tarhuna		23,87 ± 0,01	-2,12 ± 0,06	10,46 ± 0,03	101,45 ± 0,30	572 ± 0,00	10,69 ± 0,01	Žuto - zelena	
Msallata		23,87 ± 0,01	-1,89 ± 0,04	10,78 ± 0,00	99,92 ± 0,25	572,2 ± 0,00	10,80 ± 0,21	Žuto - zelena	
Italija		22,45 ± 0,01	0,33 ± 0,02	8,66 ± 0,04	87,86 ± 0,16	575 ± 0,00	8,66 ± 0,04	Zelenkasta	
<i>Ulja u providnoj ambalaži</i>									
Gharyan	23,81 ± 0,00	-1,2 ± 0,13	11,98 ± 0,04	95,6 ± 0,64	574,5 ± 0,71	12,04 ± 0,05	Žuto - zelena		



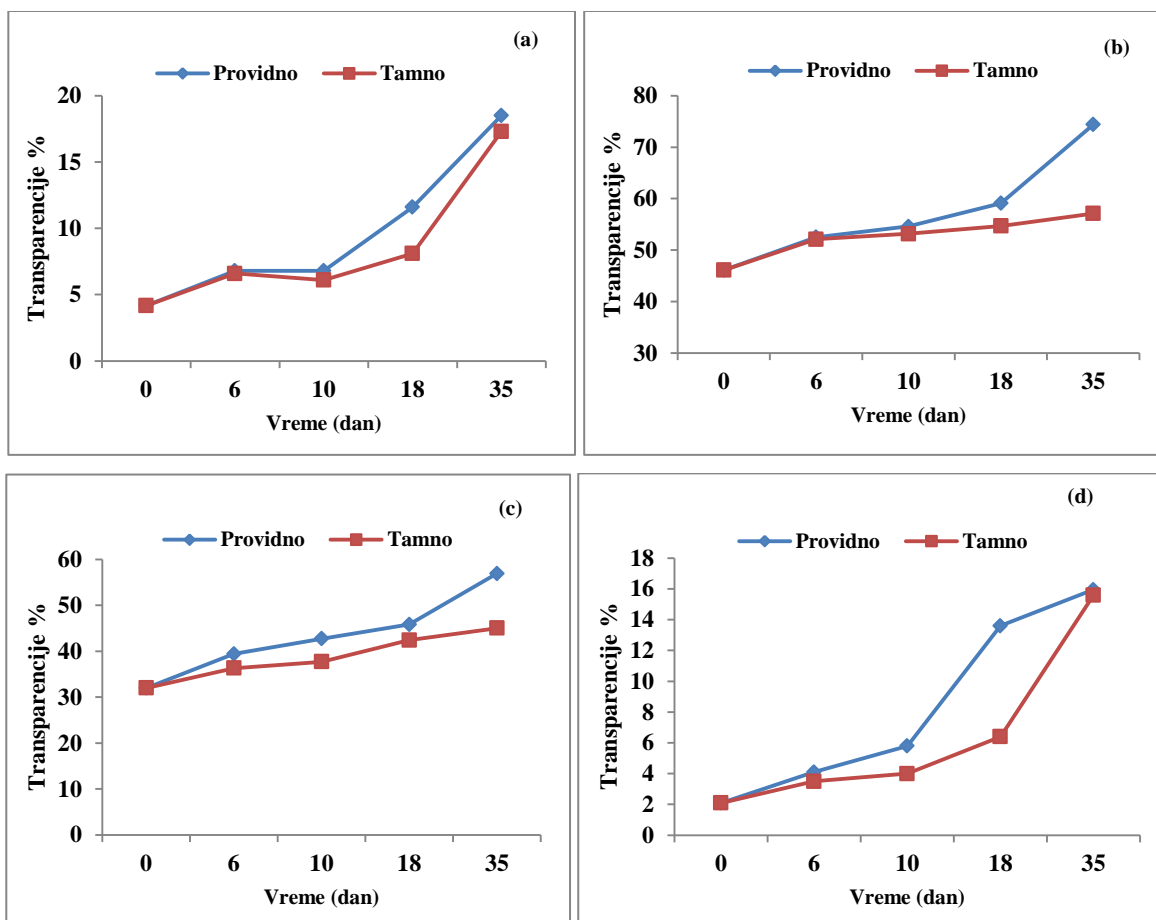
35	Tarhuna	25,6 ± 0,01	-1,56 ± 0,00	5,77 ± 0,00	104,9 ± 0,45	572 ± 0,00	5,97 ± 0,01	Žuto - zelena
	Msallata	24,4 ± 0,01	-2,17 ± 0,00	10,24 ± 0,00	101,96 ± 0,00	572 ± 0,00	10,48 ± 0,01	Žuto - zelena
	Italija	22,6 ± 0,01	-0,46 ± 0,00	9,59 ± 0,04	92,77 ± 0,00	575 ± 0,00	9,6 ± 0,04	Zelenkasta
	<i>Ulja u tamnoj ambalaži</i>							
	Gharyan	23,4 ± 0,01	-0,78 ± 0,10	11,63 ± 0,00	93,8 ± 0,47	575 ± 0,00	11,62 ± 0,08	Zelenkasta
	Tarhuna	24,2 ± 0,00	-1,93 ± 0,05	10,10 ± 0,00	100,8 ± 0,01	573 ± 0,00	10,15 ± 0,01	Žuto - zelena
	Msallata	24,2 ± 0,01	-1,76 ± 0,05	10,54 ± 0,17	99,5 ± 0,00	573 ± 0,00	10,69 ± 0,18	Žuto - zelena
	Italija	23,5 ± 0,01	0,3 ± 0,06	8,94 ± 0,02	88,1 ± 0,33	577 ± 0,00	8,94 ± 0,00	Zelenkasta

<sup>1</sup> dominantna talasna dužina; <sup>2</sup> oblast spektralne boje za dominantnu talasnu dužinu na dijagramu hromatičnosti po CIE Y-xy sistemu. Rezultati predstavljaju srednju vrednost dva određivanja ± SD

#### 4.4.1.3.5. Promene transparentnosti ulja

U većini jestivih biljnih ulja, glavni nosioci boje su karotenoidi. Karotenoidi pokazuju maksimalnu apsorpciju na talasnoj dužini od 440 do 460 nm, pa se transparentnost ulja najčešće određuje u opsegu ovih talasnih dužina. Vrednosti prikazane na Slici 60 pokazuju da je ulje poreklom iz Italije bilo najmanje transparentno među početnim uzorcima. Razlog za ovo je najveći sadržaj pigmenata u ovom ulja u poređenju sa drugim testiranim uljima. Gharyan ulje ima veoma sličnu vrednost transparentcije u inicijalnim uzorcima kao i italijansko ulje, a DMU Tarhuna i Msallata imaju znatno veće vrednosti transparentcije.

Promena u transparentnosti u uzorcima takođe se mogla videti vizuelno već i nakon šest dana izlaganja fluorescentnom testu. Slika 60 prikazuje promene transparentcije uzoraka ulja u transparentnoj i tamnoj ambalaži nakon 6 dana testa, pri čemu se primećuje da najveća transparentnost postoji u Tarhuna DMU, dok je najmanja u Italija DMU.



**Slika 58.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na % transparentnosti kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Slika 58 takođe pokazuje da se transparentnost uzoraka ulja povećava sa povećanjem vremena osvetljenja, uz značajnu razliku u povećanju između uzorcima ulja u transparentnoj ambalaži i onima u tamnoj ambalaži. Najveća razlika u porastu transparentnosti, u odnosu na vrstu ambalaže, uočava se kod uzorka DMU Italija. U odnosu na polazni uzorak, transparentnost Italija DMU u providnoj ambalaži povećala se za 90%, a kod uzorka u tamnoj ambalaži za oko 52%. Vrlo slične promene su kod uzorka Gharyan DMU, gde se transparentnost u odnosu na polazni uzorak povećala za 85 % kad je u pitanju providna ambalaža, odnosno 49% kad je u pitanju tamna ambalaža. Povećanje vrednosti transparentnosti uslovljeno je gubitkom pigmenta, s obzirom da je transparentnost u obrnuto proporcionalnom odnosu na sadržaj pigmenta ulja.

Najveća transparentnost na kraju testa je zabeležena u Tarhuna DMU ( $74,4 \pm 0,05\%$  za uzoraka u prozirnoj i  $57,1 \pm 0,07\%$  za uzorak u tamnoj ambalaži), pri čemu je ovo ulje koje je

imalo najmanje pigmenta. Najmanja transparentnost imala je Italija DMU ( $15,9 \pm 0,08\%$  za prozirni uzorak i  $15,6 \pm 0,00\%$  za uzorak u tamnoj ambalaži), koje je bilo bogatije u sadržaju pigmenata pre i posle testa, u poređenju sa drugim uzorcima.

Povećanje transparentnosti je jedna od promena koje se javljaju uz izlaganje maslinovog ulja fluorescentnom svetlu. Ispitivanjem dobijenih vrednosti za promenu transparentnosti ovim testom, može se videti da gubici u sadržaju pigmenta značajno odražavaju rezultate. Hlorofil i beta-karoten su fotosenzitivne komponente čiji gubici dovode do pogoršanja kvaliteta maslinovog ulja. Ispitivanje je pokazalo veće gubitke u sadržaju ovih pigmenata u svim uzorcima u transparentnoj ambalaži. Da bi se sačuvali sastojci koji čine maslinovo ulje jednim od najzdravijih proizvoda današnjice, trebalo bi da se vodi računa o izboru pakovanja.

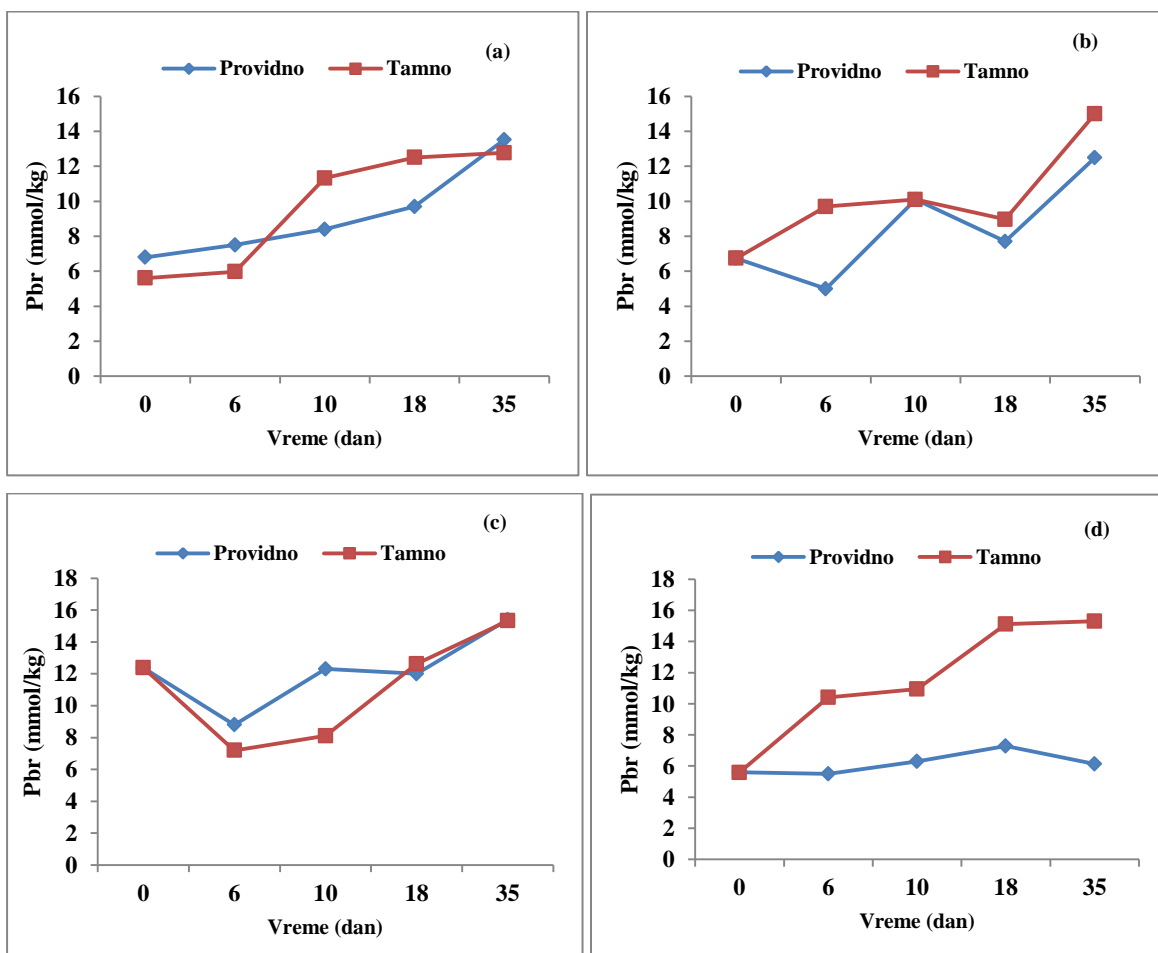
#### 4.4.1.4. Promene hemijskih i fizičkih parametara

##### 4.4.1.4.1. Promena peroksidnog broja

Peroksidni broj (Pbr) pokazuje nivo primarne oksidacije nezasićenih masnih kiselina, odnosno pokazuje količinu hidroperoksida kao primarnih proizvoda autoksidacije. Peroksidni broj je usko povezan sa načinom skladištenja ulja. Oksidacija masnih kiselina je jedna od osnovnih reakcija koje utiču na zdravstvenu sigurnost triacilglicerola jer su proizvodi reakcije oksidacije štetni za zdravlje potrošača (Oštrić-Matijašević i Turkulov, 1980). Određivanje peroksidnog broja je jedna od najčešće korišćenih metoda za ispitivanje primarnih proizvoda oksidacije biljnih ulja (Moslavac i sar., 2010).

Vrednosti prikazane u Slici 59. pokazuju da je Pbr početnog Msallata DMU bio znatno veći,  $12,37 \pm 0,19$  mmol/kg, dok je minimalni Pbr imalo Italija DMU od  $5,59 \pm 0,03$  mmol/kg. Vrednosti peroksidnog broja sa područja Gharyan i Tarhuna su  $5,61 \pm 0,14$  i  $6,74 \pm 0,40$  mmol/kg, respektivno, , nakon 35 dana izlaganja svetlosti, dok je vrednost Pbr uzorka iz tamne ambalaže iznosila  $15,4 \pm 0,05$  mmol/kg. Istovremeno, najviša vrednost peroksidnog broja je pronađena u DMU Msallata, a najmanja Pbr vrednost bila je u Gharyan DMU ( $13,52 \pm 0,02$  u prozirnoj i  $12,8 \pm 0,03$  mmol/kg u tamnoj ambalaži), sa najmanjom razlika u Pbr vrednosti između uzoraka u providnoj i tamnoj ambalaži, 7,7%.

Utvrđene vrednosti Pbr ovih ulja su približne vrednostima devičanskih maslinovih ulja Leccino i Frantoio, prema Najafi i saradnici (2015). Rezultati testa pokazuju fluktuaciju peroksidnog broja tokom trajanja testa pod uticaj fluorescentnog svetla. Ovo može biti rezultat delimičnog raspadanja hidroperoksida u proizvode sekundarne oksidacije. Rezultati takođe pokazuju razlike u Pbr vrednosti između uzoraka u providnim i onih u tamnoj ambalaži.



**Slika 59.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na peroksidni broj kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Podaci dobijeni ovim testom su u skladu sa Manzocco i saradnici (2010) koji su ispitali održivost fotoosetljivih ulja izlaganjem uzoraka efektima svetlosti različitog intenziteta, u poređenju sa kontrolisanim svetlom. Rezultati pokazuju da ulja koja se čuvaju u mraku imaju sporo povećanje Pbr-a. Za uzorke koji su bili izloženi svetlosti, Pbr je bio veći što je intenzitet

svetlosti bio jači. Bilancia i saradnici (2007) takođe su proučavali parametre kvaliteta u ekstra devičanskom maslinovom ulju tokom skladištenja i autori su otkrili da je Pbr bio 7,5 mg/kg, dok je nakon čuvanja u providnim bocama bio 15,3 mg/kg, a u tamnim je bio 9,0 mg/kg. Ovi rezultati su slični našim rezultatima u ovoj studiji. Naši rezultati su u saglasnosti sa onima drugih istraživača (Caponio i sar., 2005) gde su se vrednosti povećavale tokom skladištenja kako u svetlosti tako i u mraku, a njihove značajne razlike su primećene između dva načina skladištenja (Kanavouras i sar., 2006; Pristouri i sar., 2010; Rababah i sar., 2011). Navedeni istraživači su proveli istraživanje trajnosti na maslinovim uljima proizvedenim iz sorti 'Picual', 'Hojiblanca' i 'Arbekuina', upakovanih u tamne i prozirne staklene bočice. Ulja su pokazala smanjenje u nekim parametrima kvaliteta tokom skladištenja (varijacija peroksidne vrednosti Pbr bila je značajna u EDMU skladištenim u prozirnog staklu).

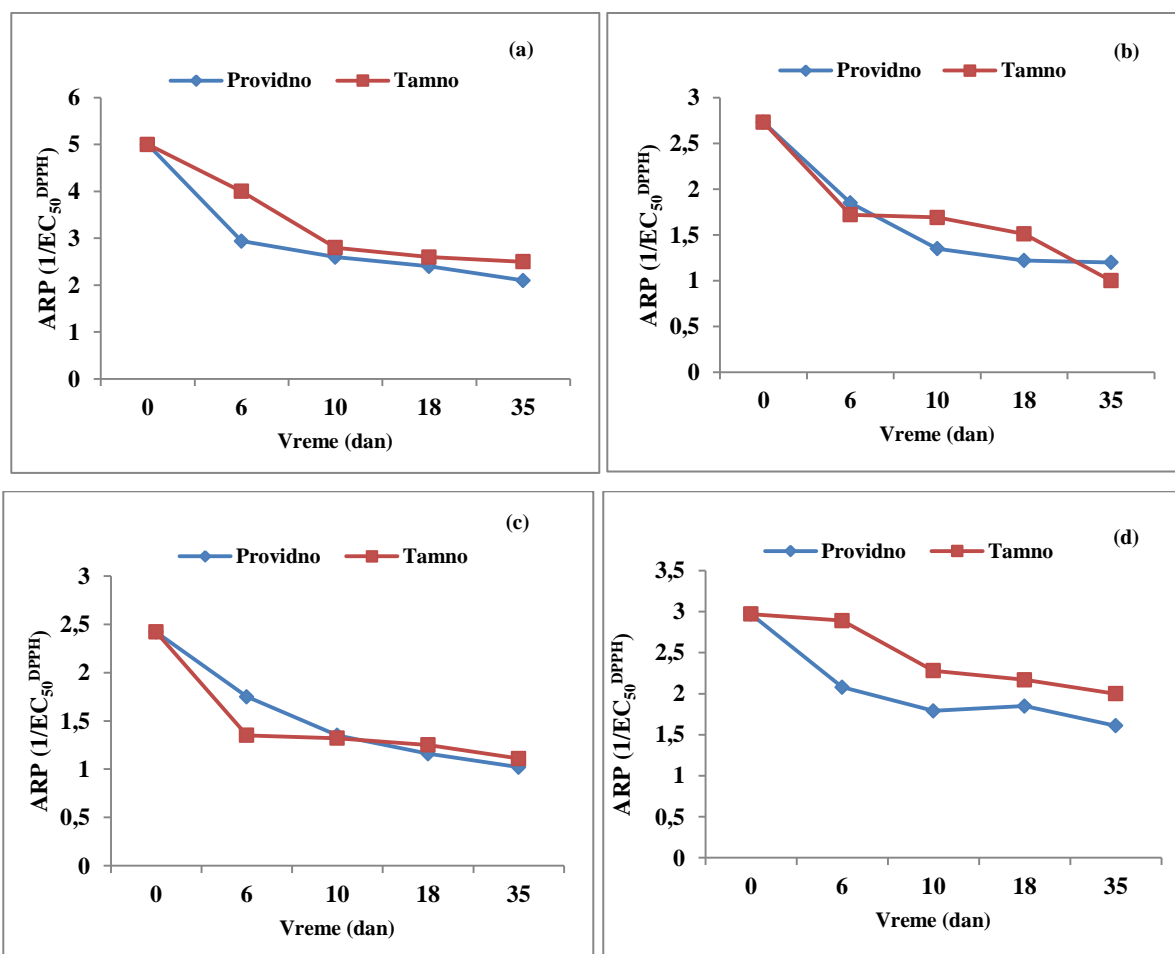
#### 4.4.1.5. Promene antiradikalne aktivnosti (DPPH)

Kapacitet za hvatanje slobodnih radikala ispitanih uzoraka određen je merenjem njihove sposobnosti za neutralizaciju DPPH radikala. Slika 60 prikazuje zavisnost ARP ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ) vrednosti devičanskih maslinovih ulja u funkciji vremena izlaganja fluorescentnom svetlu.

Na slici 60 se vidi da tokom prvih šest dana testa su zabeležene značajne promene u ARP vrednostima i uzorcima u providnoj i tamnoj ambalaži. Nakon toga, uz gubitak sadržaja tokoferola i ukupnih fenolnih jedinjenja, primećuju se promene, odnosno povećanje vrednosti  $EC_{50}$ . Maslinovo ulje takođe sadrži ostale, funkcionalno veoma važna, jedinjenja koja takođe utiče na promenu ARP. Shodno tome, može se očekivati da će uz neizbežne promene koje bi se dogodile tokom produžene izloženosti fluorescentnom svetlu, postojati velike promene u vrednostima ARP zbog promena sadržaja određenih komponenti maslinovog ulja.

Zavisnost vrednosti ARP prikazana je na slici 60., gde se jasno pokazuje razlika u povećanju vrednosti  $EC_{50}$  sa smanjenjem ukupnog sadržaja tokoferola u uzorcima Gharyan DMU sa providnom i tamnom ambalažom.  $EC_{50}$  vrijednost uzorka Gharyan u prozirnoj ambalaži na kraju testa iznosila je 0,48, dok je vrednost  $EC_{50}$  za tamni uzorak za pakiranje bila 0,40. Kod Tarhuna i Msallata DMU, u transparentnoj ambalaži su bile 0,83 mg/ml i 0,98 mg/ml respektivno i  $EC_{50}$  vrednost u tamnoj ambalaži su bile 0,99 mg/ml i 0,90 mg/ml respektivno, što

je u skladu sa većim gubicima u ukupnom sadržaju tokoferola u uzorcima iz prozirne ambalaže u odnosu na gubitke u uzorcima iz tamne ambalaže.



**Slika 60.** Efekat izlaganja fluorescentnoj svetlosti na ARP ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ) kod uzoraka DMU u periodu od 35 dana (a); Gharyan. (b); Tarhuna. (c); Msallata, (d); Italija.

Proces autooksidacije biljnih ulja je neizbežan i biće sporiji ili brži u zavisnosti od sastava ulja, uslova skladištenja i prisustva sastojaka koji ubrzavaju ili usporavaju ovu reakciju (Martin-Polvillo i sar., 2004; Vujasinović, 2011). Mnogi literaturni podaci govore o barijerskim osobinama ambalaže, odnosno o providnosti staklenih flaša koje se najčešće koriste za pakovanje maslinovog ulja. Najbolja zaštita od uticaja svetlosti daje braon staklo, a zatim zeleno, dok je prozirno vrlo providno, što se vidi iz rezultata testa fluorescencije. Prema Lazić i saradnici (2003), svetlost talasne dužine od 350 nm kroz prozirne boce prolazi do 60%, zelene do 45% i

braon do 15%. Svetlost talasnih dužina od 400 do 800 nm kod prozirnih boca prolazi 80-90%, zelenih 45-70%, dok kroz braon staklo, osim svetlosti talasne dužine od 600 nm, prolazi 15-60%. Pošto većina energije ultraljubičnog dela spektra, koja uzrokuje najveću promjenu u sadržaju pakovanja se emituje u granicama od 200-400 nm, može se zaključiti da je transparentno/prozirno pakovanje devičanskih maslinova ulja manje pogodno. Debljina stakla za pakovanje nema značajan uticaj na propusnost svetlosti (Lazić i sar., 2003). Boja ambalaže igra glavnu ulogu u očuvanju prehrambeno vrednih proizvoda, što je potvrđeno rezultatima dobijenim ovim studijama.

#### 4.4.2. Održivost ulja - Rancimat test

Nije lako razlikovati pojedinačne efekte temperature i kiseonika na proces oksidacije jer postoje jake interakcije između njih. Međutim, glavne teorijske činjenice od interesa za razumevanje razlika nestabilnosti na niskim i visokim temperaturama kao i u hemiji oksidacije procesa hrane na visokim temperaturama kao što su pečenje i prženje je mnogo složenija jer su istovremene uključene i termičke i oksidativne reakcije. Kako se temperatura povećava, rastvorljivost kiseonika drastično se smanjuje iako se sve reakcije oksidacije ubrzavaju (Velasco i Dobarganes, 2002). Na proces prženja utiče veliki broj varijabli među kojima je tip procesa, tj. kontinuirani ili diskontinuirani, odnos površina –volumen ulja, hrana, temperatura i odabrano ulje su od posebnog značaja. Stoga je od velikog značaja razvoj odgovarajućih metoda zasnovanih na standardnim uslovima koji daju informacije o stabilnosti ulja na toploti (Velasco i sar., 2008).

Ubrzani test oksidacije (Tabela 30) za berbu 2014. i 2015. god., je pokazao efekte antioksidanata na otpornost uzoraka maslinovog ulja na oksidaciju i stabilnost skladištenja različitih ulja. Rezultati pokazuju da je vreme indukcije značajno variralo u ispitanim uzorcima. Od libijskih ulja u 2014. godini G14 DMU, maslinovo ulje je imalo najduže indukciono vreme ( $7,60 \pm 0,16$  h) dok je TR14 DMU pokazalo niske vrednosti ( $4,33 \pm 0,17$  h). Kao i kod godine berbe 2015., najviša vrednost bila je za G15 DMU ( $18,33 \pm 0,10$  h), a najniža je bila za TR15 DMU ( $4,89 \pm 0,01$  h). Različita vremena indukcije uzoraka su verovatno posledica sastava masnih kiselina i efekta različitih pro/antioksidanata prisutnih u uljima. Veća stabilnost Gharyan

DMU je verovatno posledica relativno manjeg sadržaja PUFA i većeg sadržaja antioksidanata. Kompozicije masnih kiselina ulja i veće koncentracije ukupnih fenola, pigmentata,  $\alpha$ -tokoferola mogu objasniti veću stabilnost Gharyan DMU u poređenju sa drugim DMU.

**Tabela 30 .** Oksidativna stabilnost - Rancimat test uzoraka DMU, berba 2014. i 2015. god.

Uzorci	2014	2015
	Indukeioni period (h) 110°C	Indukeioni period (h) 110°C
<i>Ulja iz Libije</i>		
<b>Gharyan</b>	7,60 ± 0,16 <sup>a</sup>	18,33 ± 0,10 <sup>d</sup>
<b>Tarhuna</b>	6,93 ± 0,49 <sup>a</sup>	5,58 ± 0,16 <sup>a</sup>
<b>Msallata</b>	4,70 ± 0,23 <sup>a</sup>	6,80 ± 0,08 <sup>a</sup>
<b>Tripoli</b>	4,33 ± 0,17 <sup>a</sup>	4,89 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Q.B.Ghashir</b>	5,09 ± 0,49 <sup>a</sup>	9,87 ± 0,11 <sup>c</sup>
<i>Ulja iz Evrope</i>		
<b>Italija</b>	31,08 ± 0,49 <sup>b</sup>	-
<b>Španija</b>	12,72 ± 0,43 <sup>c</sup>	-
<b>Grčka</b>	19,69 ± 0,33 <sup>d</sup>	-

Vrednosti su srednja vrednost ± standardna odstupanja (n = 3). Različita slova u istoj koloni ukazuju na znatno različite vrednosti ( $p \leq 0,05$ ).

Naši rezultati poređenja vremena indukcije za berbe u 2014. i 2015. godini, su pokazali značajne razlike. Naši rezultati u ovoj studiji su niži od rezultata za evropska DMU.

Chtourou i saradnici (2013) su radili uporednu studiju kvaliteta maslinovog ulja Chemalali Sfaks prema Arbekuin koja se kultivišu u Tunisu. Autori su našli da je indukciono vreme u sorti Chemlali Sfaks bilo duže indukciono vreme (6,82h), dok je Arbekuin sorta pokazala veoma niske vrednosti (2.68 h). Ovi rezultati su niži od naših rezultata u ovoj studiji. Issaoui i saradnici (2010) takođe su proučavali uticaj uslova područja rasta na diferencijaciju između Chemalali i Chetoui ulja i ovi autori su otkrili da je indukcijsko vreme kod Chetoui ulja imala dobru oksidativnu stabilnost i na jugu i na severu (7,2 i 12,7h, respektivno). Ammar i saradnici (2014) su proučavali oksidacionu stabilnost maslinovih ulja Chemlali i ovi autori su našli da je



indukcioni period bio  $6,48 \pm 3,12$ h u Chemalali maslinovom ulju. Ovi rezultati su slični nekim našim rezultatima u ovoj studiji. Mansour i saradnici (2015) su ispitivali oksidativnu stabilnost u maslinovim uljima Chemalali i Neb Jmel i ovi autori su našli da je indukcijско vreme bilo u rasponu od  $5,61 \pm 0,38$  do  $15,38 \pm 0,18$ h, a najviša vrednost je bila za maslinovo ulje Neb Jmel i najmanja vrednost za maslinovo ulje South Chemalali. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.4.3. Ispitivanje održivost ulja primenom Schaal-Oven testa

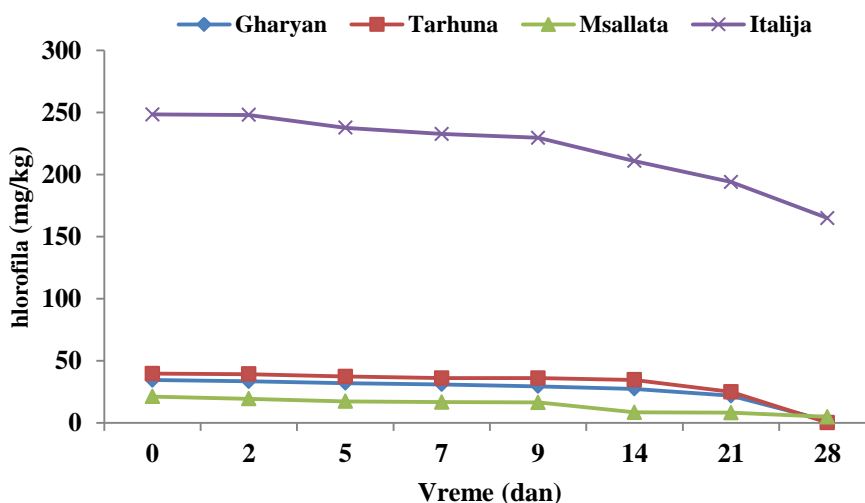
Dobro je poznato da je temperatura skladištenja jedan od najvažnijih faktora koji utiču na oksidaciju lipida. Kinetička studija o reakciji autoksidacije u triacilglicerolima maslinovog ulja uskladištenih u mraku na različitim temperaturama ( $25^{\circ}$ ,  $40^{\circ}$ ,  $50^{\circ}$ ,  $60^{\circ}$  i  $75^{\circ}\text{C}$ ), u odsustvu pro- i antioksidativnih jedinjenja kako bi se izbegli složeni efekti, potvrdila je da se konstanta reakcije eksponencijalno povećava sa temperaturom (Gomez-Alonso i sar., 2004; Bendini i sar., 2009). Uticaj temperature na stopu oksidacije je prilično složen; povećava brzinu oksidacije koja poboljšava brzinu formiranja hidroperoksida, a smanjuje rastvorljivost kiseonika u ulju i povećava raspad hidroperoksida, menjajući profil formiranih proizvoda (Velasco i Dob Arganes, 2002).

##### 4.4.3.1. Promene u sadržaju pigmenta

###### 4.4.3.1.1. Promene u sadržaju ukupnih hlorofila

U početnom uzorku maslinovog ulja iz Italije uočeno je najveći sadržaj ukupnog hlorofila u poređenju sa uzorcima iz Libije. U italijanskom ulju, osnovna koncentracija ukupnog hlorofila iznosila je 248,4 mg/kg, a nakon 28 dana prema testu Schaal-Oven pala je na samo 164,9 mg/kg tj. degradacija hlorofila je iznosila 33,61% (Slika 61). Uzorci sa teritorije Libije su imali nizak ukupan sadržaj hlorofila u svim uzorcima: od 21,1 mg/kg (Msallata DMU) do 39,5 mg/kg (Tarhuna DMU), a nakon 28 dana sadržaj hlorofila u ovim uzorcima pao je na vrednosti od 4,8 mg/kg, pronađene u DMU Msallata pa do 0,35 mg/kg kao što je utvrđeno u Tarhuna

DMU (Slika 61). Kao što je prikazano za ukupni sadržaj hlorofila u sva četiri libijska uzorka jasno se vidi da je uzorak maslinovog ulja iz Italije mnogo bogatiji u ukupnom hlorofilu od uzoraka iz libijske regije. Nakon Schaal-Oven testa obavljenog nakon perioda od 28 dana, italijanski uzorak i dalje sadrži znatno više ukupnog hlorofila u poređenju sa uzorcima iz područja Libije.



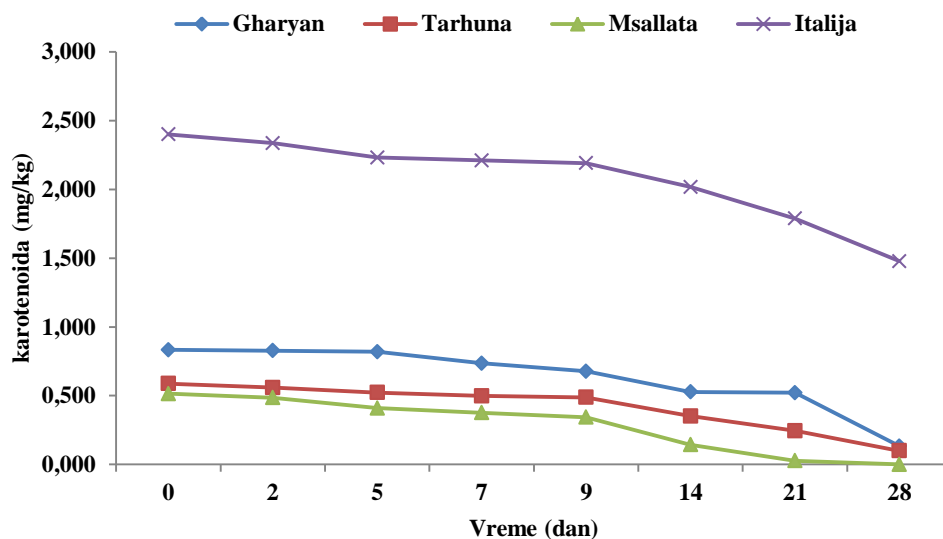
**Slika 61.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na ukupan sadržaj hlorofila (mg/kg) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

Baccouri i saradnici (2008) su proučavali hemijski sastav i oksidativnu stabilnost tuniških monovarietalnih devičanskih maslinovih ulja i autori su našli da je hlorofil bio 17,35 mg/kg, a posle skladištenja 1,88 mg/kg. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

#### 4.4.3.1.2. Promena sadržaja ukupnih karotenoida

Ako se uzme u obzir sadržaj ukupnih karotenoida u posmatranim uzorcima, vidi se da se sadržaj smanjuje sa produženjem vremena provedenog u uslovima Schaal-Oven testa, tj. držanjem ulja na  $63 \pm 2^\circ\text{C}$  bez uticaja svetlosti. Početni uzorci sa područja Gharyan i Italije (slika 62) su bogatiji u ukupnim karotenoidima (Gharyan -0,83 mg/kg, Italije -2,40 mg/kg) u poređenju sa preostala dva libijska uzorka. Sadržaj ukupnih karotenoida u uzorku Italije je počeo da se smanjuje, tako da je nakon 28 dana testa Schaal-Oven, sadržaj bio 1,47 mg/kg. Ovaj

sadržaj je i dalje značajan, naročito ako se uzme u obzir da koncentracije ukupnih karotenoida polaznih uzoraka iz Libije ne prelaze 0,85 mg/kg, što ukazuje na kvalitet i otpornost na uslove datog uzorka iz Italije. Sadržaj ukupnih karotenoida u uzorku iz Italije se smanjio za samo 38,75%. U uzorku Gharyan, sadržaj ovih pigmenata blago se smanjio nakon 21 dan (0,52 mg/kg), a zatim na 28. dan je zabeležen oštar pad na samo 0,13 mg/kg, što je samo 15,66% u odnosu na početnu koncentraciju. U inicijalnim uzorcima Tarhune i Msallata ulja zabeležena je znatno niža ukupna koncentracija karotenoida (Tarhuna -0,58 mg/kg i Msallata -0,51 mg/kg). Kod Tarhuna maslinovog ulja značajno se smanjuju ukupni karotenoidi do 21 dana (58,62%), a zatim se sadržaj smanjuje na samo 0,09 mg/kg (84,48% gubitka u odnosu na početni sadržaj). U uzorku ulja sa područja Msallata pad je bio značajan i za 14 dana (72,55%), tako da su na dan 21 karotenoidi pronađeni samo u tragovima (0,02 mg/kg). Nakon 28 dana, karotenoidi više nisu bili prisutni u uzorku, moguće da je njihova ukupna degradacija ili oksidacija rezultirala gubitkom osobina hromanola.



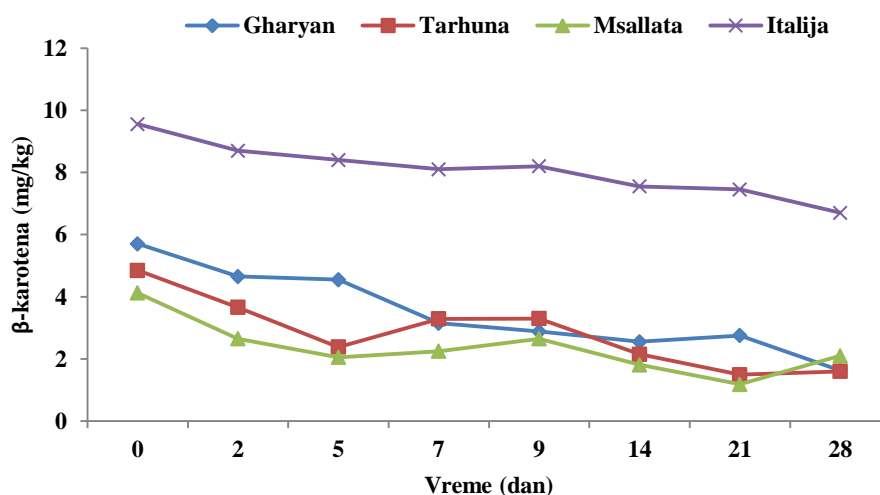
**Slika 62.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na ukupan sadržaj karotenoida (mg/kg) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

Baccouri i saradnici (2008) su proučavali hemijski sastav i oksidativnu stabilnost tuniških monovarietalnih devičanskih maslinovih ulja i autori su našli da je sadržaj karotenoida bio 7,45 mg/kg, a posle skladištenja 1,66 mg/kg. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.

4.4.3.1.3. Promene sadržaja  $\beta$ -karotena

Sadržaj  $\beta$ -karotena, kao značajnog predstavnika karotenoida, pokazao je isti obrazac pod uslovima Schaal-Oven testa kao i sadržaj ukupnih karotenoida. Sa povećanjem vremena provedenog u uslovima datog testa, sadržaj  $\beta$ -karotena blago se smanjivao u svim uzorcima, kao što je prikazano na slici 63. Najviša početna koncentracija  $\beta$ -karotena je pronađena u uzorku sa poreklom iz Italije (9,55 mg/kg). Pod uslovima testa, sadržaj ovog pigmenta je smanjen, tako da je nakon 28 dana njegova vrednost bila 6,7 mg/kg. Pad koncentracije u ovom uzorku nije toliko značajan i iznosi samo 29,84%. Ako gubitak  $\beta$ -karotena u uzorku Italije uporedimo sa gubitkom u uzorcima sa područja Libije, zaključak je da je italijansko Italije DMU mnogo manje osjetljivo na uslove Schaal-Oven testa.

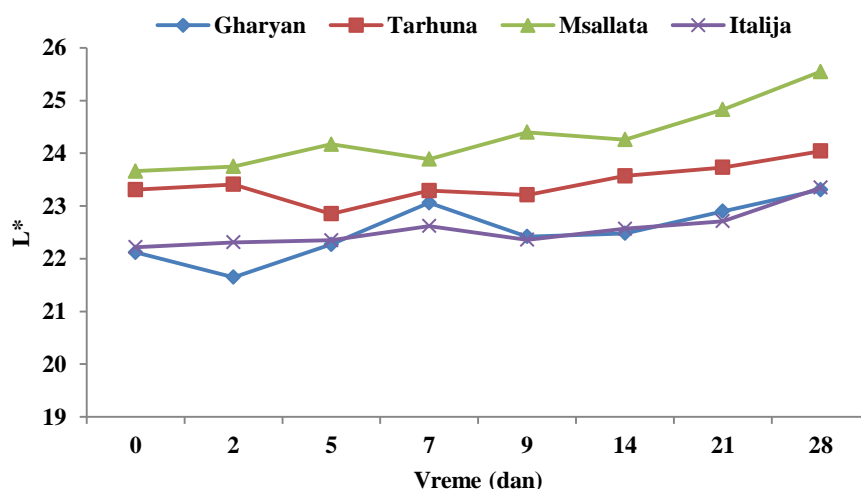
Naime, u inicijalnom Gharyan DMU, sadržaj  $\beta$ -karotena iznosio je 5,1 mg/kg, a nakon poslednjeg dana testa 1,6 mg/kg. Sadržaj u ovom uzorku pao je za 68,63%, u Tarhuna DMU sa početne koncentracije beta-karotena od 4,8 mg/kg, sadržaj je pao na 1,6 mg/kg i pad je bio 66,67%. U Msallata DMU, gubitak je bio najveći, 70,73%, sa početne količine od 4,1 mg/kg, sadržaj  $\beta$ -karotena pao je na samo 1,2 mg/kg.



**Slika 63.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na ukupan sadržaj  $\beta$ -karotena (mg/kg) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

#### 4.4.3.2. Promene karakteristika boje

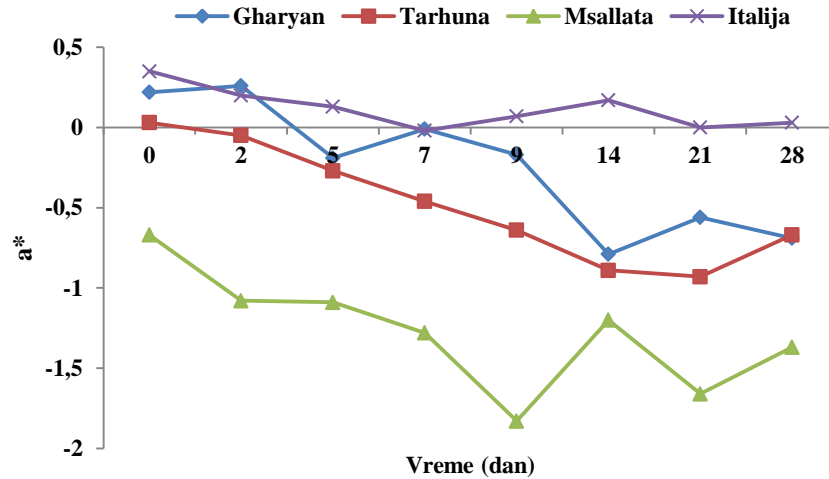
Promene u sadržaju ukupnih pigmenata tokom temperiranja ulja primenom Schaal-Oven testa reflektovale su na karakteristikama boje određenim instrumentalnom metodom. Rezultirajuće promene su analizirane u svim ispitanim uzorcima. Ako se posmatra parametar svetloće boje ( $L^*$ ), može se videti da se svetloća uzorka povećava s produženjem vremena provedenog pod Schaal-Oven testom i u direktnoj je korelaciji sa smanjenjem sadržaja pigmenata (slika 64). Najviša  $L^*$  vrednost određena je u uzorku Msallata, što se videlo i u prethodnom poglavlju gde je uzorak imao najmanji sadržaj pigmenata u početku i nakon 28 dana testa. Zatim sledi Tarhuna uzorak, koji ima nešto više pigmenata, njegova  $L^*$  -vrednost je nešto niža i uzorci sa područja Gharyan i Italije, imali su najviše pigmenata i najmanje vrednosti svetle boje.



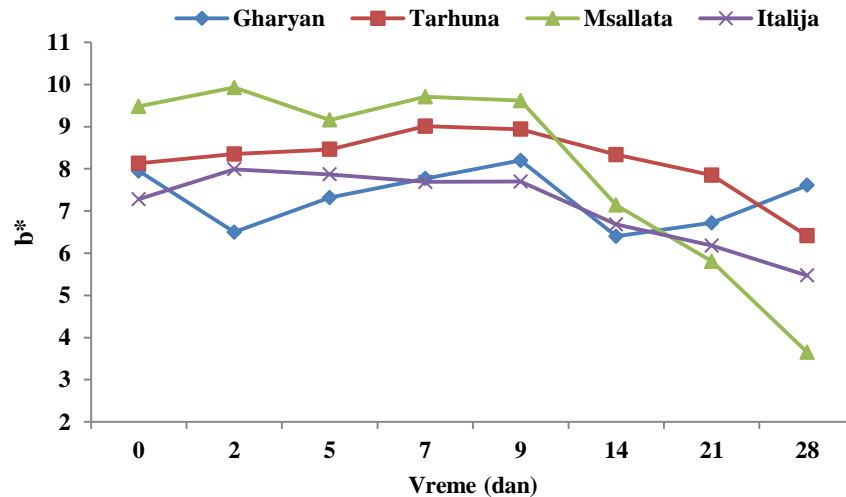
**Slika 64.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na svetloću boje ( $L^*$ ) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

Posmatrajući parametre boje  $a^*$  (udeo crvene boje) i  $b^*$  (udeo žute boje) može se zaključiti da su ove vrednosti proporcionalno izmenjene podvrgavanjem uzoraka maslinovog ulja uslovima Schaal-Oven testa tokom kojih su se gubili hlorofili i karotenoidi. Na slici 65, parametar ( $a^*$ ) uzoraka se menja sa vremenom provedenim pod uslovima datog testa. Tako je u uzorku Italije je najveća vrednost parametara ( $a^*$ ) i ne menja se značajno ni posle 28. dana testiranja, dok Msallata uzorak ima najmanju vrednost ( $a^*$ ) i karakteriše se kao "najzeleniji" nakon testa. Ako se

posmatra parametar boje ( $b^*$ ) (Slika 66), može se videti da početni uzorak Msallata ima najvišu vrednost ( $b^*$ ), međutim, nakon što je test završen, njegova ( $b^*$ ) vrednost je najmanja, što se slaže sa činjenicom da u ovom uzorku nakon 28 dana karotenoidi čije prisustvo povećava vrednost ( $b^*$ ), nisu pronađeni. Za ostale uzorke, zabeležen je određeni pad vrednosti ( $b^*$ ).

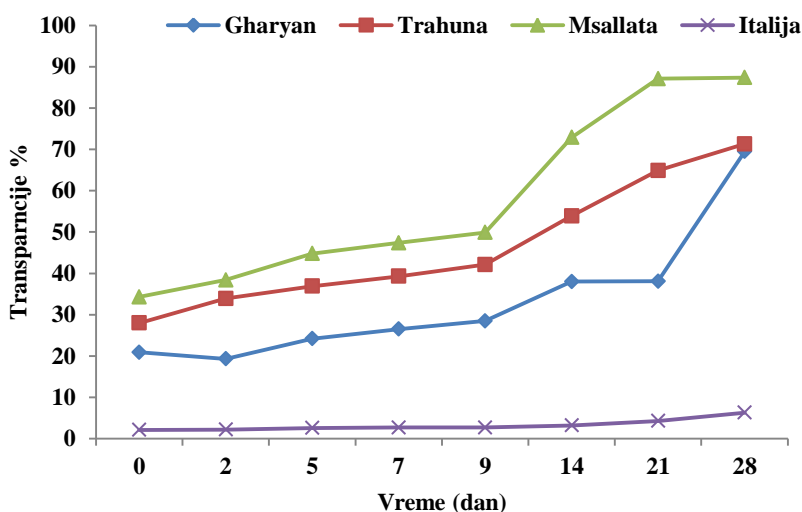


**Slika 65.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na karakteristike boje ( $a^*$ ) kod uzoraka DMU u period od 28 dana



**Slika 66.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na karakteristike boje ( $b^*$ ) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

Slika 67 prikazuje zavisnost transparentnosti ulja od vremena provedenog u uslovima Schaal-Oven testa. Primetno je da se transparentnost uzoraka ulja proizvedenih u Libiji značajno povećava sa porastom vremena temperiranja i to 2,55 puta više u uzorcima Tarhune i Msallata i do 3,32 puta veća transparentnost u odnosu na Gharyan DMU. Povećanje vrednosti transparentnosti je posledica gubitka pigmentata. Naime, transparentnost je obratno proporcionalna sadržaju pigmentata u ulju. Tako je najveća transparentnost zabeležena u uzorku koji je imao najmanje pigmenta, pre i posle testa (Msallata), a najmanju transparentnost imao je uzorak Italije koji je znatno bogatiji sa pigmentima pre i nakon izlaganja Schaal-Oven testu u poređenju sa drugim uzorcima.



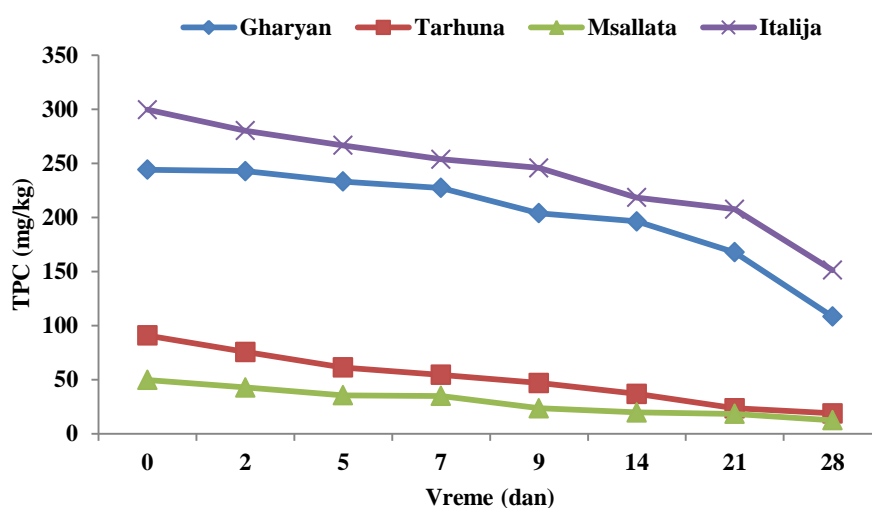
**Slika 67.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na % transparentnije kod uzoraka DMU u period od 28 dana

#### 4.4.3.3. Promene u sadržaju ukupnih fenola

Temperatura i period skladištenja maslinovog ulja, metoda ekstrakcije ulja i materijali za inkapsulaciju (Naczki i Shahidi, 2004; Perez-Jimenez i sar., 2006; Iangi sar., 2007; Tripoli i sar., 2005) su faktori koji utiču na sadržaj ukupnih fenola.

Kao što se vidi na slici 68, sadržaj ukupnih fenola u testiranim uzorcima maslinovog ulja se smanjuje sa povećanjem vremena provedenog na Schaal-Oven testu. Pre ispitivanja, uzorak Italije je imao najveći sadržaj ukupnih fenola od  $299,68 \pm 12,55$  mg/kg, nešto manji od Gharyan DMU od  $244,20 \pm 10,88$  mg/kg, zatim Tarhuna DMU  $90,98 \pm 3,06$  mg/kg i MsallataDMU  $49,69$

$\pm 1,64$  mg/kg. Posle 28 dana u uslovima ispitivanja u Italije DMU sadržaj ukupnih fenola je bio  $151,26 \pm 0,00$  mg/kg (50,47% početne vrednosti) u Gharyan DMU  $108,34 \pm 6,94$  mg/kg (44,36%), u Tarhuna DMU  $18,82 \pm 0,56$  mg/kg (20,69%) i u Msallata DMU  $12,53 \pm 1,13$  mg/kg (25,22%). Očigledno je da je u početnim uzorcima Italije i Gharyan pronađena znatna količina ukupnih fenola i da je nakon 28 dana u uslovima testa Schaal-Oven značajan sadržaj ukupnih fenola i dalje prisutan u ovim uzorcima, više nego u inicijalnim uzorcima maslinovog ulja Tarhuna i Msallata DMU. Ovo ukazuje na bolju održivost uzoraka Italija i Gharyan DMU u poređenju sa preostala dva uzorka DMU.



**Slika 68.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na sadržaj ukupnih fenola (mg/kg) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

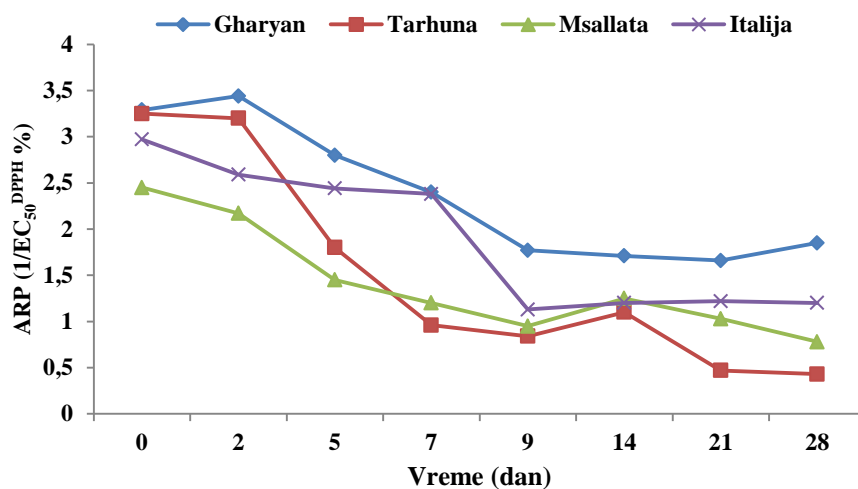
Uočeno je smanjenje fenolnog sadržaja u uzorcima maslinovog ulja, u zavisnosti od vremena provedenog pod testom Schaal-Oven. Fenoli su veoma važni za stabilnost maslinovog ulja (Gutierrez i sar., 2001; Abaza i sar., 2005).

#### 4.4.3.4. Promene u vrednostima DPPH

Na slici 69 se vidi da tokom prvih dvadana ispitivanja nisu zabeležene značajne promene u  $EC_{50}$  vrednostima. Nakon toga, sa gubitkom sadržaja tokoferola i ukupnih fenolnih jedinjenja, primećuju se promene, odnosno smanjenje vrednosti  $EC_{50}$ . Maslinovo ulje takođe sadrži još druga, funkcionalna veoma važna jedinjenja koja takođe utiču na promenu  $EC_{50}$ . Shodno tome,



može se očekivati da bi uz neizbežne promene koje bi se dogodile tokom izlaganja Schaal-Oven testu, došlo do velikih promena vrednosti  $EC_{50}$  zbog promene sadržaja određenih komponenti maslinovog ulja.



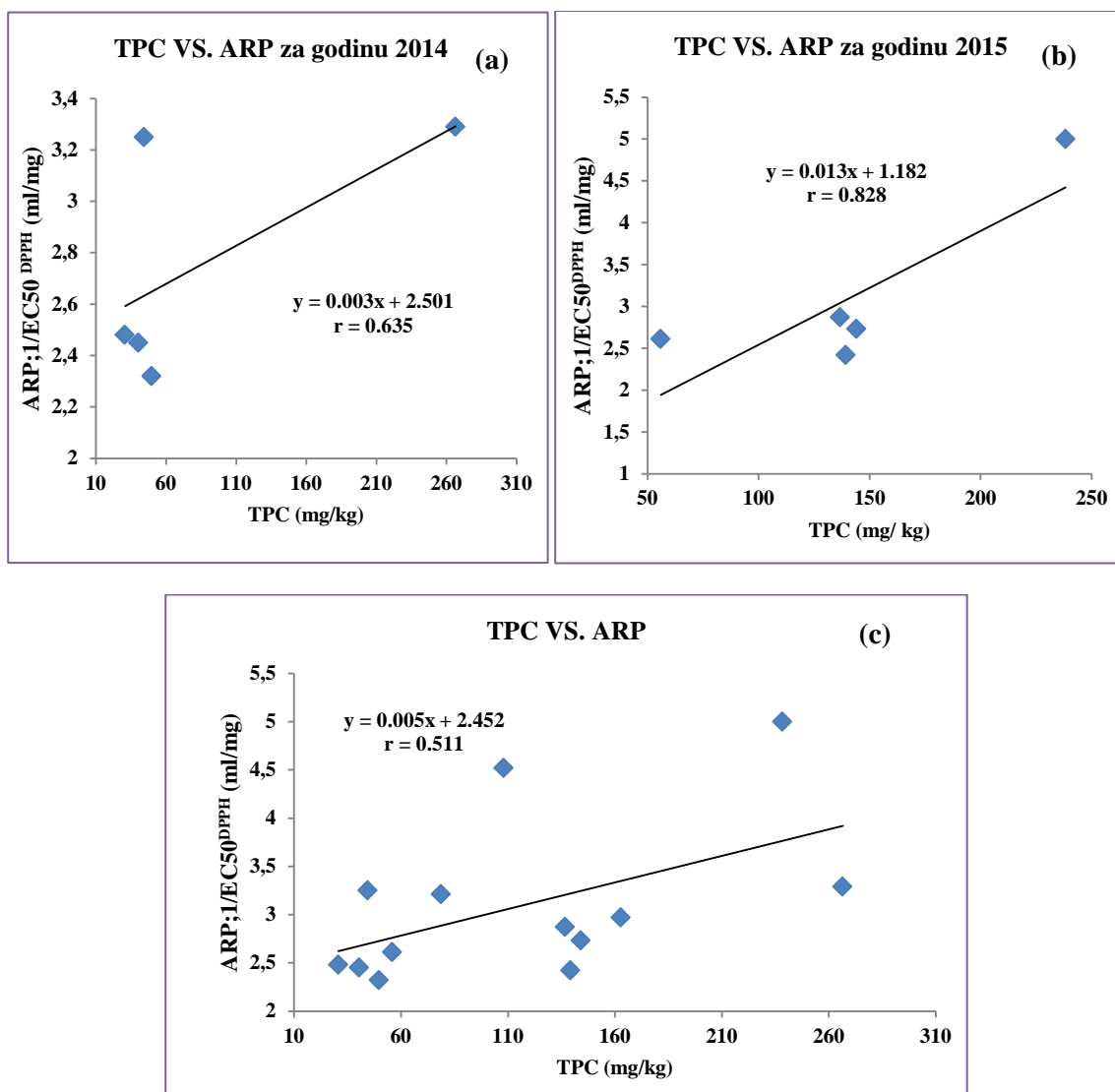
**Slika 69.** Efekat izloženosti povišenoj temperaturi, Schaal-Oven testu, na ARP ( $1/EC_{50}^{DPPH}$  %) kod uzoraka DMU u period od 28 dana

Zavisnost ARP vrednosti su prikazane na slici 69, gde se jasno pokazuje razlika u povećanju  $EC_{50}$  vrednosti i smanjenjem ARP u uzorcima Gharyan DMU iz Schaal-Oven testa. Vrednost  $EC_{50}$  za Gharyan DMU na kraju testa je iznosila 0,45, dok su za Tarhuna i Msallata DMU bila 2,33 mg/ml i 1,28 mg/ml, respektivno, što je u skladu sa većim gubicima u ukupnom sadržaju tokoferola u svim uzorcima iz Schaal-Oven testa, jer su maslinova ulja na visokim temperaturama izgubila neka jedinjenja.

#### 4.5. Korelacija (r) među fitohemikalijama i antioksidativnim kapacitetima u uzorcima DMU

Fenolna jedinjenja i tokoferoli igraju ključnu ulogu u stabilnosti DMU. Zapravo, sadržaj fenola je važan u proceni dodatnog nutritivnog kvaliteta jer fenolna jedinjenja štite triacilglicerole od oksidacije i doprinose ukusu i mirisu ulja. Sve vrednosti  $EC_{50}^{DPPH}$  transformisane su u njihove recipročne vrednosti,  $1/EC_{50}^{DPPH}$ . Recipročne vrednosti su više

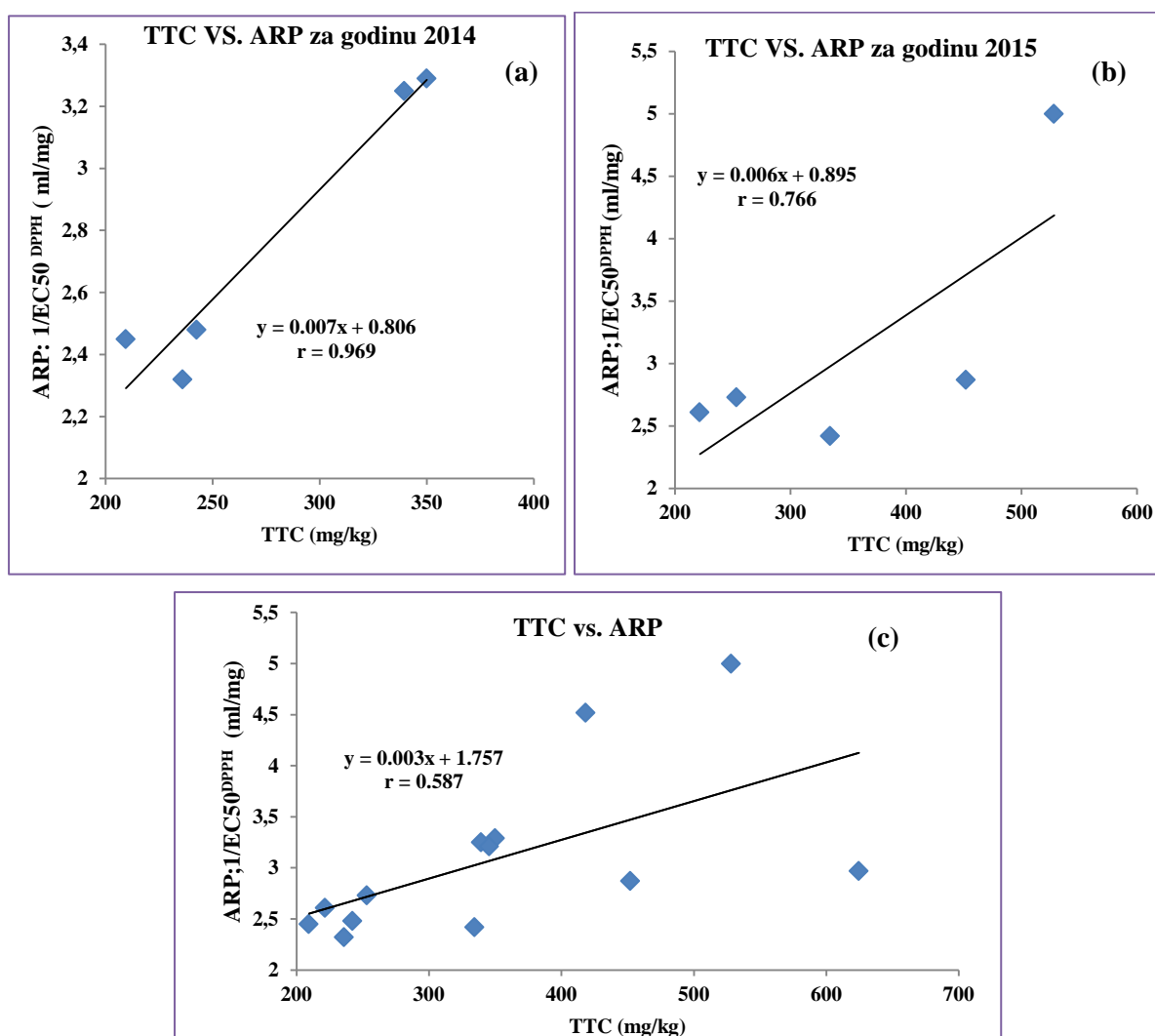
reprezentativne za prezentirane aktivnosti jer prate trend rasta efikasnosti uzorka u testu. Ove vrednosti su istražene u vezi sa korelacijom sa ukupnim fenolnim jedinjenjima - TPC, kvantifikovanog u DMU uzorcima. Da bi se procenio odnos između tih fitokemikalija i ARP Analiziran je Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) i nadjene su neke jake značajne korelacije ( $0,8 \leq r \leq 1$ ). Rezultati korelacione analize prikazani su na slici 70a., za berbu 2014. godine. Uočena je umerena pozitivna veza između TPC i ARP kao vrednost  $1/EC_{50}^{DPPH}$ , a Pearsonov koeficijent korelacije je bio  $r = + 0,635$ . Sa druge strane (Slika 70. b) za godinu 2015.,  $1/EC_{50}^{DPPH}$  vrednost je pokazala snažnu pozitivnu korelaciju sa TPC ( $r = + 0,828$ ) i u poređenju sa evropskim DMU (Slika 70. c), za koji koeficijent korelacije je bio  $r = + 0,511$ . Ovi rezultati ukazuju da je TPC dobar prediktor *in vitro* antioksidativne aktivnosti.



**Slika 70.** Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) između TPC i ARP<sup>DPPH</sup> u uzorcima DMU

Tokoferoli su prirodni antioksidanti koji mogu zaštititi ulja i masti od oštećenja reagovanjem sa slobodnim radikalima i upravljanjem oksidativnih reakcija prema njihovoj završnoj fazi. Antioksidativna aktivnost tokoferola i tokotrienola (grupisanih kao hromanoli) uglavnom je zahvaljujući njihovoj sposobnosti da doniraju svoje fenolne vodonike na slobodne radikale lipida. EC<sub>50</sub> vrednosti su ispitane o korelaciji sa ukupnim sadržajem tokoferola - TTC, kvantifikovanim u DMU uzorcima. Da bi se procenio odnos između tih fitokemikalija i ARP, analiziran je Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) i nadjene su neke značajne korelacije ( $0,6 \leq r \leq 1$ ). Rezultati korelacione analize su prikazani na Slici 71a. Opažen je snažan pozitivan odnos

između TTC i ARP kao ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ), Pearsonov koeficijent korelacije je bio  $r = + 0,969$ . Sa druge strane (Slika 71b) za berbu 2015. godine,  $1/EC_{50}^{DPPH}$  vrednost je pokazala umerenu pozitivnu korelaciju sa TTC ( $r = + 0,766$ ) dok je u poređenju sa evropskim DMU (Slika 71c), koeficijent korelacije bio  $r = + 0,587$ ). Rezultati pokazuju da je TTC dobar prediktor *in vitro* antioksidativne aktivnosti.



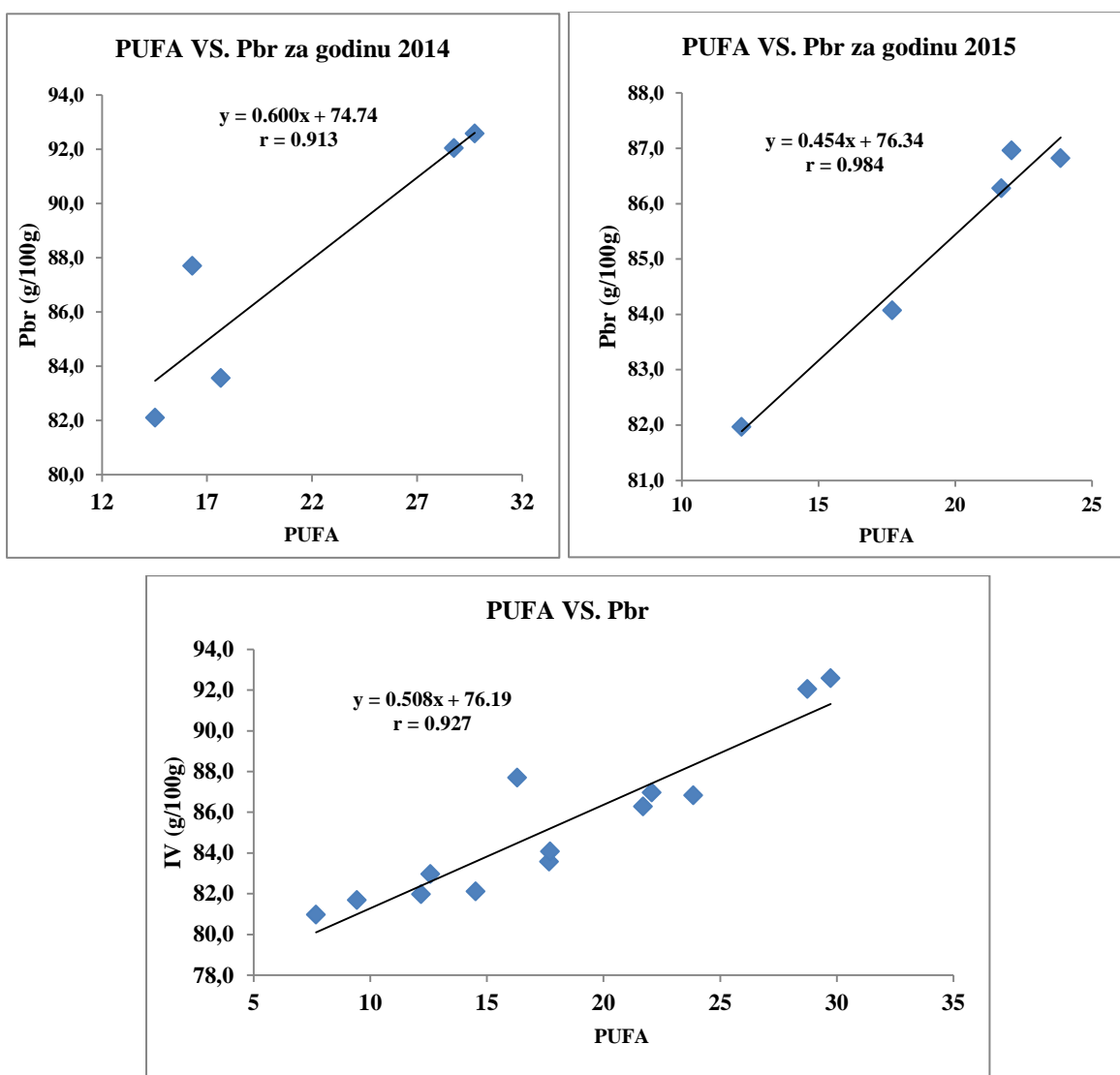
Slika 71. Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) između TTC i  $ARP^{DPPH}$  u uzorcima DMU

#### 4.6. Korelacija ( $r$ ) među Jbr i PUFA u uzorcima DMU

Jodni broj je mera ukupne nezasićenosti unutar smeše masnih kiselina. Izražava se u gramima joda koji reaguju sa 100 g odgovarajućeg uzorka kada se jod dodaje na dvostruke veze.

Jodni broj biljnog ulja ili životinjske masti skoro je identična onoj od odgovarajućih metil estara (Knothe i sar., 2005).

Naši rezultati su takođe pokazali snažnu pozitivnu vezu između Jbr i PUFA (slika 72) za berbu 2014.godine. Pearsonov koeficijent korelacije je bio  $r = + 0,983$ . Za berbu 2015.godine koeficijent korelacije je bio  $r = + 0,984$ , dok je u poređenju sa evropskim DMU koeficijent korelacije bio  $r = + 0,927$ . Budući da je jodna vrednost mera ukupne nezasićenosti masnih kiselina očekivano je povećanje linearnog povećanja sa parametrom DU: što je više nezasićenja u ulja to je veća jodna vrednost (Knothe, 2002; Kiriakidis i Katsiloulis, 2000; Lin i sar., 2006).

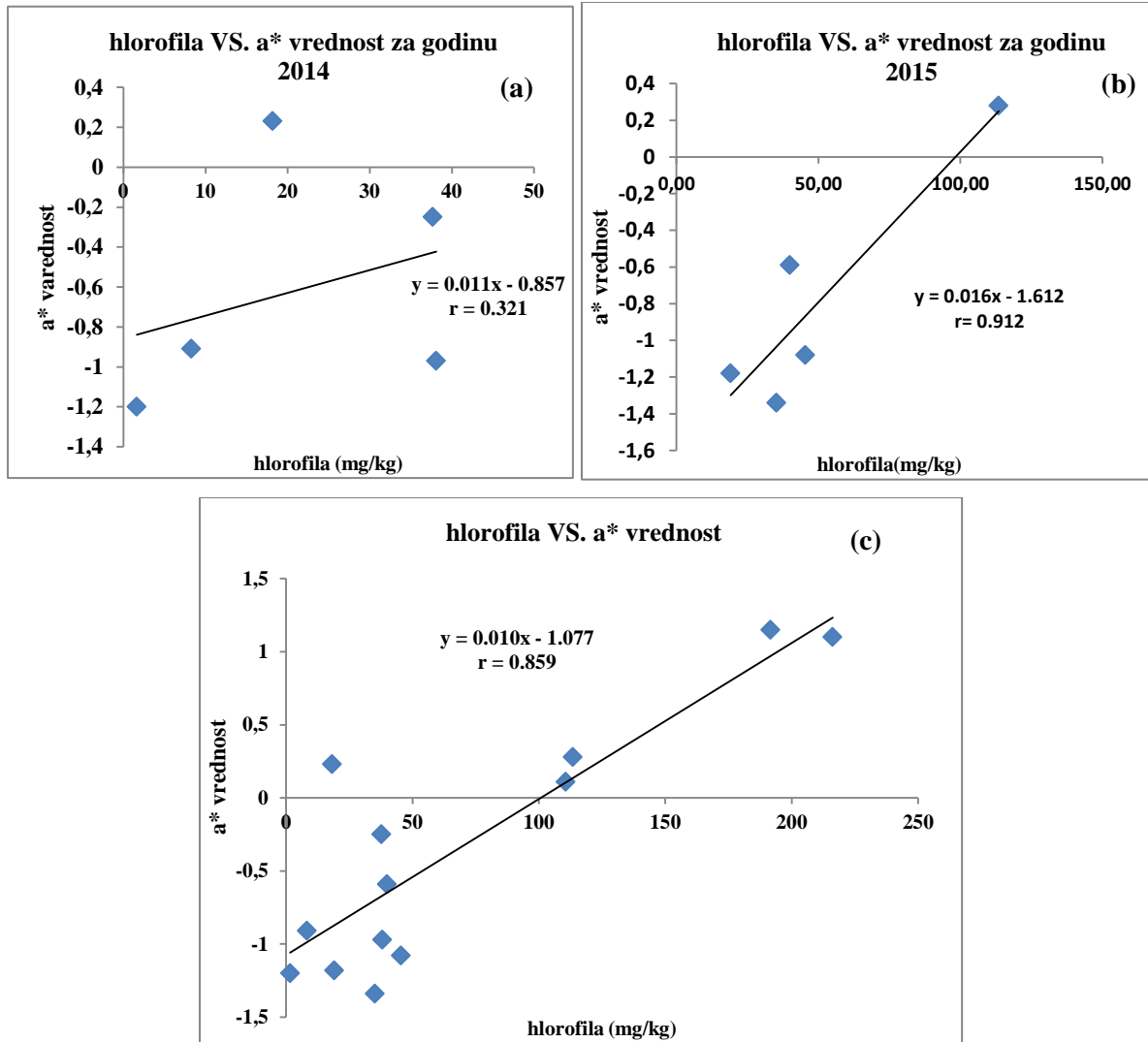


Slika 72. Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) između Jbri PUFA u uzorcima DMU

#### 4.7. Korelacija (r) među hlorofila i (a\*) vrednost u uzorcima DMU

Boja devičanskog maslinovog ulja očigledno deluje na preferiranje i prihvatanje od strane. Pošto je maslinovo ulje prirodni proizvod, njegova boja se zasniva isključivo na solubilizaciji liposolabilnih hlorofila i karotenoida prisutnih u svežem plodu. Hlorofil se podvrgava specifičnim promenama koje podrazumevaju izmenu profila pigmenta koji se obično povezuje sa sveže ceđenim devičanskim maslinovim uljem. Prirodni sadržaj pigmenta ulja važan je za parametre kvaliteta jer je u korelaciji sa bojom i igra ključnu ulogu kao faktor senzorne prihvatljivosti među potrošačima ovisno o sorti i fazi zrelosti (Salvador, 2000).

Naši rezultati su takođe pokazali snažnu pozitivnu vezu između hlorofila i a\* vrednosti (slika 73) za berbu 2014.godine. Pearsonov koeficijent korelacije bio je ( $r = 0,321$ ). Za berbu 2015.godine, koeficijent korelacije bio je  $r = + 0,912$ , dok je u poređenju sa evropskim DMU koeficijent korelacije bio  $r = + 0,859$ . Sikorska i saradnici (2007) su proučavali promene u boji ekstradevičanskog maslinovog ulja tokom skladištenja i autori su dobili veće regresione koeficijente za korelacije između parametara boje i koncentracije hlorofila. Najbolje korelacije su pronađene za L\* i a\* vrednosti. Ovi rezultati su u saglasnosti sa našim rezultatima u ovoj studiji.



**Slika 73.** Pearsonov koeficijent korelacije ( $r$ ) između sadržaja ukupnog hlorofila i  $a^*$  vrednosti u uzorcima DMU

## 5.0. ZAKLJUČCI

Na osnovu prikazanih rezultata, koji uključuju hemijske i fizičke karakteristike, fitohemijske vrednosti, senzorske karakteristike uzoraka devičanskih maslinovih ulja, kao i rezultata dobijenih ispitivanjem fotostabilnosti ulja pod uslovima fluorescentne svetlosti i ispitivanjem oksidativne stabilnosti uljau uslovima umereno povišenih temperatura i diskusije o dobijenim rezultatima, može se zaključiti sledeće:

1. Ako se posmatra sastav masnih kiselina maslinovog ulja, u ispitanim uzorcima DMU je utvrđeno sedam glavnih masnih kiselina, pri čemu su palmitinska, oleinska i linolna kiselina su bile dominantne. Druge masne kiseline su prisutne u veoma malim količinama. Najveći procenat palmitinske kiseline nadjen je u DMU Tripoli ( $18,77 \pm 0,05\%$ ). Oleinska kiselina je dominantna u poređenju sa linolnom i linolenskom u svim DMU uzorcima. Gharyan DMU ( $70,09 \pm 0,18\%$ ) i evropska DMU ( $77,87 \pm 0,25\%$ ) posedovali su najveći procenat oleinske kiseline, Sadržaj svih masnih kiselina prisutnih u testiranim uzorcima je u skladu sa Pravilnikom o kvalitetu i ostalim zahtevima za jestivo maslinovo ulje i jestivo maslinovo ulje od komine (1999), kao i međunarodnim standardom za kvalitet maslinovog ulja (IOOC, 2006).
2. Najveći sadržaj ukupnih fenola (TPC) u evropskim uljima nađen je u količini od  $162,8 \pm 17,39$  mg/kg, znatno veći sadržaj od toga nađen je u uzorku Gharyan ( $266,5 \pm 31,53$  mg/kg), a značajno manje količine su pronađene u uzorcima Tarhuna ( $44,4 \pm 0,49$  mg/kg) i Msallata ( $40,4 \pm 2,05$  mg/kg). Pronadjeni su i fenolni alkoholi (tirosol i hidroksi-tirosol), u Gharyan DMU je bio najviši nivo ( $164 \pm 9,0$  mg/kg i  $16,3 \pm 0,5$  mg/kg), a u DMU Msallata ( $4,07 \pm 0,92$  mg/kg i  $0,33 \pm 0,5$  mg/kg) najmanji. Ostale fenolne kiseline bile su prisutne u veoma niskim koncentracijama.
3. Za ukupan sadržaj tokoferola (TTC), najviši nivo je pronađen u Gharyan DMU ( $528,6 \pm 14,49$  mg/kg), a najniži TTC je bio u DMU Tripoli ( $221,6 \pm 4,31$  mg/kg). Postoji određena razlika u sastavu tokoferola u DMU iz različitih regiona. Utvrđeno je da  $\alpha$ -tokoferol prisutan u većem procentu u poređenju sa  $\beta + \gamma$  i  $\delta$ -tokoferolom. Sadržaj  $\alpha$ -tokoferola je pronađen na visokom nivou u Msallata DMU ( $117,0 \pm 5,85$  mg/kg) i na niskom nivou u Gharyan DMU ( $27,30 \pm 1,39$  mg/kg).  $\beta + \gamma$ -tokoferol je pronađen na



najnižem nivou u Tripoli DMU ( $4,69 \pm 0,23$  mg/kg), a najviši nivo je bio u Q. B. Ghashir DMU ( $0,76 \pm 0,04$  mg/kg). Za  $\beta$ -tokoferol najviši nivo bio je u Gharyan DMU ( $1,16 \pm 0,06$  mg/kg), a najniži nivo u Tripoli DMU ( $0,30 \pm 0,02$  mg/kg).

4. U testu za antiradikalske aktivnosti ulja sa slobodnim DPPH radikalima najveća vrednost  $EC_{50}^{DPPH}$  registrovana je u Msallata DMU ( $0,41$  mg/ml), dok je najniži  $EC_{50}^{DPPH}$  pronađen u Gharyan DMU ( $0,20$  mg/ml). Uticaj ulja na inaktivaciju/hvatanje slobodnih DPPH radikala smanjuje se sledećim redosledom: Gharyan > Q.B .Ghashir > Msallata > Tarhuna DMU, dok je DMU Tripoli pokazalo najniži antiradikalni potencijal.
5. Devičanska maslinova ulja u senzorskoj analizi su karakterisala tri pozitivna deskriptora: voćni, gorki i oštri, i to u uzorcima evropskih maslinovih ulja, zatim kod ulja sa područja Gharyan i Q. B. Ghashir DMU. Dok su Tarhuna i Msallata DMU karakterisale niske vrednosti tri pozitivna deskriptora i visoke vrednosti u voćnom, travnatom aromom sa preovlađujućim mirisom i artičoke i nagoveštajem badema, plesnivog, budjavog, vinskog, vlažnog, drvenog, rancidnog i drugih ukusa.
6. Sadržaj pigmenata,  $\beta$ -karotena, ukupnih karotenoida i ukupnog hlorofila u uzorcima su znatno varirali. Najveći sadržaj pigmenata u uzorcima pronađen je kod evropskih DMU ( $8,55 \pm 0,01$  mg/kg) i Gharyan DMU ( $9,15 \pm 0,21$  mg/kg). Ostali uzorci iz libijskih regiona sadržavali su znatno nižu koncentraciju pigmenata.
7. Karakteristike boje uzoraka maslinovog ulja određene su prema sistemu *CIE L\* a\* b\** i sistemu *CIE Y-x* . Najmanja svetloća boje ( $L^*$  vrednost) u uzorcima, kao i najmanju transparentiju/providnost, imali su evropski uzorci i uzorak DMU Gharyan koji sadrži i najviše pigmenata. Najveća svetloća boje kao i najveću transparentnost, imali su uzorci DMU Tarhuna ( $46,2 \pm 0,12$  %) i Q. B. Ghashir ( $47,3 \pm 0,14$  %), gde je pronađen najmanji sadržaj pigmenata, dok vrednosti ( $a^*$ ) i ( $b^*$ ) pokazuju značajne razlike ( $p < 0,05$ ).
8. Rezultati ispitivanja pokazuju značajne razlike u peroksidnom broju (Pbr) ulja. Pbr libijskih uzoraka je bio viši od evropskih uzoraka ( $13,65 \pm 0,35$  mmol/kg). Kiselinski broj je takođe pokazao značajne razlike ( $p < 0,05$ ) između uzoraka, a najniže vrednosti su bile u evropskim DMU ( $0,40 \pm 0,03$  %) i u uzorca Gharyan ( $0,72 \pm 0,08$  %).
9. Rezultati drugih hemijsko-fizičkih svojstava takođe pokazuju izvesne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ). Međutim vrednosti koje su nađeneu testiranim uzorcima su u skladu sa Pravilnikom o kvalitetu i ostalih zahteva za jestivo maslinovo ulje i jestivo maslinovo

ulje od komine (1999), kao i međunarodnim standardom za kvalitet maslinovog ulja (IOOC, 2006).

10. Podvrgavanjem uzoraka efektima fluorescentnog svetla, sadržaj karotenoida i hlorofila se smanjuje u funkciji vremena. Ovaj fenomen je posledica degradacije i oksidacije pigmenata, pri čemu oni gube hromanolne osobine. Nakon 35 dana ekspozicije fluorescentnoj svetlosti, sadržaj beta-karotena u uzorku Gharyan DMU, u prozirnom pakovanju, smanjen je za 32,8%, a u tamnom pakovanju smanjen je za 4% u odnosu na početni sadržaj. U preostala dva uzorka ulja iz Libije, takođe postoji razlika u sadržaju beta-karotena u uzorcima providne i tamne ambalaže na kraju testa. Na kraju ispitnog perioda od 35 dana, hlorofil je bio prisutan samo u uzorku iz Italije u tamnoj ambalaži, i to u veoma malim količinama. U svim ostalim uzorcima, hlorofil je potpuno degradirao već nakon 6 dana testa.
11. Karakteristike boje uzoraka maslinovog ulja određene su prema sistemu *CIE L\* a\* b\** i sistemu *CIE Y-x*. Polazni uzorci su se znatno razlikovali po određenim karakteristikama boje, pre svega usled različitog sadržaja pigmenata, što je rezultiralo i različitu transparentiju ulja. Nakon što su uzorci podvrgnuti uslovima ispitivanja uticaja fluorescentnog svetla, najveća vrednost *L\** bila je uzorcima Tarhuna i Msallata u providnoj i tamnoj ambalaži (25,6 i 24,24 %), respektivno. Najmanju vrednost ovih parametara imali su uzorci Italija DMU (23,49 %).
12. Najveći sadržaj ukupnih tokoferola u početnim uzorcima imalo je ulje iz područja Gharyan (442 mg/kg), a najbliža vrednost njemu je pronađena u uzorcima ulja proizvedenih u Italiji (408 mg/kg). Vrednost ukupnih tokoferola se smanjuje u testiranim uzorcima tokom vremena pod ekspozicijom fluorescentnog svetla. Uočeni su veliki (408 mg/kg) gubici u TTC u uzorku Gharyan, koji su bili u transparentnoj ambalaži. Sličan trend gubitka fenola takođe je prikazan u drugim uzorcima. Utvrđeno da je sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u uzorku Gharyan DMU prozirne ambalaže smanjena, a sadržaj je smanjen i u istom uzorku u tamnom pakovanju, nakon 35 dana testa fluorescentnog efekta.
13. Rezultati testa pokazuju fluktuaciju Pbr tokom trajanja testa pod uticajem fluorescentnog svetla, (6,14 do 15,33 mmol/kg). Ovo može biti rezultat delimičnog raspadanja hidroperoksida u proizvode sekundarne oksidacije. Rezultati takođe pokazuju razlike (p

- <0.05) u Pbr uzoraka u providnom pakovanju i onih u tamnoj ambalaži. Najveća razlika je primećena u uzorku Tarhuna DMU, nakon 35 dana izloženosti svetlosti, gde je najviši Pbr bio upravo u ovom uzorku (15,33 mmol/kg), a najmanji Pbr bio je u uzorku iz Italije (15,31 mmol/kg) u tamnoj ambalaži.
14. Tokom prvih deset dana ispitivanja, nisu zabeležene značajne promene u vrednostima  $EC_{50}$  uzoraka bilo u providnom ili u tamnom pakovanju zbog gubitka sadržaja tokoferola i ukupnih fenolnih jedinjenja. Maslinovo ulje takođe sadrži i druga, funkcionalno veoma važna jedinjenja, koja takođe utiču na promenu  $EC_{50}$ .
  15. Ispitivanje fotostabilnosti maslinovih ulja pod uticajem fluorescentnog testa pokazalo je značaj ambalaže da bi se sačuvala biološki i nutritivno važne komponente. Veći gubici u ukupnom tokoferolu, fenolnim jedinjenjima i pigmentima pronađeni su u uzorcima koji su bili izloženi u transparentnoj ambalaži u poređenju sa uzorcima u tamnosmeđoj ambalaži.
  16. Analiziranjem uzoraka prema Schaal-Oven testu pri umereno povišenoj temperaturi od  $63 \pm 2^\circ C$  za period od 28 dana i periodičnim ispitivanjem sadržaja pigmenata nadjeno je da se sadržaj karotenoida i hlorofila smanjuje u svim uzorcima. Ova pojava je posledica degradacije i oksidacije pigmenata, tako što izgube svoje hromanolne osobine. Međutim, rezultirajuće promene nisu se jednako manifestovale u svim uzorcima. U uzorku Italija, ukupan gubitak hlorofila bio je 33,61%, međutim gubitak  $\beta$ -karotena iznosio je 29,84%. U uzorcima maslinovog ulja iz libijske regije, gubitak pigmenata je bio značajniji. Dok je smanjenje ukupnog sadržaja hlorofila bilo u rasponu od 57,44 do 99,11%, smanjenje sadržaja  $\beta$ -karotena kretalo se od 66,67 do 70, 73%.
  17. Sadržaj TPC u testiranim uzorcima maslinovog ulja se takođe smanjuje pri uslovima Schaal-Oven testa. Pad TPC je bio najznačajniji u uzorku Italija (50,47%), a najniži gubitak ovih jedinjenja, u poređenju sa početnom koncentracijom, zabeležen je u uzorku Tarhuna DMU i iznosio je 18,82 %.
  18. Karakteristike boje uzoraka maslinovog ulja pri uslovima Schaal-Oven testa su određene prema sistemu  $CIE L^* a^* b^*$  i sistemu  $CIE Y-x$ . Najviša vrednost svetloće boje ( $L^*$ ) (25,55 %), označena i kao transparentnost, dobijena je u uzorku Msallata DMU sa najnižim sadržajem pigmenata, a najmanja  $L^*$  vrednost i transparentnost određeni su u uzorku iz Italije (23,35 %) koji sadrži najviše pigmenata. Uzorci Gharyan, Msallata i

Italija DMU se nalaze se u rasponu oblasti boje žuto-zelene, međutim, uzorak Tarhuna DMU pripada oblasti žute boje.

19. Uzorak poreklom iz Italije je pokazao najstabilnije karakteristike. U početnom uzorku pronađen je najveći sadržaj pigmenata (250,4 mg/kg) i fenolnih jedinjenja ( $299,68 \pm 12,55$  mg/kg), a nakon primenjenih testova u ovom uzorku je zabeležen najniži gubitak željenih jedinjenja. Tako je smanjenje sadržaja pigmenata bilo 29,84 do 33,61%, smanjenje sadržaja fenola bilo je 50,47%, dok je vrednost transparentnosti povećana 3,2 puta.
20. Od uzoraka ulja iz Libije, parametri najboljeg kvaliteta su ustanovljeni u uzorku sa područja Gharyan. Početni uzorak sadrži manje pigmenata i fenolnih jedinjenja u poređenju sa uzorkom iz Italije, a gubitak je bio znatniji. Zatim sledi uzorak iz područja Tarhuna, a najgori je uzorak Msallata DMU. U početnom uzorku Msallata DMU, pronađen je najmanji sadržaj pigmenata i fenola i posle 28 dana testa došlo je do potpune karotenoidne degradacije, a sadržaj hlorofila i fenolnih jedinjenja je bio vrlo mali.
21. Pozitivna veza između Jbr i PUFA je registrovana i  $r$  je bio +0,927. Primećena je snažna pozitivna veza između hlorofila i  $a^*$  vrednosti ( $r = + 0,859$ ). Jaka je i pozitivna veza između TPC i AC ( $1/EC_{50}^{DPPH}$ ), koeficijent korelacije je bio + 0,511. S druge strane,  $1/EC_{50}^{DPPH}$  je pokazao pozitivnu umerenu korelaciju sa TTC ( $r = + 0,587$ ).

## GENERALNI ZAKLJUČAK

Dobijeni rezultati ukazuju na to da su fizičko-hemijska svojstva, nutritivni kvalitet i oksidativna stabilnost ispitivanih ulja dobri. Može se zaključiti da su DMU dobijena od sorti " *Roghiani, Hammudi i Endori* " koja se kultiviše u Libiji dobar kandidat kad se upoređi sa međunarodnim sortama po kvalitetu i uticaju na ljudsko zdravlje. DMU iz proizvodnog regiona Gharyan je bilo dosta pozitivno različito od ostalih libijskih DMU. Na osnovu utvrđenih karakteristika, može se reći da je ovo ulje imalo najbolju nutritivnu vrednost.

## 6.0. LITERATURA

1. Abaza, L., Taamalli, W., Ben Temime, S., Daoud, D., Gutierrez, F., & Zarrouk, M. (2005). Natural antioxidant composition as correlated to stability of some Tunisian virgin olive oils. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 82(1): 12-18.
2. Agati, G., Pinelli, P., Cortés Ebner, S., Romani, A., Cartelat, A., & Cerovic, Z. G. (2005). Nondestructive evaluation of anthocyanins in olive (*Olea europaea*) fruits by in situ chlorophyll fluorescence spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5):1354-1363.
3. Aguilera, M. P., Beltrán, G., Ortega, D., Fernández, A., Jiménez, A., & Uceda, M. (2005). Characterization of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89: 387–391.
4. Alfred, T. (2002). Fats and Fatty Oils. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
5. Allalout, A., Krichène, D., Methenni, K., Taamalli, A., Oueslati, I., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia horticultrae*, 120(1): 77-83.
6. Alonso-Salces, R. M., Héberger, K., Holland, M. V., Moreno-Rojas, J. M., Mariani, C., Bellan, G., & Guillou, C. (2010). Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes. *Food Chemistry*, 118(4): 956-965.
7. Amelio, M. (2003). Chemical-physical characteristics of olive oils. *ONAOO: Organizzazione nazionale Assogiatori Olio di Oliva*. p, 1-26.
8. Ammar, S., Zribi, A., Mansour, A. B., Ayadi, M., Abdelhedi, R., & Bouaziz, M. (2014). Effect of processing systems on the quality and stability of Chemlali olive oils. *Journal of oleo science*, 63(4): 311-323.
9. Andrewes, P.; Busch, J. L. H. C.; De Joode, T.; Groenewegen, A. & Alexandre, H. (2003). Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, pp. 1415-1420.

10. Andrikopoulos, N. K., Giannakis, I. G., & Tzamtzis, V. (2001). Analysis of olive oil and seed oil triglycerides by capillary gas chromatography as a tool for the detection of the adulteration of olive oil. *Journal of chromatographic science*, 39(4): 137-145.
11. Angerosa, F. (2002). Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10): 639-660.
12. Angerosa, F., Basti, C., & Vito, R. (1999). Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3): 836-839.
13. Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C., & Vito, R. (2000). Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry*, 68(3): 283-287.
14. Aparicio, R., & Harwood, J. (2013). *Handbook of olive oil. Analysis and properties*. 2nd ed Springer, New York.
15. Aparicio, R., Roda, L., Albi, M. A., & Gutiérrez, F. (1999). Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4150–4155.
16. Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102(4): 1233-1240.
17. Arzani, K., & Arji, I. (2000). The response of young potted olive plants Cv." Zard" to water stress and deficit irrigation. In IV International Symposium on Olive Growing 586 ,pp. 419-422.
18. Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., & Attia, H. (2009). Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. *Food and chemical toxicology*, 47(10): 2613-2619.
19. Ayton, J., Mailer, R. J., & Graham, K. (2012). The effect of storage conditions on extra virgin olive oil quality. RIRDC.
20. Azlan, A., Prasad, K. N., Khoo, H. E., Abdul-Aziz, N., Mohamad, A., Ismail, A., & Amom, Z. (2010). Comparison of fatty acids, vitamin E and physicochemical properties of *Canarium odontophyllum* Miq.(dabai), olive and palm oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(8): 772-776.

21. Baccouri, O., Guerfel, M., Baccouri, B., Cerretani, L., Bendini, A., Lercker, G., & Miled, D. D. B. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food chemistry*, 109(4): 743-754.
22. Bakhouch, A., Lozano-Sánchez, J., Beltrán-Debón, R., Joven, J., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, 50(1): 401-408.
23. Ballus, C. A., Meinhart, A. D., de Souza Campos, F. A., & Godoy, H. T. (2015). Total phenolics of virgin olive oils highly correlate with the hydrogen atom transfer mechanism of antioxidant capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(6): 843-851.
24. Bartolini, G., Prevost, G., Messeri, C., Carignani, G., (2005). Olive germplasm: cultivars and worldwide collections. Available via DIALOG <http://www.apps3.fao.org/wiews/olive/oliv.jsp>.
25. Baumann, J., Wurn, G., & Bruchlausen, F. V. (1979). Prostaglandin synthetase inhibiting O 2-radical scavenging properties of some flavonoids and related phenolic compounds, naunyn, schmiedebergs.
26. Becerra-Herrera, M., Sánchez-Astudillo, M., Beltrán, R., & Sayago, A. (2014). Determination of phenolic compounds in olive oil: New method based on liquid-liquid micro extraction and ultra high performance liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1): 49-57.
27. Beltrán, G., Del Rio, C., Sánchez, S., & Martínez, L. (2004). Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from cv. Picual. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11): 3434-3440.
28. Beltrán, G., Aguilera, M. P., Del Rio, C., Sanchez, S., & Martinez, L. (2005). Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, 89(2): 207-215.
29. Beltran, G., Del Rio, C., Sanchez, S., & Martinez, L. (2004). Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. *J Sci Food Agric*, 84: 1783-1790.
30. Beltrán, G., Jiménez, A., del Rio, C., Sánchez, S., Martínez, L., Uceda, M., & Aguilera, M. P. (2010). Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. *Journal of food composition and analysis*, 23(6): 633-639.

31. Bendini, A., Cerretani, L., Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Lercker, G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules*, 12(8):1679-1719.
32. Bendini, A., Cerretani, L., Salvador, M. D., Fregapane, G., & Lercker, G. (2009). Stability of the sensory quality of virgin olive oil during storage: an overview. *Italian Journal of Food Science*, 21(4).
33. Bendini, A., Valli, E., Barbieri, S., & Toschi, T. G. (2012). Sensory analysis of virgin olive oil. In *Olive Oil-Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. InTech.
34. Benkhayal, A. A., Bader, N. R., Elsherif, K. M., El-kailany, R., & Elmsbi, S. (2013). Evaluation of fatty acids in Libyan olive oils by gas liquid chromatography.
35. Besnard, G., Breton, C., Baradat, P., Khadari, B., & Bervillé, A. (2001). Cultivar identification in olive based on RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126(6): 668-675.
36. Besnard, G., Rubio de Casas, R., Christin, P. A., & Vargas, P. (2009). Phylogenetics of *Olea (Oleaceae)* based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: tertiary climatic shifts and lineage differentiation times. *Annals of botany*, 104(1): 143-160.
37. Bilancia, M. T., Caponio, F., Sikorska, E., Pasqualone, A., & Summo, C. (2007). Correlation of triacylglycerol oligopolymers and oxidised triacylglycerols to quality parameters in extra virgin olive oil during storage. *Food research international*, 40(7): 855-861.
38. Blatchly, R. A., Delen, Z., & O'Hara, P. B. (2014). Making sense of olive oil: Simple experiments to connect sensory observations with the underlying chemistry. *Journal of Chemical Education*, 91(10): 1623-1630.
39. Bongartz, A., & Oberg, D.G. (2011). Sensory evaluation of extra virgin olive oil (EVOO) extended to include the quality factor "harmony". *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 1, pp.422-435.
40. Bors, W., Heller, W., Michel, C., & Saran, M. (1990). Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in enzymology*, 186: 343-355.



41. Bosch, L., Alegría, A., Farré, R., & Clemente, G. (2007). Fluorescence and color as markers for the Maillard reaction in milk–cereal based infant foods during storage. *Food chemistry*, 105(3): 1135-1143.
42. Boskou, D. (1996). Olive oil quality. *Olive Oil Chemistry and Technology*, 101-120.
43. Boskou, D. (2009). *Olive oil chemical constituents and health*. New York, NY: Taylor & Francis Group, LLC.
44. Boskou, D. (Ed.). (2015). *Olive oil: chemistry and technology*. Elsevier.
45. Boskou, D., Ed.; Am. Oil Chem. Soc. Press: Champaign, IL, USA, 2006; pp. 73–92.
46. Boskou, D. (2007). Olive oil. *World Review of Nutrition and Dietetics* 97, 180–210.
47. Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006). Olive oil composition. *Olive oil: Chemistry and technology*, 4.
48. Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., & Andrikopoulos, N. K. (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94: 558–564.
49. Bouaziz M., Jemai H., Khabou W., & Sayadi S. (2010). Oil content, phenolic profiling and antioxidant potential of Tunisian olive drupes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 1750-1758.
50. Bouic, P. J. (2002). Sterols and sterolins: new drugs for the immune system?. *Drug discovery today*, 7(14): 775-778.
51. Brahmi, F., Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M., & Hammami, M. (2012). The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*, 38: 146-152.
52. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1): 25-30.
53. Brenes, M., García, A., Rios, J. J., García, P., & Garrido, A. (2002). Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *International journal of food science & technology*, 37(6): 615-625.

54. Brenes, M., Hidalgo, F. J., García, A., Rios, J. J., García, P., Zamora, R., & Garrido, A. (2000). Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(7): 715-720.
55. Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4): 221-247.
56. British standard (1977). Methods of analysis of fats and fatty oils. Other methods. Determination of carotene in vegetable oils. *British Standards Illustrations*, London, (BS 684-2.20).
57. Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127(4): 1821-1827.
58. Buiarelli, F., di Berardino, S., Coccioli, F., Jasionowska, R., & Russo, M. V. (2004). Determination of phenolic acids in olive oil by capillary electrophoresis. *Annali di chimica*, 94(9-10): 699-706.
59. Camargo, A., Rangel-Zuñiga, O. A., Haro, C., Meza-Miranda, E. R., Peña-Orihuela, P., Meneses, M. E., & Fernandez-Real, J. M. (2014). Olive oil phenolic compounds decrease the postprandial inflammatory response by reducing postprandial plasma lipopolysaccharide levels. *Food chemistry*, 162 : 161-171.
60. Cañabate-Díaz, B., Carretero, A. S., Fernández-Gutiérrez, A., Vega, A. B., Frenich, A. G., Vidal, J. M., & Martos, J. D. (2007). Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. *Food Chemistry*, 102(3): 593-598.
61. Caponio, F., & Gomes, T. (2001). Phenolic compounds in virgin olive oils: influence of the degree of ripeness on organoleptic characteristics and shelf life. *Eur J Food Res Technol*, 212 : 329–333.
62. Caponio, F., Bilancia, M. T., Pasqualone, A., Sikorska, E., & Gomes, T. (2005). Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. *European Food Research and Technology*, 221(1-2): 92-98.
63. Cárdeno, A., Magnusson, M. K., Strid, H., de La Lastra, C. A., Sánchez-Hidalgo, M., & Öhman, L. (2014). The unsaponifiable fraction of extra virgin olive oil promotes

- apoptosis and attenuates activation and homing properties of T cells from patients with inflammatory bowel disease. *Food chemistry*, 161: 353-360.
64. Carrapiso, A. I., García, A., Petró, M. J., & Martín, L. (2013). Effect of talc and water addition on olive oil quality and antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(5): 583-588.
65. Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., & Fernandez-Gutierrez, A. (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23): 8918-8925.
66. Carpenter, A. P. (1979). Determination of tocopherols in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 56 (7), pp, 668-671.
67. Ceballos, C., Moyano, M. J., Vicario, I. M., Alba, J., & Heredia, F. J. (2003). Chromatic evolution of virgin olive oils submitted to an accelerated oxidation test. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(3): 257-262.
68. Cerretani, L., Motilva, M. J., Romero, M. P., Bendini, A., & Lercker, G. (2008). Pigment profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. *European Food Research and Technology*, 226(6): 1251-1258.
69. Cerretani, L.; Salvador, M.D.; Bendini, A. & Fregapane, G. (2008). Relationship between sensory evaluation performed by Italian and Spanish official panels and volatile and phenolic profiles of virgin olive oils. *Chemosensory Perception*, 1, pp. 258- 267.
70. Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P., & Rahmani, M. (1991). Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 68(5): 307-312.
71. Choe, E. (2008). 17: Effects and mechanisms of minor compounds in oil on lipid oxidation. *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology*, 449.
72. Choe, E., & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of food science*, 72(5).
73. Chtourou, M., Gargouri, B., Jaber, H., Abdelhedi, R., & Bouaziz, M. (2013). Comparative study of olive oil quality from Chemlali Sfax versus Arbequina cultivated in Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(6): 631-640.

74. Cicerale, S., Conlan, X. A., Barnett, N. W., & Keast, R. S. (2013). Storage of extra virgin olive oil and its effect on the biological activity and concentration of oleocanthal. *Food research international*, 50(2): 597-602.
75. Cimato, A., Baldini, A., & Moretti, R. (2001). *L'olio di oliva. Cultivar, ambiente e tecniche agronomiche*. ARSIA, Regione Toscana, Firenze.
76. Civantos, L. (1999). *Obtención del aceite de oliva virgen* (2nd ed.). Madrid: Editorial Agrícola Española, S.A.
77. Colorimetry, C. I. E. (1976). official recommendations of the International Commission on Illumination. Paris: Commission Internationale de l'Éclairage [International Commission on Illumination].
78. Cosio, M. S., Benedetti, S., Buratti, S., Scampicchio, M., & Mannino, S. (2010). Application of the electronic nose in olive oil analyses.
79. Covas, M. I., Ruiz-Gutiérrez, V., De La Torre, R., Kafatos, A., Lamuela-Raventós, R. M., Osada, J & Visioli, F. (2006). Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. *Nutrition Reviews*, 64(4): S20-S30.
80. Criado, M. N., Morelló, J. R., Motilva, M. J., & Romero, M. P. (2004). Effect of growing area on pigment and phenolic fractions of virgin olive oils of the Arbequina variety in Spain. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(7): 633-640.
81. Criado, M. N., Romero, M. P., Casanovas, M., & Motilva, M. J. (2008). Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Food chemistry*, 110(4): 873-880.
82. Cunha, S. C., Amaral, J. S., Fernandes, J. O., Beatriz, M., & Olivera, P. P. (2006). Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detections. *J Agric Food Chem*, 54: 3351–3356.
83. Cuppett, S., Schnepf, M., & Hall III, C. (1997). Natural Antioxidants: An Overview. *Natural Antioxidants—Chemistry, Health Effects, and Applications*, 13-24.
84. Dabbou, S., Brahmi, F., Dabbou, S., Issaoui, M., Sifi, S., & Hammami, M. (2011). Antioxidant capacity of Tunisian virgin olive oils from different olive cultivars. *Afr J Food Sci Technol*, 2(4) : 92-97.

85. Dabbou, S., Gharbi, I., Brahmi, F., Nakbi, A., & Hammami, M. (2011). Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. *African Journal of Biotechnology*, 10(74): 16929-16936.
86. Dabbou, S., Rjiba, I., Nakbi, A., Gazzah, N., Issaoui, M., & Hammami, M. (2010). Compositional quality of virgin olive oils from cultivars introduced in Tunisian arid zones in comparison to Chemlali cultivars. *Scientia horticultrae*, 124(1): 122-127.
87. De Medina, V. S., Priego-Capote, F., de Castro, L., & Dolores, M. (2013). Comparison of saponification methods for characterization of the nonsaponifiable fraction of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(11): 1325-1333.
88. Dhere, C. (1933) *Hanbuch der Biologishen Arbeitsmethoden*, E. Abderhalden (Ed.), Urban und Schwargenberg, Berlin, Germany, pp. 3097–3306.
89. Di Vita, G., D'Amico, M., La Via, G., & Caniglia, E. (2013). Quality Perception of PDO extra-virgin Olive Oil: Which attributes most influence Italian consumers?. *Agricultural Economics Review*, 14(2), 46.
90. Dimić, E. (2005). *Hladno ceđena ulja*. Monografija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
91. Dimić, E., Turkulov, J. *Quality control in edible oils technology* (in Serbian). University of Novi Sad, Faculty of Technology, Novi Sad (Serbia), (2000), pp. 27-29.
92. EC Regulation No. 299/2013 (2013). Amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union*, L23,1–15.
93. EC Regulation No. 61/2011 (2011). Amending Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. *Official Journal of the European Union*, L23.1–14.
94. EEC, (2003). *Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods*. Regulation EEC/1989/2003. *Offic. J. Eur. Commun.* 295: 57–66.
95. El Riachy, M., Priego-Capote, F., León, L., Rallo, L., de Castro, L., & Dolores, M. (2011). Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 1: Hydrophilic phenols: A key factor for virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(6): 678-691.

96. Elbeydi, K. R., & Hamuda, A. M. (2014). Estimating price and income elasticity of olive oil demand in Libya during 1980-2010. *OLIVEBIOTEQ*, 445.
97. Endo, Y., Usuki, R., & Kaneda, T. (1984). The photooxidative alteration of chlorophylls in methyl linoleate and prooxidant activity of their decomposition products. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48(4): 985-989.
98. Escuderos, M. E., Sayago, A., Morales, M. T., & Aparicio, R. (2009). Evaluation of  $\alpha$ -tocopherol in virgin olive oil by a luminescent method. *Grasas y aceites*, 60(4): 336-342.
99. FAOSTAT Crops Processed Data for Olive Oil; FAO: Rome, Italy, (2009). Available online: [http:// faostat.fao.org/site/636/DesktopDefault.aspxPageID=636#ancor](http://faostat.fao.org/site/636/DesktopDefault.aspxPageID=636#ancor) (accessed on 5 October 2011).
100. Favati, F., Condelli, N., Galgano, F., & Caruso, M. C. (2013). Extra virgin olive oil bitterness evaluation by sensory and chemical analyses. *Food chemistry*, 139(1): 949-954.
101. Fernández, A. G., Adams, M. R., & Fernández-Díez, M. J. (1997). *Table olives: production and processing*. Springer Science & Business Media.
102. Fernandez-Orozco, R., Roca, M., Gandul-Rojas, B. & Gallardo-Guerrero, L. (2011). DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), pp.858-864.
103. Fito, M., Cladellas, M., De La Torre, R., Marti, J., Alcantara, M., Pujadas-Bastardes, M., & Covas, M. I. (2005). Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis*, 181(1): 149-158.
104. Fitó, M., de la Torre, R., & Covas, M. I. (2007). Olive oil and oxidative stress. *Molecular nutrition & food research*, 51(10): 1215-1224.
105. Franco, M. N., Galeano-Díaz, T., López, Ó., Fernández-Bolaños, J. G., Sánchez, J., De Miguel, C., & Martín-Vertedor, D. (2014). Phenolic compounds and antioxidant capacity of virgin olive oil. *Food chemistry*, 163: 289-298.
106. Frankel, E. N. (1996). Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food chemistry*, 57(1): 51-55.

107. Gallardo-Guerrero, L., Roca, M., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2002). Distribution of chlorophylls and carotenoids in ripening olives and between oil and alperujo when processed using a two-phase extraction system. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(1): 105-109.
108. Gandul-Rojas, B., Roca, M., & Gallardo-Guerrero, L. (2016). Chlorophylls and carotenoids in food products from olive tree. In *Products from Olive Tree*. InTech.
109. García-González, D. L., Tena, N., Aparicio-Ruiz, R., & Morales, M. T. (2008). Relationship between sensory attributes and volatile compounds qualifying dry-cured hams. *Meat science*, 80(2): 315-325.
110. Gargouri, B., Ammar, S., Zribi, A., Mansour, A. B., & Bouaziz, M. (2013). Effect of growing region on quality characteristics and phenolic compounds of chemlali extra-virgin olive oils. *Acta physiologiae plantarum*, 35(9): 2801-2812.
111. Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., & Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences*, 13(3): 3291-3340.
112. Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., Cossignani, L., & Dugo, G. (2011). Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties. *Food chemistry*, 124(3): 1119-1123.
113. Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., La Pera, L., & Dugo, G. (2007). Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. *Food chemistry*, 101(2): 833-837.
114. Giuliani, A., Cerretani, L., & Cichelli, A. (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: chemistry and occurrences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(7): 678-690.
115. Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Desamparados Salvador, M., & Fregapane, G. (2004). Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25–75° C). *European journal of lipid science and technology*, 106(6): 369-375.
116. Gómez-Caravaca, A. M.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutierrez, A.; Del Carlo, M.; Compagnone, D. & Cichelli, A. (2008). Effects of fly attack (*Bactrocera oleae*) on the phenolic profile and selected chemical parameters of olive oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, pp. 4577-4583.

117. Goulas, V., Charisiadis, P., P. Gerathanassis, I., & A Manganaris, G. (2012). Classification, biotransformation and antioxidant activity of olive fruit biophenols: a review. *Current Bioactive Compounds*, 8(3): 232-239.
118. Gouvinhas, I., Machado, J., Gomes, S., Lopes, J., Martins-Lopes, P., & Barros, A. I. (2014). Phenolic composition and antioxidant activity of monovarietal and commercial Portuguese olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1, 91(7):1197-1203.
119. Grigg, D. (2001). Olive oil, the Mediterranean and the world. *GeoJournal*, 53(2): 163-172.
120. Gulfraz, M., Kasuar, R., Arshad, G., Mehmood, S., Minhas, N., Asad, M. J., & Siddique, F. (2009). Isolation and characterization of edible oil from wild olive. *African Journal of Biotechnology*, 8(16): 37-34.
121. Gutierrez Rosales, F., Gómez Herrera, C., & Gutiérrez González-Quijano, R. (1988). Estudio de la cinética de evolución de los índices de calidad del aceite de oliva virgen durante su conservación en envases comerciales. *Grasas y aceites*, 39(4-5): 245-253.
122. Gutiérrez, F., Garrido, J., Gallardo, M. L., Gandul, B., & Mínguez, M. I. (1992). Action of Chlorophylls on the Stability of Virgin Olive Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69 :866–871.
123. Haiyan, Z., Jr. D. R., Bedgood, A. G., Bishop, P. D., Prenzler, K., & Robards, K. (2007). Endogenous biophenol, fatty acid and volatile profiles of selected oils. *Food Chem.*, 100: 1544-1551.
124. Hashempour, A., Ghazvini, R. F., Bakhshi, D., & Sanam, S. A. (2010). Fatty acids composition and pigments changing of virgin olive oil (*Olea europea L.*) in five cultivars grown in Iran. *Australian Journal of Crop Science*, 4(4), 258.
125. Hatzopoulos, P., Banilas, G., Giannoulia, K., Gazis, F., Nikoloudakis, N., Milioni, D., & Haralampidis, K. (2002). Breeding, molecular markers and molecular biology of the olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(10): 574-586.
126. Hrnčirik, K., & Fritsche, S. (2005). Relation between the endogenous antioxidant system and the quality of extra virgin olive oil under accelerated storage conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6): 2103-2110.



- 127.Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6) : 1841-1856.
- 128.International Olive Oil Council (2010). Sensory analysis of olive oil. Method for the organoleptic assessment of virgin olive oil. IOOC/T.20/Doc. No 15/Rev. 3.
- 129.IOC (International Olive Council) (2011b) World market in figures. *Olivae* 115:26–29.
- 130.IOOC (2003). Trade standard applying to olive oil and olive-pomace oil. In COI/T.15/NC no. 3/Rev. 1.
- 131.ISO (1990). Animal and vegetable fats and oils – Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, No 5508.
- 132.ISO (2000). Metoda pripreme metil-estara masnih kiselina, ISO 5509: 2000 International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, No 5509.
133. International Olive Oil Council (IOOC). (1984). International trade standards applying to olive oils and olive- residue oils.COI/T. 15/NC no 1, Madrid, Spain.
- 134.Issaoui, M., Flamini, G., Brahmi, F., Dabbou, S., Hassine, K. B., Taamali, A., & Hammami, M. (2010). Effect of the growing area conditions on differentiation between Chemlali and Chétoui olive oils. *Food Chemistry*, 119(1): 220-225.
- 135.Issaoui, M., HASSINE, K. B., Flamini, G., Brahmi, F., Chehab, H., Aouni, Y., & Hammami, M. (2009). Discrimination of some Tunisian olive oil varieties according to their oxidative stability, volatiles compounds and chemometric analysis. *Journal of Food Lipids*, 16(2) : 164-186.
- 136.Jadhav, S. J., Nimbalkar, S. S., Kulkarni, A. D., & Madhavi, D. L. (1995). Lipid oxidation in biological and food systems. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER*, 5-64.
- 137.Jiang, J.H., Jin, C.M., Kim, Y.C. (2008). Anti-toxoplasmosis effects of oleuropein isolated from *Fraxinus rhychophylla*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 31: 2273-2276.
- 138.Jiménez, B., Sánchez-Ortiz, A., Lorenzo, M. L., & Rivas, A. (2013). Influence of fruit ripening on agronomic parameters, quality indices, sensory attributes and phenolic compounds of Picudo olive oils. *Food Research International*, 54(2) : 1860-1867.

139. Kanavouras, A. & Coutelieris, F.A. (2006). Shelf-life predictions for packaged olive oil based on simulations. *Food chemistry*, 96(1), pp.48-55.
140. Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., & Crowther, J. C. (2008). Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(1) :1-26.
141. Karabagias, I., Michos, C., Badeka, A., Kontakos, S., Stratis, I., & Kontominas, M. G. (2013). Classification of Western Greek virgin olive oils according to geographical origin based on chromatographic, spectroscopic, conventional and chemometric analyses. *Food research international*, 54(2): 1950-1958.
142. Khaleghi, E., Arzani, K., Moallemi, N., & Barzegar, M. (2015). The efficacy of kaolin particle film on oil quality indices of olive trees (*Olea europaea* L.) cv 'Zard' grown under warm and semi-arid region of Iran. *Food chemistry*, 166 : 35-41.
143. Kiritsakis, A. K. (1998). Flavor components of olive oil—a review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6) : 673-681.
144. Kiritsakis, A., & Min, D. B. (1989). Flavour chemistry of olive oil. *Flavour Chemistry of Lipid Foods*. Illinois, USA: The American Oil Chemists' Society, 196-221.
145. Knothe, G. (2002). Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value?. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(9): 847-854.
146. Knothe, G. (2005). The history of vegetable oil-based diesel fuels. *The Biodiesel Handbook*, 4-16.
147. Koidis, A., & Boskou, D. (2006). The contents of proteins and phospholipids in cloudy (veiled) virgin olive oils. *European journal of lipid science and technology*, 108(4) : 323-328.
148. Köseoğlu, O., Sevim, D. & Kadiroğlu, P. (2016). Quality characteristics and antioxidant properties of Turkish monovarietal olive oils regarding stages of olive ripening. *Food chemistry*, 212, pp.628-634.
149. Kotsiou, K., & Tasioula-Margari, M. (2016). Monitoring the phenolic compounds of Greek extra-virgin olive oils during storage. *Food chemistry*, 200 : 255-262.
150. Kovač, D. (2004). Analiza kvaliteta maslinovog ulja i hladno ceđenog suncokretovog ulja oleinskog tipa. *Diplomski rad, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad*.

151. Krasner, D. (2002). *The Flavors of Olive Oil: A Tasting Guide and Cookbook*. Simon and Schuster.
152. Krichene, D., Allalout, A., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D., Zarrouk, M. & Fregapane, G. (2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*, 121(1), pp.171-177.
153. Krishnamurthy, R., & Kellens, M. (1996). Fractionation and winterization. In: *Baileys industrial oil and fat products*. Ed. Y.H. Hui. Fifth Edition, Vol. 4. John Wiley and Sons, new York. p, 324
154. Kroon, P., & Williamson, G. (2005). Polyphenols: dietary components with established benefits to health?. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(8) : 1239-1240.
155. Kyriakidis, N. B., & Katsiloulis, T. (2000). Calculation of iodine value from measurements of fatty acid methyl esters of some oils: comparison with the relevant American oil chemists society method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(12) : 1235-1238.
156. Kyriakidis, N. B., & Skarkalis, P. (2000). Fluorescence spectra measurement of olive oil and other vegetable oils. *Journal of AOAC International*, 83(6) : 1435-1439.
157. Lazić, V., E. Dimić, J. Gvozdrenović, M. Curaković, Z. Suturović (2003). Barijerna svojstva staklenih boca za pakovanje ulja. 44. Savetovanje industrije ulja: Proizvodnja i prerada uljarica, Budva, 25-30. 05. pp. 157-163.
158. Lazzarini, C., Cifelli, M., & Domenici, V. (2017). Pigments in extra virgin olive oils produced in different mediterranean countries in 2014: Near UV-vis spectroscopy versus HPLC-DAD. *LWT-Food Science and Technology*.
159. Lin, C. Y., Lin, H. A., & Hung, L. B. (2006). Fuel structure and properties of biodiesel produced by the peroxidation process. *Fuel*, 85(12) : 1743-1749.
160. Luna, G., & Aparicio, R. (2002). Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 104 : 614-627.
161. Lužaić, T. (2015). Ispitivanje promene boje devičanskih maslinovih ulja pri uslovima Schaal-Oven testa. Master rad, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

162. Maestri, D. M., Labuckas, D. O., Meriles, J. M., Lamarque, A. L., Zygadlo, J. A., & Guzmán, C. A. (1998). Seed composition of soybean cultivars evaluated in different environmental regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4) : 494-498.
163. Mafra, I., Barros, A. S., Nunes, C., Vitorino, R., Saraiva, J., Smith, A. C., & Coimbra, M. A. (2006). Ripening-related changes in the cell walls of olive (*Olea europaea* L.) pulp of two consecutive harvests. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (6) : 988-998.
164. Mailer, R. (2006). Chemistry and quality of olive oil. *Primefact*, 227, pp.1-4.
165. Manai, H., Mahjoub-Haddada, F., Oueslati, I., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2008). Characterization of monovarietal virgin olive oils from six crossing varieties. *Scientia Horticulturae*, 115(3) : 252-260.
166. Manna, C., Galletti, P., Cucciola, V., Moltedo, O., Leone, A., & Zappia, V. (1997). The protective effect of the olive oil polyphenol counteracts reactive oxygen metabolite-induced cytotoxicity in Caco-2 cells. *Journal of Nutrition*, 127 : 286-292.
167. Mansour, A. B., Gargouri, B., Flamini, G., & Bouaziz, M. (2015). Effect of agricultural sites on differentiation between Chemlali and Neb Jmel olive oils. *Journal of oleo science*, 64(4) :381-392.
168. Mariotti, E., & Mascini, M. (2001). Determination of extra virgin olive oil acidity by FIA-titration. *Food chemistry*, 73(2) : 235-238.
169. Martínez, M. L., Maestri, D. M. (2008). Oil chemical variation in walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Argentina. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 110, 1183-1189.
170. Mateos, R., Cert, A., Pérez-Camino, M. C., & García, J. M. (2004). Evaluation of virgin olive oil bitterness by quantification of secoiridoid derivatives. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(1) : 71-75.
171. Matos, L. C., Cunha, S. C., Amaral, J. S., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Seabra, R. M., & Oliveira, B. P. (2007). Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food chemistry*, 102(1) :406-414.
172. Mazzotti, F., Benabdelkamel, H., Di Donna, L., Maiuolo, L., Napoli, A., & Sindona, G. Méndez, A. I., & Falqué, E. (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food control*, 18(5) : 521-529.

173. Mercadante, A. Z., Egeland, E. S., Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (2004). Carotenoids handbook. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H., Eds.
174. Minguéz-Mosquera, M. I., Gandul-Rojas, B., Garrido-Fernández, J., & Gallardo-Guerrero, L. (1990). Pigments present in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(3): 192-196.
175. Moghaddam, G., Vander Heyden, Y., Rabiei, Z., Sadeghi, N., Oveisi, M. R., Jannat, B., & Hajimahmoodi, M. (2012). Characterization of different olive pulp and kernel oils. *Journal of food composition and analysis*, 28(1), 54-60.
176. Monasterio, R. P., Angeles Fernández, M., & Silva, M. F. (2013). High-throughput determination of phenolic compounds in virgin olive oil using dispersive liquid-liquid microextraction-capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*. 34: 1836-1843.
177. Morales, M. T., & Przybylski, R. (2000). Olive oil oxidation. In *Handbook of olive oil* (pp. 459-490). Springer US.
178. Morales, M. T., Rios, J. J., & Aparicio, R. (1997). Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7) : 2666-2673.
179. Moslavac, T., Pozderović, A., Pichler, A., & Volmut, K. (2010). Utjecaj propil galata i ekstrakta ružmarina na oksidacijsku stabilnost smjese biljnih ulja. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 2(1): 18-25.
180. Moyano, M. J., Meléndez-Martínez, A. J., Alba, J., & Heredia, F. J. (2008). A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. *Food Research International*, 41(5) : 513-521.
181. Moyano, M. J., Melgosa, M., Alba, J., Hita, E., & Heredia, F. J. (1999). Reliability of the bromthymol blue method for color in virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(6) : 687-692.
182. Murkovic, M., Lechner, S., Pietzka, A., Bratacos, M., & Katzogiannos, E. (2004). Analysis of minor components in olive oil. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 61(1) : 155-160.
183. Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1) : 95-111.

184. Nakbi, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Koubaa, N., Echbili, A., Hammami, M., & Attia, N. (2010). Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. *Journal of food composition and analysis*, 23(7) : 711-715.
185. Niaounakis, M., & Halvadakis, C. P. (2006). *Olive processing waste management: literature review and patent survey* (Vol. 5). Elsevier.
186. Nissiotis, M. & Tasioula-Margari, M., (2002). Changes in antioxidant concentration of virgin olive oil during thermal oxidation. *Food chemistry*, 77(3), pp.371-376.
187. Noorali, M., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2014). Sterol and fatty acid compositions of olive oil as an indicator of cultivar and growing area. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(9) : 1571-1581.
188. O'Brien, R. D., & Timms, R. E. (2004). *Fats and Oils-Formulating and Processing for Applications*. *EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 106(7) : 451-451.
189. Obied, H. K., Bedgood, D. R., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *analytica chimica acta*, 603(2) : 176-189.
190. Olias, J. M., Perez, A. G., Rios, J. J., & Sanz, L. C. (1993). Aroma of virgin olive oil: biogenesis of the green odor notes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(12) : 2368-2373.
191. Olive Oil Consumption). Available online: [www.internationaloliveoil.org](http://www.internationaloliveoil.org) (accessed on Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, Vol. 100, pp. 273-286.
192. Opoku-Boahen, Y., Azumah, S., Apanyin, S., Novick, B. D., & Wubah, D. (2012). The quality and infrared determination of trans-fatty acid contents in some edible vegetable oils. *African Journal of Food Science and Technology*, 3(6) : 142-148.
193. Orozco, M. I., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. D. (2011). Influence of deep frying on the unsaponifiable fraction of vegetable edible oils enriched with natural antioxidants. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 59 : 7194- 7202.
194. Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac, K., Svirčev, E., Beara, I., Lesjak, M., & Mimica-Dukić, N. (2014). Quantitative determination of plant phenolics in

- Urticadioica extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry*.15,143: 48-53.
- 195.Oštrić-Matijašević, B., & Turkulov, J. (1980). *Tehnologija ulja i masti, I deo*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- 196.Oueslati, I., Anniva, C., Daoud, D., Tsimidou, M. Z., & Zarrouk, M. (2009). Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*, 112(3) : 733-741.
- 197.Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38(8) : 647-659.
198. Paquot, C., Mercier, J., Lefort, D., Mathieu, A., & Perron, R. (1967). *Les Methodes analytiques des lipids simples* (in Serbian). Poslovnoudruženje proizvođača biljnih ulja. Beograd. pp, 175-179.
- 199.Pardo, J. E., Cuesta, M. A., Alvarruiz, A., Granell, J. D., & Álvarez-Ortí, M. (2011). Evaluation of potential and real qualities of virgin olive oil from the designation of origin (DO) "Aceite Montes de Alcaraz" (Albacete, Spain). *Food chemistry*, 124(4) : 1684-1690.
- 200.Peck, M. D., Moffat, F. L., Spalding, P. B., Han, T., & Jy, W. (2000). High-fat diets suppress CD3 and CD25 expression on the surface of murine lymphocytes. *Nutrition*, 16(4) : 278-283.
201. Petrakis, C. (2006). Olive oil extraction. In *Olive Oil (Second Edition)* (pp. 191-223).
- 202.Peres, F., Martins, L. L., Mourato, M., Vitorino, C., Antunes, P., & Ferreira-Dias, S. (2016). Phenolic compounds of 'Galega Vulgar' and 'Cobrançosa' olive oils along early ripening stages. *Food chemistry*, 211: 51-58.
- 203.Pérez-Jiménez, F., López-Miranda, J., & Mata, P. (2002). Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis*, 163(2) : 385-398.
- 204.Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food research international*, 39(7) : 791-800.

205. Pinheiro, P. B., & da Silva, J. C. E. (2005). Chemometric classification of olives from three Portuguese cultivars of *Olea europaea* L. *Analytica chimica acta*, 544(1) : 229-235.
206. Piscopo, A., & Poiana, M. (2012). Packaging and storage of olive oil. In *Olive Germplasm-The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy*. InTech.
207. Pizarro, C., Esteban-Díez, I., Rodríguez-Tecedor, S., & González-Sáiz, J. M. (2013). Determination of the peroxide value in extra virgin olive oils through the application of the stepwise orthogonalisation of predictors to mid-infrared spectra. *Food control*, 34(1) : 158-167.
208. Pokorny, J., Kalinova, L., & Dysseler, P. (1995). Determination of chlorophyll pigments in crude vegetable oils: Results of a collaborative study and the standardized method (Technical Report). *Pure and applied chemistry*, 67(10) : 1781-1787.
209. Pristouri, G., Badeka, A., & Kontominas, M. G. (2010). Effect of packaging material headspace, oxygen and light transmission, temperature and storage time on quality characteristics of extra virgin olive oil. *Food control*, 21(4) : 412-418.
210. Psaltopoulou, T., Naska, A., Orfanos, P., Trichopoulos, D., Mountokalakis, T., & Trichopoulou, A. (2004). Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *The American journal of clinical nutrition*, 80(4) : 1012-1018.
211. Psomiadou, E., & Tsimidou, M. (2001). Pigments in Greek virgin olive oils: Occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 640-647.
211. Psomiadou, E., Karakostas, K. X., Blekas, G., Tsimidou, M. Z., & Boskou, D. (2003). Proposed parameters for monitoring quality of virgin olive oil (Koroneiki cv). *European Journal of lipid Science and technology*, 105(8) : 403-409.
213. Quiles, J. L., Huertas, J. R., Ochoa, J. L., Batlino, M., Mataix, J., & Mans, M. (2003). Dietary fat (virgin olive oil or sunflower) and physical training interactions on blood lipid in the rat. *Nutrition*, 19 :363-368.
214. Ranalli, A., Ranalli, F., Contento, S., Casanovas, M., Antonucci, M., & Di Simone, G. (2012). Concentrations of Bioactives and Functional Factors in Destoned Virgin Olive Oil. The Case Study of the Oil from Olivastra di Seggiano Cultivar. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, 2(1).



215. Ranalli, A., Gomes, T., Delcuratolo, D., Contento, S., & Lucera, L. (2003). Improving virgin olive oil quality by means of innovative extracting biotechnologies. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(9) : 2597-2602.
216. Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Valli, E., Bendini, A., Toschi, T. G., & Simal-Gandara, J. (2016). Characterization of virgin olive oils produced with autochthonous Galician varieties. *Food chemistry*, 212 : 162-171.
217. Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2014). Quality of extra virgin olive oils produced in an emerging olive growing area in north-western Spain. *Food chemistry*, 164 : 418-426.
218. Regulation, H. (1991). Commission Regulation (EEC) No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis Official Journal L 248, 5 September 1991. Off. J. L, 248, 1-83.
219. Roca, M. (2001). Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(2) : 133-138.
220. Rodríguez-Morató, J., Xicota, L., Fito, M., Farre, M., Dierssen, M., & de la Torre, R. (2015). Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules*, 20(3) : 4655-4680.
221. Romero, N., Saavedra, J., Tapia, F., Sepúlveda, B., & Aparicio, R. (2016). Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2) : 583-592.
222. Rotondi, A., Alfei, B., Magli, M., & Pannelli, G. (2010). Influence of genetic matrix and crop year on chemical and sensory profiles of Italian monovarietal extra virgin olive oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15) : 2641-2648.
223. Ryan, D., & Robards, K. (1998). Critical Review. Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123(5) : 31R-44R.
224. Saad, B., Wai, W. T., Lim, B. P., & Saleh, M. I. (2006). Flow injection determination of peroxide value in edible oils using triiodide detector. *Analytica Chimica Acta*, 565(2) : 261-270.

- 225.Sacks, F. M. (2002). Consensus statement on dietary fat, the Mediterranean diet, and lifelong good health. *Am J Med*, 113, 5S-8S.
- 226.Salvador, M. D., Aranda, F., & Fregapane, G. (1999). Contribution of chemical components of Cornicabra virgin olive oils to oxidative stability. A study of three successive crop seasons. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(4) :427-432.
- 227.Salvador, M., Aranda, F., & Fregapane, G. (2001). Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality, A study of four successive crop seasons. *Food Chem*, 73 : 45-53.
- 228.Sayago Gómez, A., Escuderos Fernández-Calvillo, M.E., Morales Millán, M.T.A. & Aparicio López, R., (2009). Evaluation of alpha-tocopherol in virgin olive oil by a luminiscent method. *Grasas y aceites*, 60, 4, p. 336-342.
- 229.Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio, R., & Morales, M. T. (2007). Vitamin E and vegetable oils. *Grasas y aceites*, 58(1) : 74-86.
- 230.Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. (2008). Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(2) : 152-161.
- 231.Segura-Carretero, A., Menéndez-Menéndez, J., & Fernández-Gutiérrez, A.(2010). Polyphenols in olive oil: The importance of phenolic compounds in the chemical composition of olive oil. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*,167-175.
- 232.Servili, M. (2014). The phenolic compounds: a commercial argument in the economic war to come on the quality of olive oil. *Ocl*, 21(5), D 509.
- 233.Servili, M., & Montedoro, G. (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10),602-613.
- 234.Servili, M., Esposito, S., Fabiani, R., Urbani, S., Taticchi, A., Mariucci, F.,& Montedoro, G. F. (2009). Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, 17(2) : 76-84.
- 235.Servili, M., Sordini, B., Esposito, S., Urbani, S., Veneziani, G., Di Maio, I., & Taticchi, A. (2013). Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. *Antioxidants*, 3(1) : 1-23.

236. Sikorska, E., Caponio, F., Bilancia, M. T., Summo, C., Pasqualone, A., Khmelinskii, I. V., & Sikorski, M. (2007). Changes in colour of extra-virgin olive oil during storage. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(4) : 495-498.
237. Sikorska, E., Khmelinskii, I., & Sikorski, M. (2012). Analysis of olive oils by fluorescence spectroscopy: methods and applications. In *Olive oil-constituents, quality, health properties and bioconversions*. InTech.
238. Silva, L., Garcia, B., & Paiva-Martins, F. (2010). Oxidative stability of olive oil and its polyphenolic compounds after boiling vegetable process. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9) : 1336-1344.
239. Soler, A., Romero, M. P., Macià, A., Saha, S., Furniss, C. S., Kroon, P. A., & Motilva, M. J. (2010). Digestion stability and evaluation of the metabolism and transport of olive oil phenols in the human small-intestinal epithelial Caco-2/TC7 cell line. *Food chemistry*, 119(2) : 703-714.
240. Squeo, G., Silletti, R., Summo, C., Paradiso, V. M., Pasqualone, A., & Caponio, F. (2016). Influence of calcium carbonate on extraction yield and quality of extra virgin oil from olive (*Olea europaea* L. cv. Coratina). *Food chemistry*, 209, 65-71.
241. Stepanyan, V., Arnous, A., Petrakis, C., Kefalas, P., & Calokerinos, A. (2005). Chemiluminescent evaluation of peroxide value in olive oil. *Talanta*, 65(4) : 1056-1058.
242. Sun-Waterhouse, D., Zhou, J., Miskelly, G. M., Wibisono, R., & Wadhwa, S. S. (2011). Stability of encapsulated olive oil in the presence of caffeic acid. *Food Chemistry*, 126(3) : 1049-1056.
243. Tawfik, M. S., & Huyghebaert, A. (1999). Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. *Food Chemistry*, 64(4) : 451-459.
244. Tekaya, M., Mechri, B., Dabbaghi, O., Mahjoub, Z., Laamari, S., Chihaoui, B., & Chehab, H. (2016). Changes in key photosynthetic parameters of olive trees following soil tillage and wastewater irrigation, modified olive oil quality. *Agricultural Water Management*, 178 : 180-188.
245. Torres, M. M., & Maestri, D. M. (2006). The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chemistry*, 96(4) : 507-511.

246. Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., & La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition research reviews*, 18(1) : 98-112.
247. Tsimidou, M. Z. (2010). Squalene and tocopherols in olive oil: importance and methods of analysis. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 561-567.
248. Tsimidou, M. Z. (2013). Analytical methodologies: Phenolic compounds related to olive oil taste issues. In *Handbook of Olive oil* (pp. 311-333). Springer, Boston, MA.
249. Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(11) : 636-644.
250. Vacca, V., Caro, A. D., Poiana, M., & Piga, A. (2006). Effect of storage period and exposure conditions on the quality of Bosana extra-virgin olive oil. *Journal of food quality*, 29(2) : 139-150.
251. Velasco, J., & Dobarganes, C. (2002). Oxidative stability of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10) : 661-676.
252. Velasco, J., Marmesat, S., & Dobarganes, M. C. (2008). Chemistry of frying. *Advances in deep-fat frying of foods*, 33.
253. Vichi, S. (2010). Extraction techniques for the analysis of virgin olive oil aroma. *Olives and Olive Oil Health and Disease Prevention*.
254. Viola, P., & Viola, M. (2009). Virgin olive oil as a fundamental nutritional component and skin protector. *Clinics in dermatology*, 27(2) : 159-165.
255. Virgili, F., C. Scaccini, L. & Packer, G. (2001). Cardiovascular disease and nutritional phenolics. In: *Antioxidants in food, Practical applications*. Ed. by J. Pokorny, N. Yanishlieva and M. Gordon, pp. 87-99.
256. 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.
257. Visioli, F., Bellomo, G., & Galli, C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and biophysical research communications*, 247(1) : 60-64.
258. Visioli, F., Poli, A., & Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal research reviews*, 22(1) : 65-75.
259. Visioli, F., Bogani, P., & Galli, C. (2006). Healthful properties of olive oil minor components. In *Olive Oil (Second Edition)* (pp. 173-190).

260. Vitagliano, M. (1961). I costituenti minori degli oli vegetali. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 35 : 46-55.
261. Vossen, P. (2007). Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. HortScience, 42(5) : 1093-1100.
262. Vossen, P. (2013). Growing olives for oil. In Handbook of Olive Oil (pp. 19-56). Springer US.
263. Vossen, P., Diggs, L., & Mendes, L. (2004). Santa Rosa Junior College's super high density orchard. Olint Oct, 6-8.
264. Vujasinović, V. (2011). Uticaj termičke obrade na nutritivnu vrednost i oksidativnu stabilnost ulja semena uljane tikve golice Cucurbita pepo L (Doctoral dissertation, University of Novi Sad, Faculty of Technology).
265. Yadollahi, P. M. S., Khormaei, F., & Shokrpour, N. (2011). The relationship between pregnant women's lifestyle and common gastrointestinal disorders. Eur J Sci Res, 60 : 359-364.
266. Yaqoob, P., Knapper, J. A., Webb, D. H., Williams, C. M., Newsholme, E. A., & Calder, P. C. (1998). The effect of olive oil consumption on immune functions in middle-aged men. American Journal of Clinical Nutrition, 67 : 129-135.
267. Yvonne, O., Driss, F., Dang, P. M. C., Elbim, C., Gougerot-Pocidallo, M. A., Pasquier, C., & El-Benna, J. (2004). Antioxidant effect of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil: scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils. Biochemical pharmacology, 68(10): 2003-2008.
268. Žanetić, M., M. Gugić (2006). Zdravstvene vrijednosti maslinovog ulja. Pomologia Croatica, 12(2): 159-173.
269. Zaroni, B., Bertuccioli, M., Rovellini, P., Marotta, F., & Mattei, A. (2005). A preliminary approach to predictive modelling of extra virgin olive oil stability. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85(9) : 1492-1498.
270. Zeb, A., & Murkovic, M. (2011). Olive (*Olea europaea* L.) seeds, from chemistry to health benefits. Nuts and seed in health and diseases prevention. USA: Elsevier Inc.
271. Zeb, A., Khan, S., Khan, I., & Imran, M. (2008). Effect of temperature, UV, sun and white lights on the stability of olive oil. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 30 : 790:794.