Utjecaj sorte, stupnja zrelosti plodova masline i temperature čuvanja djevičanskog maslinovog ulja na sastav i koncentracije sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola

Lukić, Marina

Supplement / Prilog

Publication year / Godina izdavanja: **2022**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:652973

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Prehrambeno-tehnološki fakultet
Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

JAVNA OBRANA DOKTORSKE DISERTACIJE

Utjecaj sorte, stupnja zrelosti plodova masline i temperature čuvanja djevičanskog maslinovog ulja na sastav i koncentracije sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola

Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija i nutricionizam, smjer Prehrambena tehnologija

Pristupnica: **Marina Lukić**, dipl. ing. preh. tehn.

Mentor: **prof. dr. sc. Tihomir Moslavac**

Osijek, 7. srpnja 2022.



UVOD

Uvod

Maslina (*Olea europaea* L.)

- **hrvatske autohtone sorte**
- **genetička i morfološka karakterizacija sorti**
- **karakterizacija djevičanskog maslinovog ulja**

- ✓ **očuvanje i valorizacija bioraznolikosti**
- ✓ **proizvodi ciljanih karakteristika**
- ✓ **robusniji modeli zaštite i promocije proizvoda**







Uvod

Djevičansko maslinovo ulje:

98% TAG;

2% neosapunjivi sastojci (230 spojeva)**:**

- **Ugljikovodici (skvalen)**
- **Steroli**
- **Fenolni spojevi**
- **Tokoferoli**
- **Alifatski alkoholi**
- **Pigmenti**
- **Voskovi**
- **Triterpenski alkoholi**
- **Hlapivi spojevi arome**



Uvod



- Parametri autentičnosti
- Biološka aktivnost
- Stabilnost



Djevičansko maslinovo ulje:

98% TAG;

2% neosapunjivi sastojci (230 spojeva):

- **Ugljikovodici (skvalen)**

  → **Steroli**

- **Fenolni spojevi**
- **Tokoferoli**

  → **Alifatski alkoholi**

- **Pigmenti**
- **Voskovi**

  → **Triterpenski alkoholi**

- **Hlapivi spojevi arome**

Uvod

NIJE DOVOLJNO ISTRAŽENO:

- općenito sastav ulja od **hrvatskih autohtonih sorti** maslina
  - naročito koncentracije i sastav sterola, alifatskih i triterpenskih alkohola

OPĆENITO NEDOVOLJNO, a ZA ULJA HRV. SORTI VRLO SLABO ISTRAŽENO:

- **međuovisnost utjecaja sorte i stupnja zrelosti** na sastav i koncentracije sterola (vrlo malo), alifatskih i triterpenskih alkohola (izrazito malo)
- **utjecaj skladištenja** na koncentracije istraživanih spojeva (AA i TTA uopće)
- analitičkih pokazatelji sorte i stupnja zrelosti; stabilnost tijekom **roka trajanja**





Hipoteze

H1 Maslinova ulja odabranih važnih **hrvatskih autohtonih sorti maslina** razlikuju se na osnovi **sastava i koncentracije sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola**.

H2 **Stupanj zrelosti plodova maslina** utječe na sastav i koncentracije sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola u maslinovim uljima istraživanih sorti.

H3 Iako su utjecaji sorte i stupnja zrelosti međuovisni, koncentracije i/ili relativni udjeli istraživanih spojeva mogu se koristiti kao **analitički pokazatelji sortnog podrijetla** odnosno **stupnja zrelosti plodova** od kojih su proizvedena ta maslinova ulja te je njihova stabilnost postojana i nakon skladištenja ulja na različitim temperaturama.



Ciljevi

Na osnovi sastava i koncentracija sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola:

- **okarakterizirati sortna djevičanska maslinova ulja i usporediti međusobno te s drugim poznatim sortama**;
- **utvrditi postoji li i koji su razmjeri utjecaja zrelosti plodova**;
- **istražiti utjecaj različitih temperatura skladištenja maslinovog ulja**.

Među ispitivanim spojevima iz maslinovog ulja:

- **utvrditi analitičke pokazatelje sortnog podrijetla neovisne o utjecaju stupnja zrelosti**, odnosno **utvrditi analitičke pokazatelje stupnja zrelosti plodova neovisne o utjecaju sorte**, **te ispitati njihovu stabilnost i pouzdanost nakon određenog razdoblja skladištenja ulja**.









EKSPERIMENTALNI DIO



Metode istraživanja

Odabir stabala

BUŽA



ČRNA



ROSINJOLA





Metode istraživanja

Berba i prerada

(Uceda i Frias, 1975.; Beltrán i sur., 2004.)

Sorta\stupanj zrelosti	0	1	2	3	4	5	6	7
BUŽA			B I 1,4	B II 2,8	B III 3,8			
ČRNA			Č I 1,9	Č II 2,8	Č III 4,1			
ROSINJOLA			R I 1,5	R II 3,2	R III 3,8			

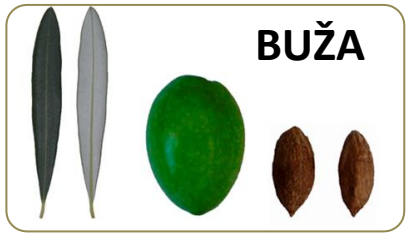


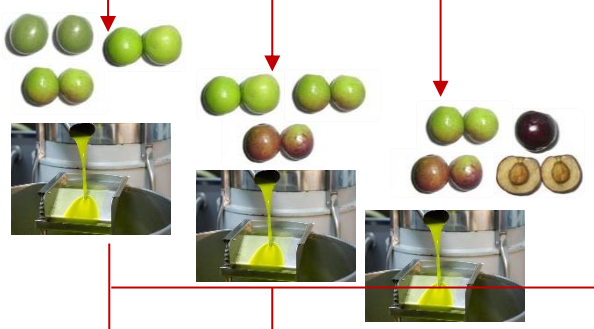


(Milotić i sur., 2005.)

Buža	25.10.	13.11.	29.11.
Črna	19.10.	09.11.	28.11.
Rosinjola	18.10.	24.11.	1.12.

Metode istraživanja





B I | B II | B III

rani | srednji | kasni
stupanj zrelosti
mlado ulje

Skladištenje



1 g / sob. *T*

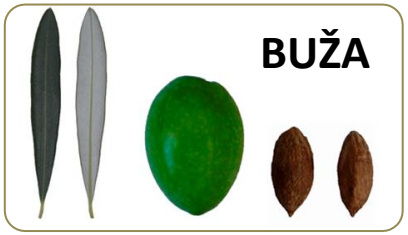


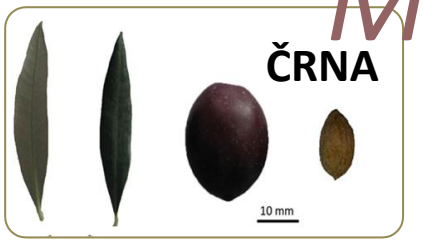
1 g / *T* hlađ.



1 g / *T zamrzav.*

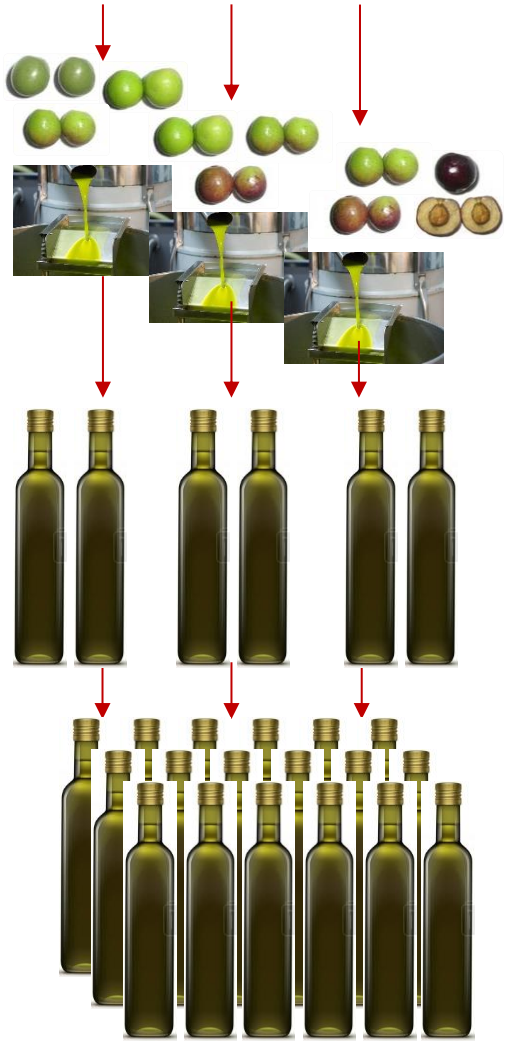
Metode istraživanja

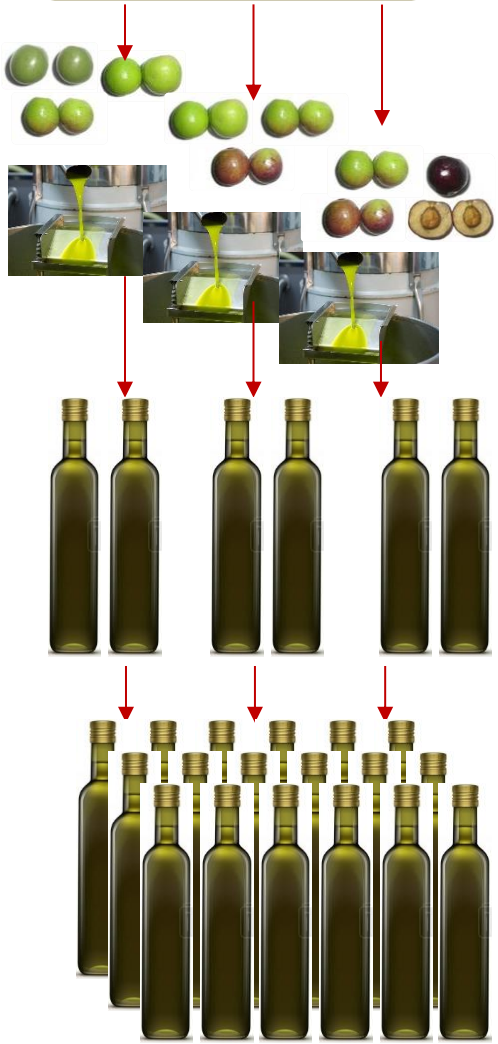


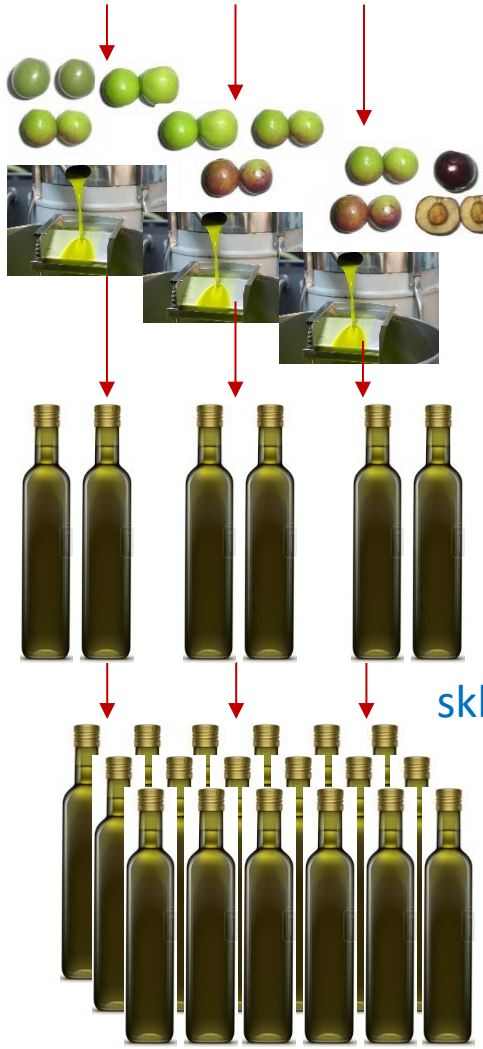




Skladištenje







mlado ulje
18 uzoraka

+

skladišteno ulje
54 uzorka

=

ukupno
72 uzoraka

Metode istraživanja

Ekstrakcija neosapunjivog dijela

(IOC, 2020.; EK, 2019.)

Saponifikacija

Ekstrakcija tekuće-tekuće

Ispiranje

Uparavanje

Sušenje











Metode istraživanja

Tankoslojna kromatografija

(IOC, 2020.; EK, 2019.)

Nanošenje na ploču silika gela

Tankoslojna kromatografija

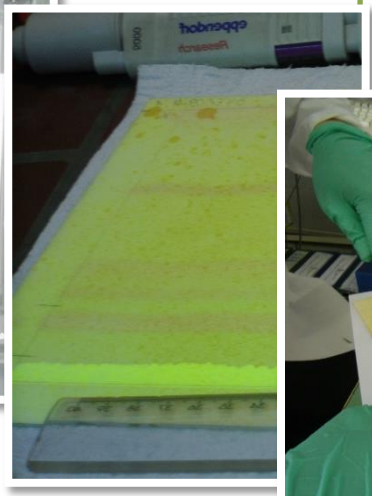
Fluorescein + UV-svjetlo

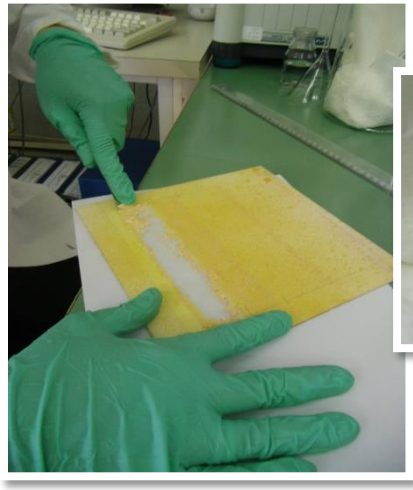
Skidanje skupina spojeva

Derivatizacija











Metode istraživanja



TMS – ekstrakt sterola, E i U





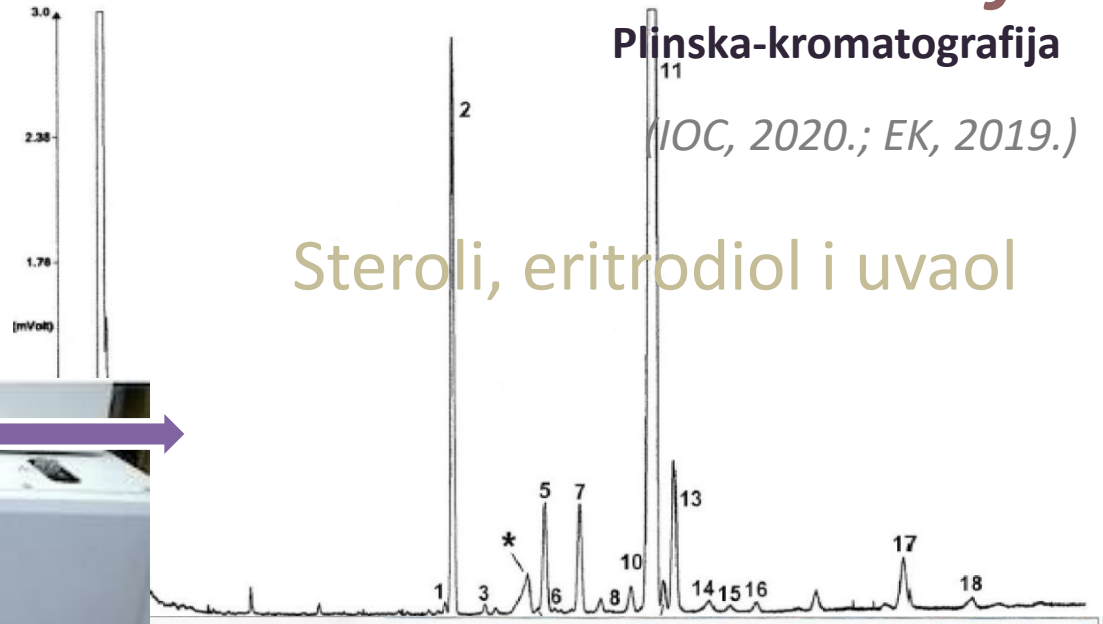


TMS – ekstrakt alif. i triterp. alkohola

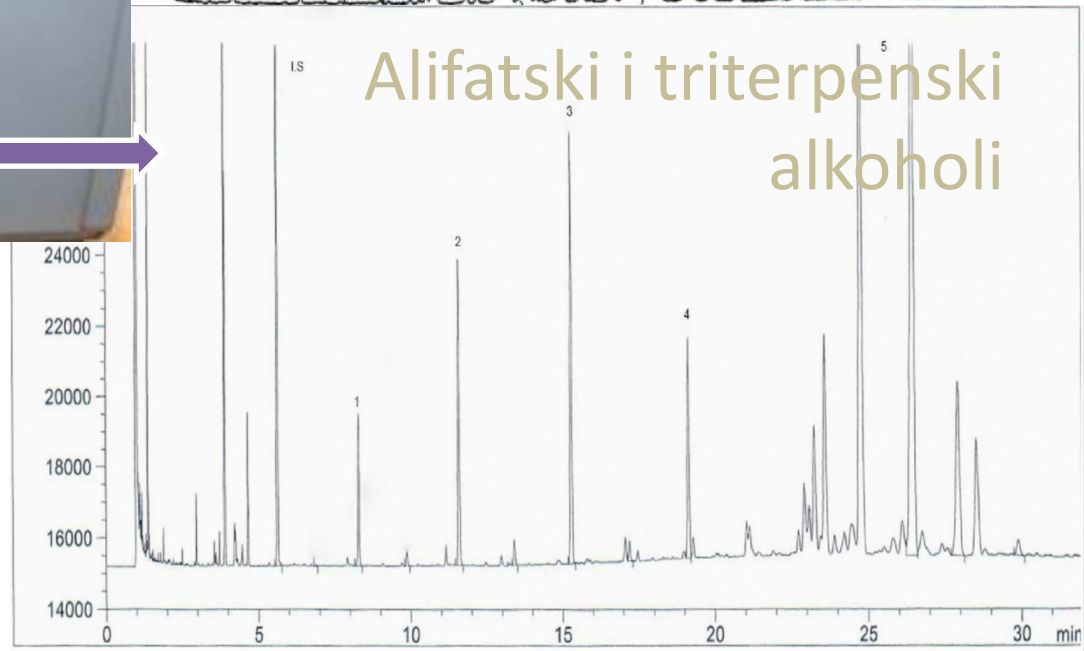


Plinska-kromatografija

(IOC, 2020.; EK, 2019.)



Steroli, eritrodiol i uvaol



Alifatski i triterpenski alkoholi

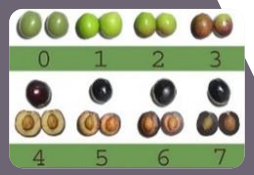
METODE ISTRAŽIVANJA

Sterols and triterpene diols	Buža			Črna			Rosinjola		
	RD1	RD2	RD3	RD1	RD2	RD3	RD1	RD2	RD3
Concentration (mg/100 g)									
Cholesterol	0.36 ± 0.01	0.36 ± 0.05	0.34 ± 0.01	0.39 ± 0.00	0.33 ± 0.00	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.01	0.37 ± 0.03	0.32 ± 0
24-Methylene-cholesterol	0.18 ± 0.01	0.37 ± 0.00	0.31 ± 0.00	0.36 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.54 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.32 ± 0.03	0.37 ±
Campesterol	3.27 ± 0.01	4.13 ± 0.02	3.62 ± 0.01	5.03 ± 0.00	5.37 ± 0.00	5.13 ± 0.02	5.24 ± 0.04	6.74 ± 0.28	4.70 ±
Campestanol	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.29 ± 0.23	0.08
Stigmasterol	0.75 ± 0.01	1.37 ± 0.01	2.44 ± 0.00	1.32 ± 0.00	1.70 ± 0.00	1.66 ± 0.01	1.02 ± 0.01	6.15 ± 0.06	4.3
Δ^7-Campesterol	0.13 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.40 ± 0.04	0
$\Delta^{5,23}$-Stigmastadienol	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.51 ± 0.05	
Clerosterol	1.17 ± 0.03	1.63 ± 0.37	1.19 ± 0.01	2.23 ± 0.11	2.33 ± 0.11	2.09 ± 0.07	1.47 ± 0.03	1.88 ± 0.13	
β-Sitosterol	98.8 ± 0.2	117.7 ± 0.9	103.6 ± 0.5	173.9 ± 0.1	188.1 ± 0.6	171.9 ± 0.5	124.6 ± 0.9	138.7 ± 1.5	
Sitostanol	0.62 ± 0.01	0.76 ± 0.14	0.85 ± 0.13	1.42 ± 0.01	1.29 ± 0.03	0.87 ± 0.03	0.96 ± 0.06	1.08 ± 0.03	
Δ^5-Avenasterol	10.46 ± 0.06	16.39 ± 0.16	15.66 ± 0.17	21.34 ± 0.01	24.62 ± 0.07	22.12 ± 0.14	12.04 ± 0.15	18.25 ± 0.2	
$\Delta^{5,24}$-Stigmastadienol	0.80 ± 0.03	1.02 ± 0.00	1.10 ± 0.03	1.71 ± 0.02	1.84 ± 0.00	1.63 ± 0.02	1.24 ± 0.01	1.55 ± 0	
Δ^7-Stigmastenol	0.14 ± 0.03	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.01	2.96 ±	
Δ^7-Avenasterol	1.08 ± 0.03	1.00 ± 0.02	1.12 ± 0.01	1.17 ± 0.01	1.07 ± 0.01	0.95 ± 0.00	0.68 ± 0.00	2.10 ±	
Apparent β-sitosterol	111.8 ± 0.3	137.5 ± 1.3	122.4 ± 0.6	200.6 ± 0.1	218.2 ± 0.7	198.6 ± 0.4	140.3 ± 1.1	161.9	
Total sterols	117.8 ± 0.3	145.0 ± 1.4	130.5 ± 0.6	209.4 ± 0.1	227.7 ± 0.7	207.8 ± 0.4	148.3 ± 1.1	181	
Erythrodiol	0.92 ± 0.02	1.26 ± 0.00	2.30 ± 0.01	1.04 ± 0.03	1.02 ± 0.01	1.21 ± 0.01	1.21 ± 0.02	1	
Uvaol	0.48 ± 0.02	0.46 ± 0.02	0.74 ± 0.20	0.84 ± 0.01	0.79 ± 0.02	0.80 ± 0.01	0.62 ± 0.03		
Relative amount (%)									
Cholesterol	0.30 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.19 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.18 ± 0.01	0.26 ± 0.01		
24-Methylene-cholesterol	0.15 ± 0.01	0.25 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.17 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.09 ± 0.00		
Campesterol	2.77 ± 0.00	2.85 ± 0.01	2.77 ± 0.00	2.40 ± 0.00	2.36 ± 0.00	2.47 ± 0.01	3.53 ± 0.0		
Campestanol	004 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.10 ± 0		
Stigmasterol	0.64 ± 0.01	0.94 ± 0.01	1.87 ± 0.01	0.63 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.69 ± 0		
Δ^7-Campesterol	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.08 ±		
$\Delta^{5,23}$-Stigmastadienol	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00		
Clerosterol	0.99 ± 0.01	1.12 ± 0.24	0.91 ± 0.01	1.06 ± 0.05	1.02 ± 0.05	1.00 ± 0.03	0.9		
β-Sitosterol	83.86 ± 0.04	81.16 ± 0.22	79.38 ± 0.03	83.03 ± 0.02	82.62 ± 0.01	82.76 ± 0.08	84		
Sitostanol	0.53 ± 0.03	0.52 ± 0.05	0.65 ± 0.17	0.68 ± 0.01	0.57 ± 0.01	0.42 ± 0.01			
Δ^5-Avenasterol	8.89 ± 0.02	11.30 ± 0.07	12.00 ± 0.21	10.19 ± 0.02	10.81 ± 0.00	10.65 ± 0.08			
$\Delta^{5,24}$-Stigmastadienol	0.68 ± 0.00	0.70 ± 0.02	0.84 ± 0.00	0.82 ± 0.01	0.81 ± 0.00	0.78 ± 0.01			
Δ^7-Stigmastenol	0.12 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.13 ± 0.00	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01			
Δ^7-Avenasterol	0.92 ± 0.00	0.69 ± 0.00	0.86 ± 0.01	0.56 ± 0.00	0.47 ± 0.00	0.46 ± 0.0			
Apparent β-Sitosterol	94.94 ± 0.02	94.81 ± 0.02	93.78 ± 0.03	95.78 ± 0.00	95.83 ± 0.00	95.61 ± 0.0			
Erythrodiol	0.77 ± 0.02	0.86 ± 0.00	1.72 ± 0.00	0.49 ± 0.01	0.44 ± 0.00	0.58 ± 0			
Uvaol	0.40 ± 0.00	0.31 ± 0.12	0.56 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.38 ±			

Statistička obrada podataka



Sorta
(B, Č, R)



Stupanj zrelosti
(I, II, III)

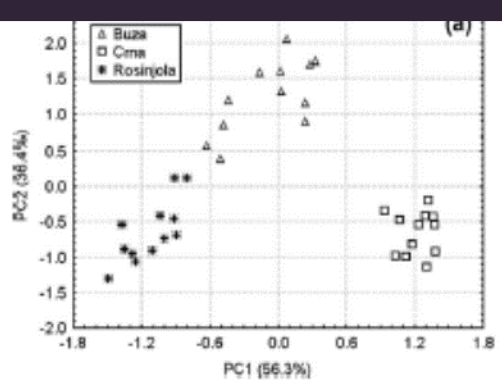


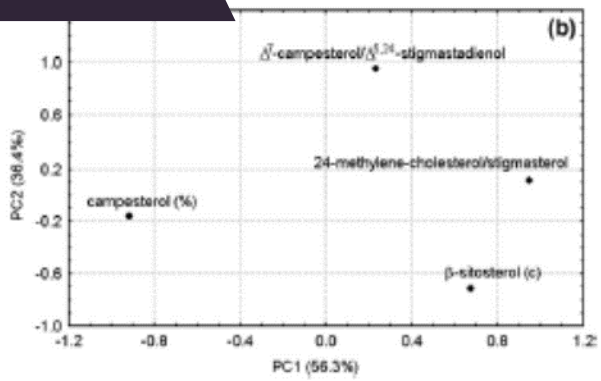
Skladištenje 12 m
(mlado ulje, sobna *T*, *T* hlađ., *T* zamrzav.)

Steroli
Alifatski alkoholi
Triterpenski alkoholi

- Analiza varijance (ANOVA, LSD, $p < 0,05$)
- Analiza glavnih sastavnica (PCA)
- Linearna diskriminantna analiza (LDA)

*(*Statistica 13.2*, TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, SAD)*







REZULTATI I RASPRAVA

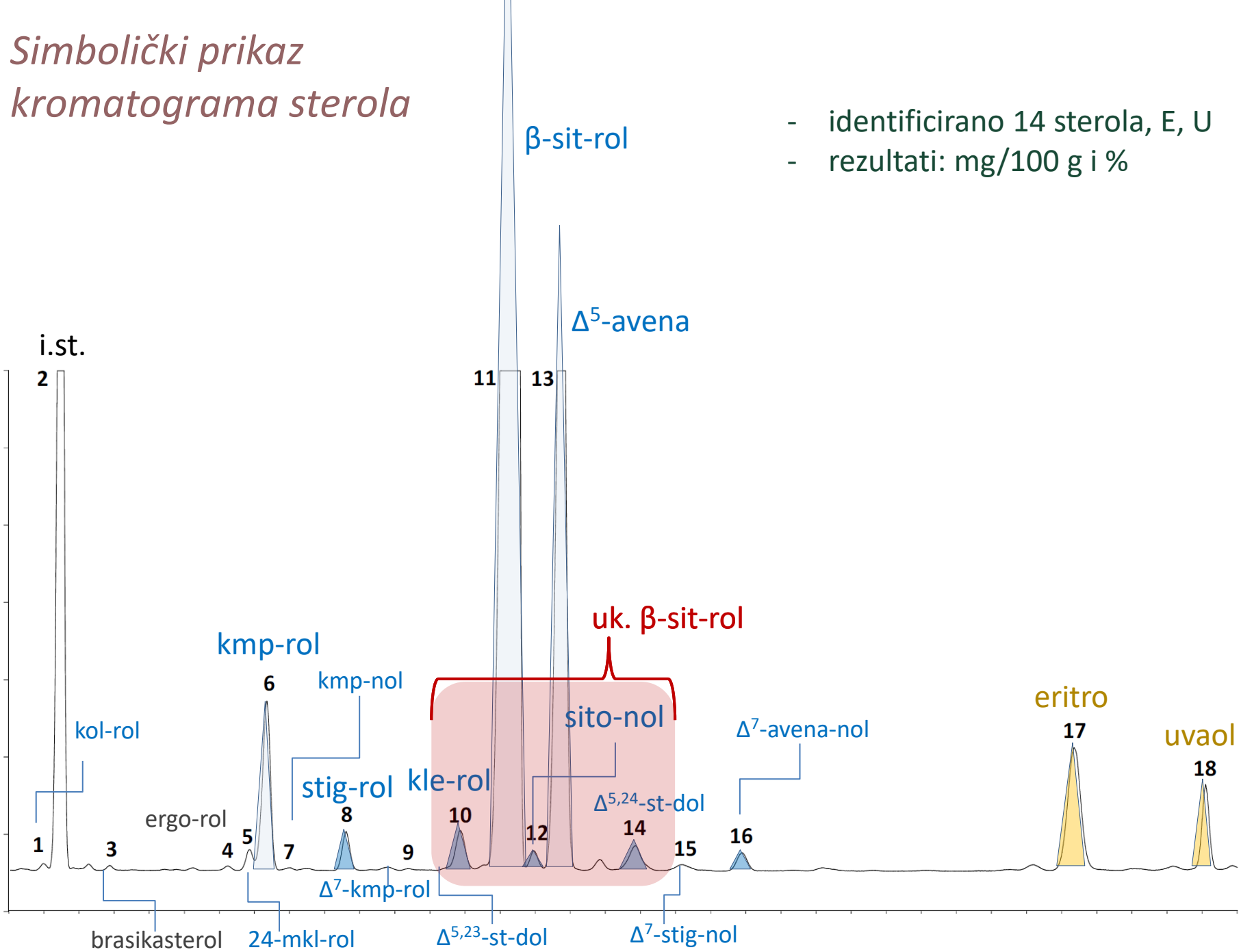




UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA STEROLE I TRITERPENSKE DIOLE U SVJEŽIM ULJIMA

Simbolički prikaz kromatograma sterola

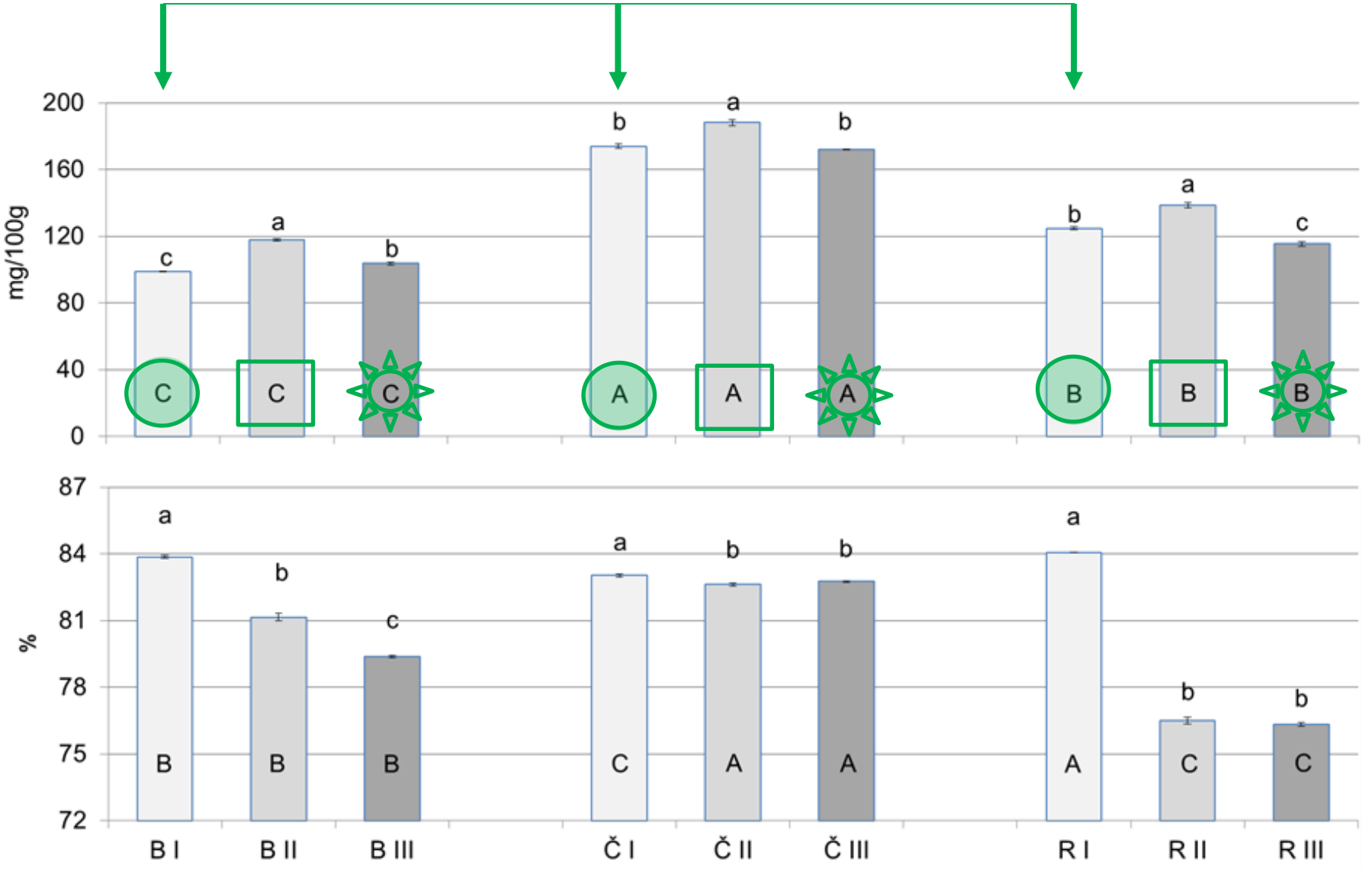
- identificirano 14 sterola, E, U
- rezultati: mg/100 g i %



STEROLI | svježa ulja | sorta

- najzastupljeniji sterol
- ***c*** (β-sit-rol): **Č > R > B**

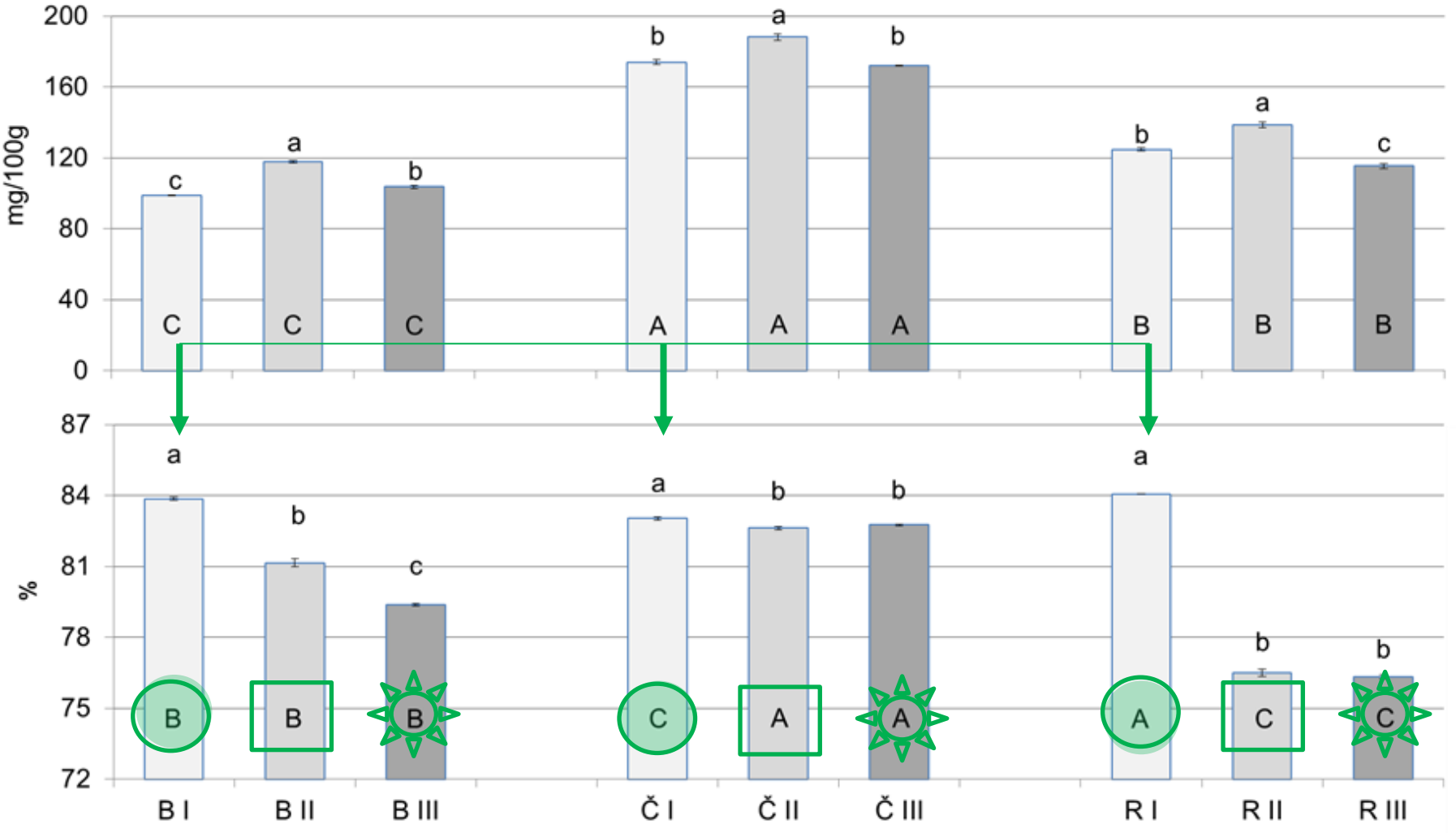
β-sitosterol



STEROLI | svježa ulja | sorta

β-sitosterol

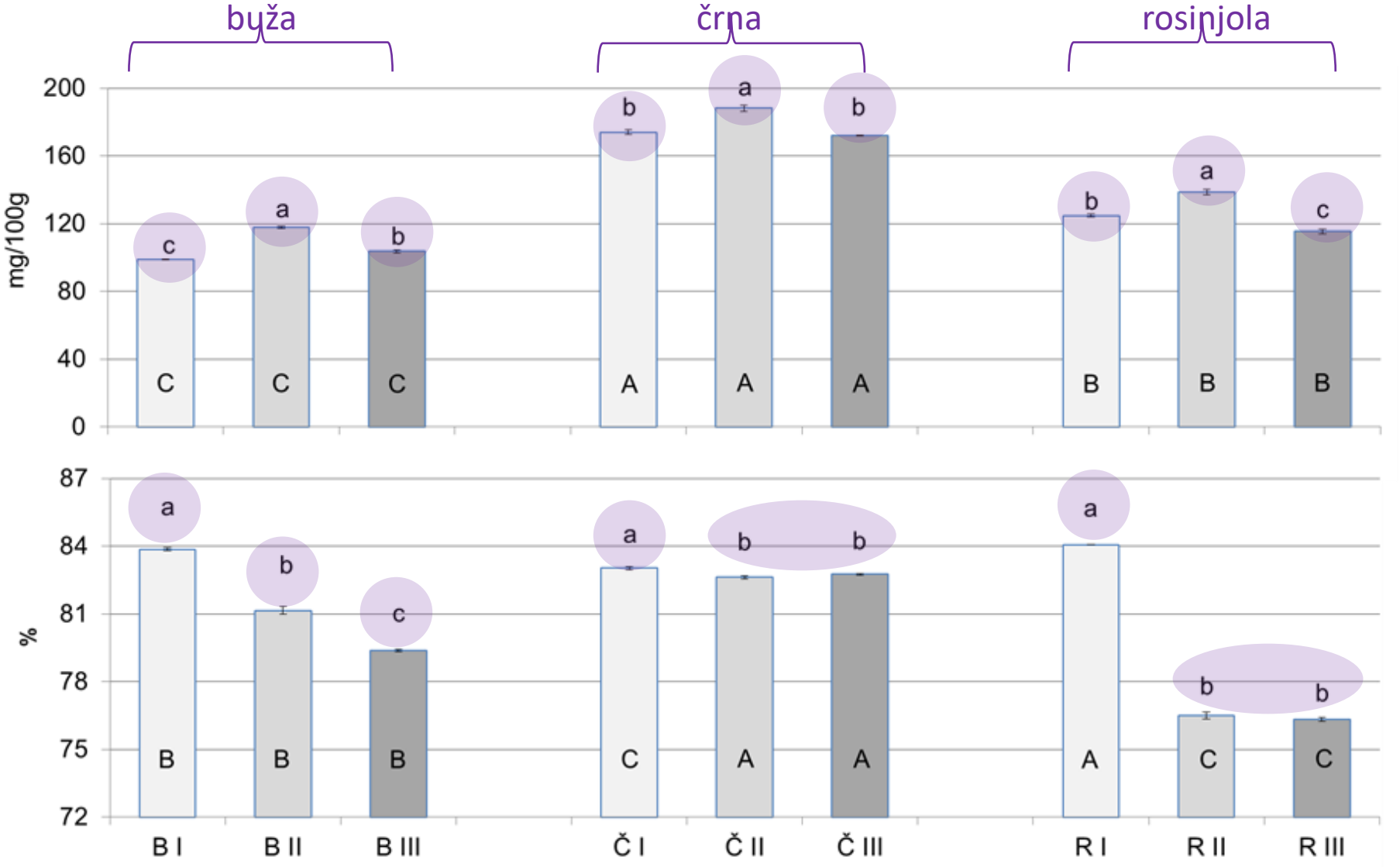
- najzastupljeniji sterol
- ***c*** (β-sit-rol): **Č > R > B**
- ***%*** (β-sit-rol): **R I > B I > Č I**
  Č II, III > B II, III > R II, III



STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

β-sitosterol

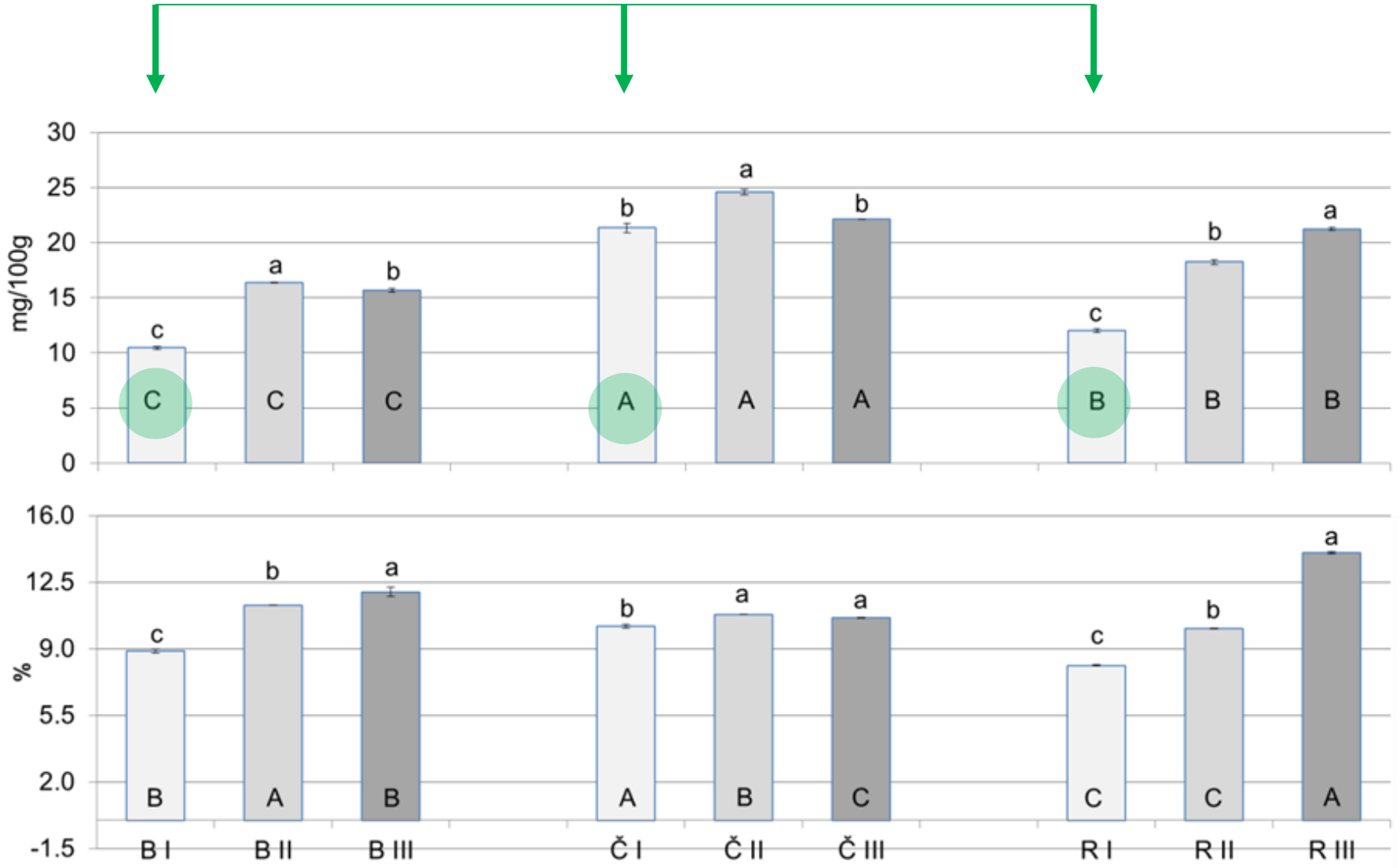
- slični obrasci za *c* i *%* u dozrijevanju
- ***c*** (β-sit-rol): najviša u **II**
- ***%*** (β-sit-rol): **I > II > B III**



STEROLI | svježa ulja | sorta

- drugi najzastupljeniji sterol
- ***c*** (Δ^5-avena): **Č > R > B**

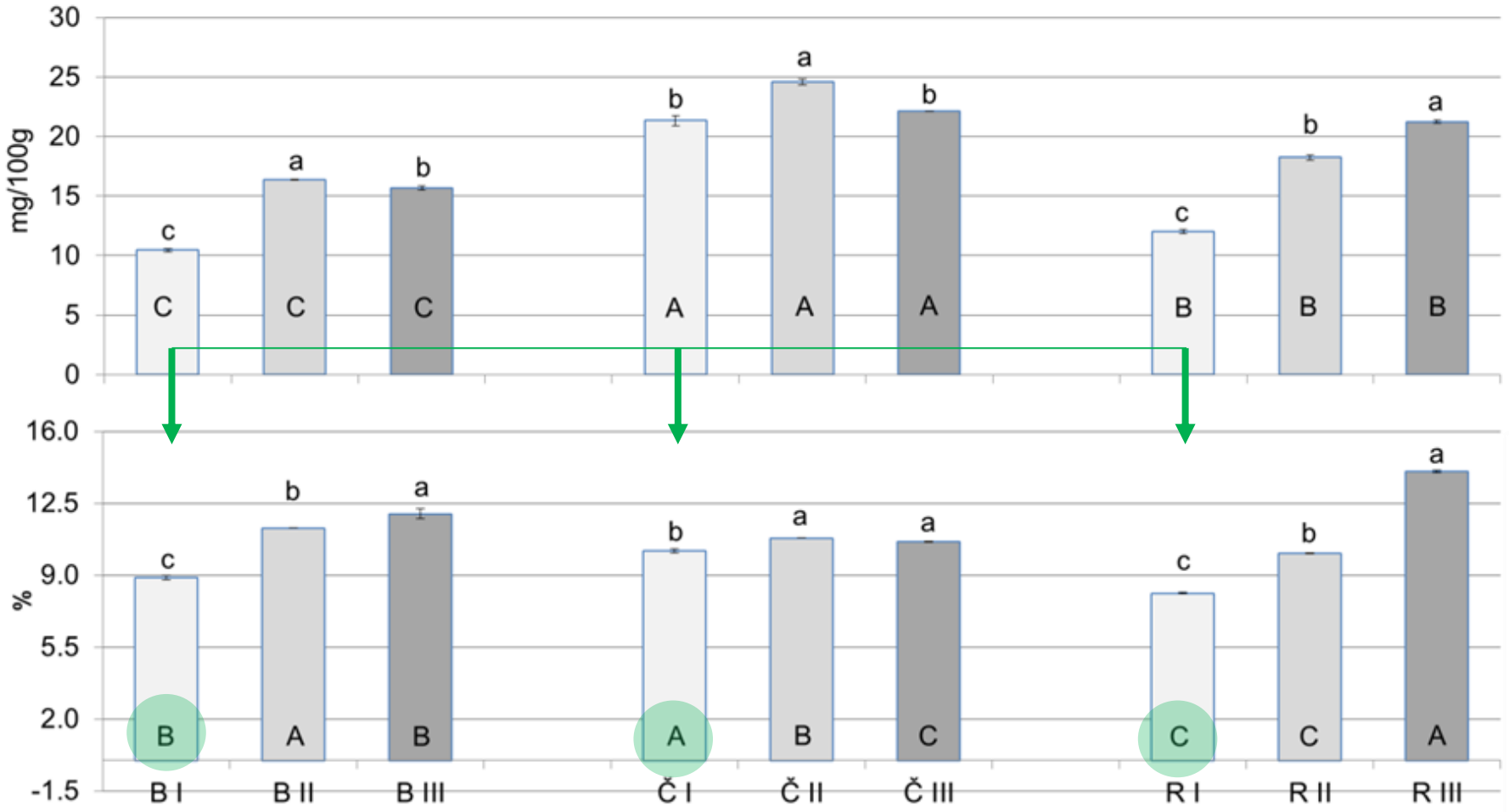
Δ^5-avenasterol

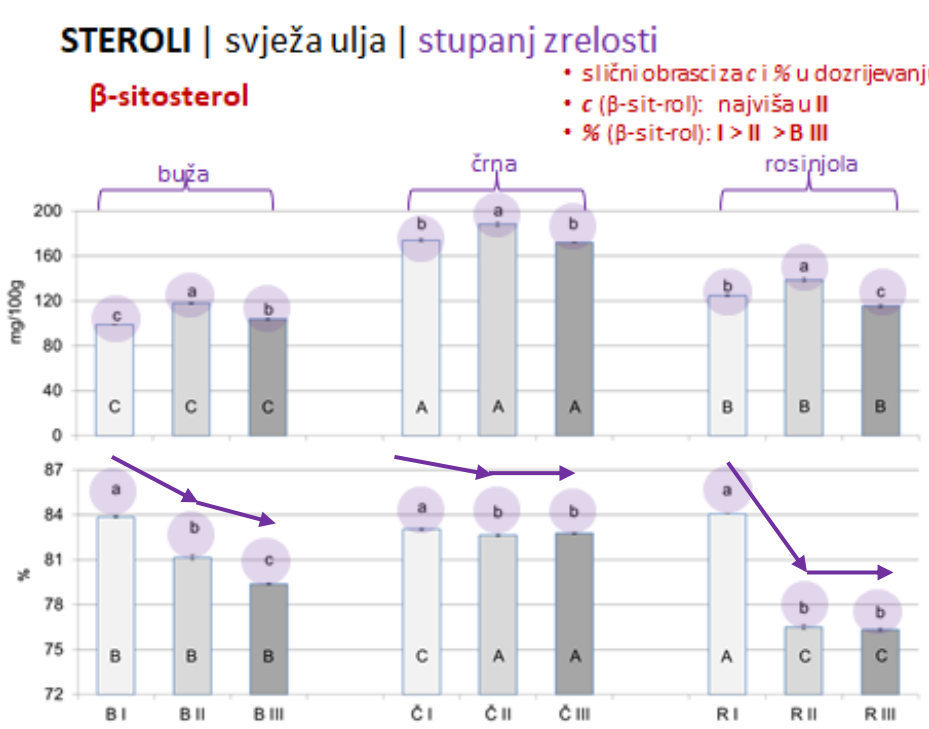


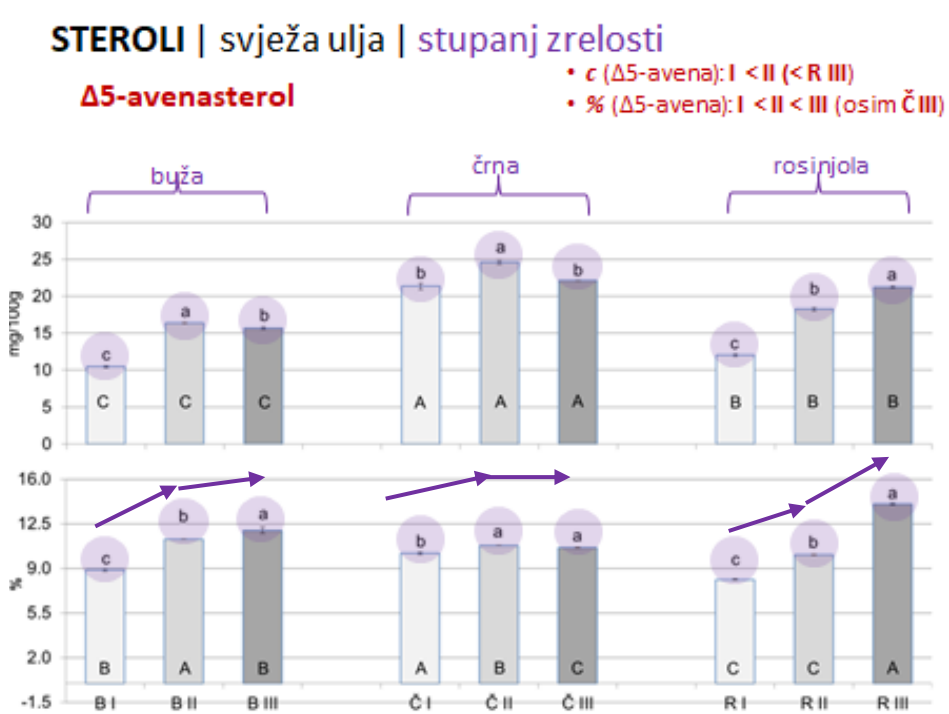
STEROLI | svježa ulja | sorta

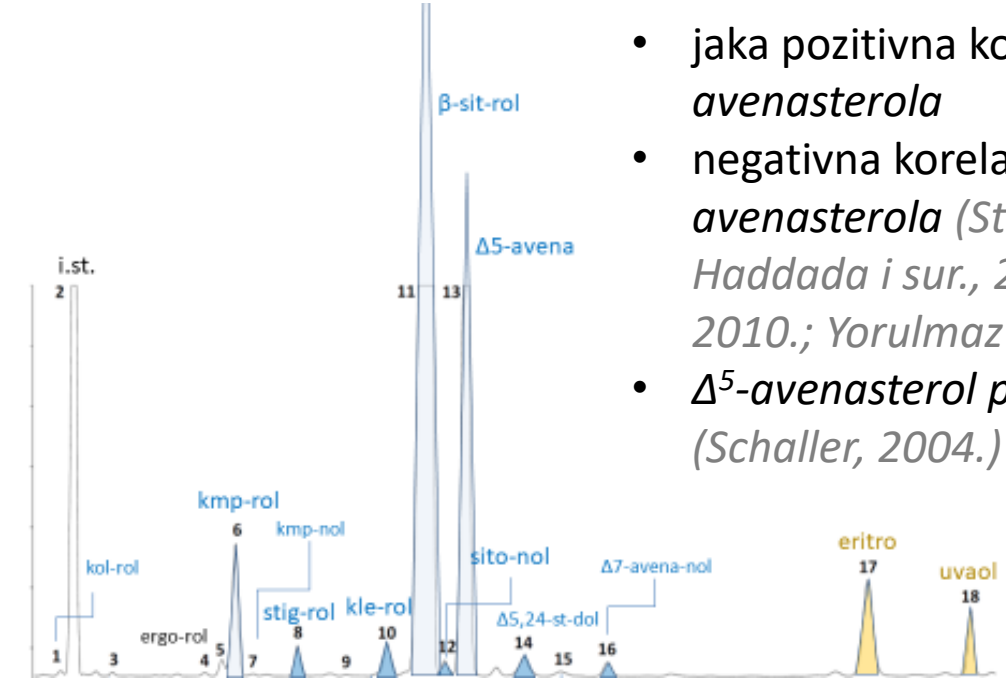
Δ^5-avenasterol

- drugi najzastupljeniji sterol
- ***c*** (Δ^5-avena): **Č > R > B**
- ***%*** (Δ^5-avena): **Č I > B I > R I**
  B II > Č II > R II
  R III > B III > Č III







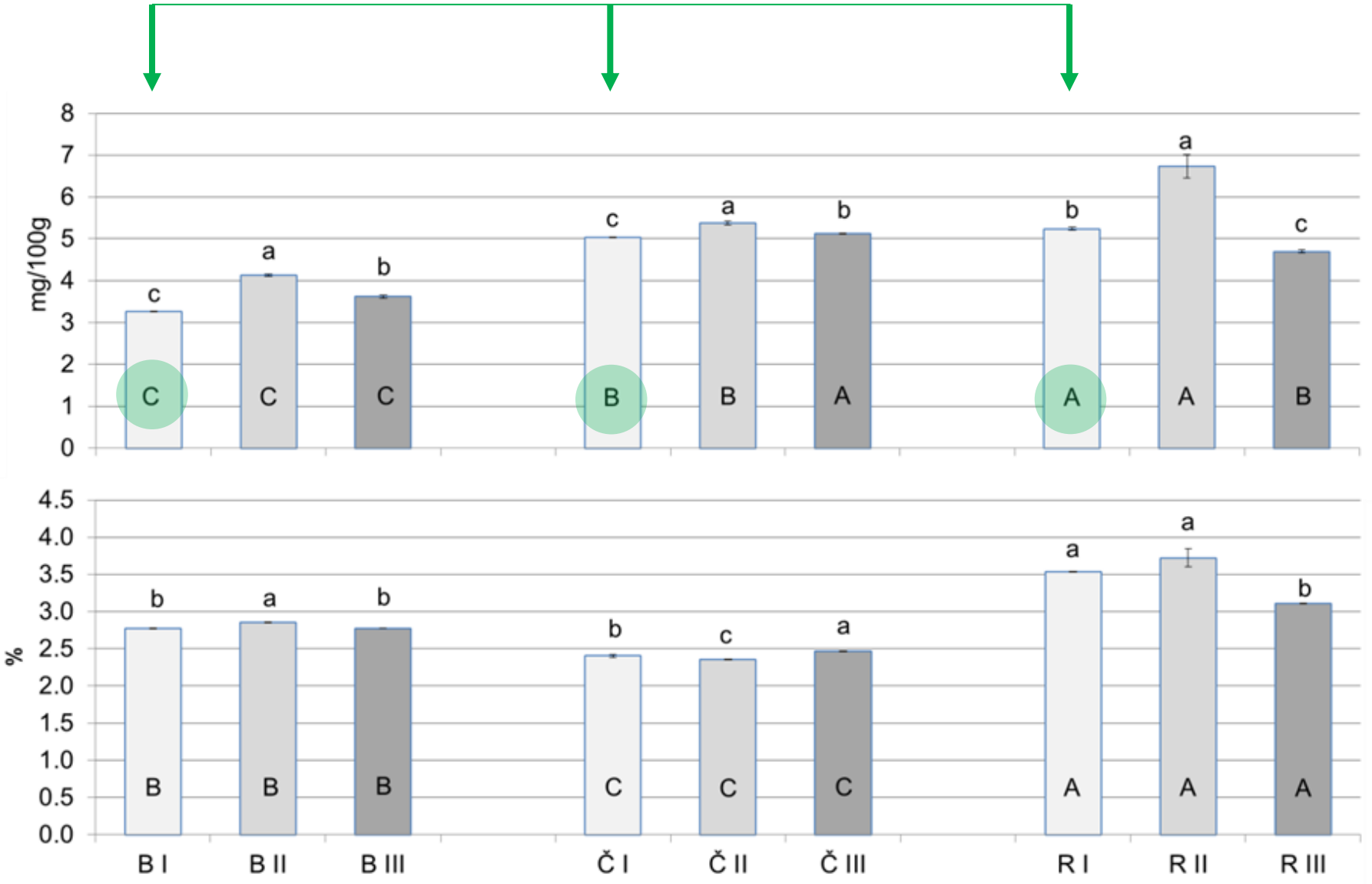


- jaka pozitivna korelacija koncentracija β-sitosterola i *Δ⁵-avenasterola*
- negativna korelacija rel.udjela β-sitosterola i *Δ⁵-avenasterola* *(Stefanoudaki i sur., 2000.; Alves i sur., 2005.; Haddada i sur., 2007.; Oueslati i sur., 2009.; Ilyasoglu i sur., 2010.; Yorulmaz i sur., 2014.; Fuentes i sur., 2015.)*
- *Δ⁵-avenasterol prekursor u biosintezi β-sitosterola* *(Schaller, 2004.)* – aktivnost enzima slabi

STEROLI | svježa ulja | sorta

- treći najzastupljeniji sterol
- ***c*** (kmp-rol): **R I, II > Č I, II > B I, II**
  Č III > R III > B III

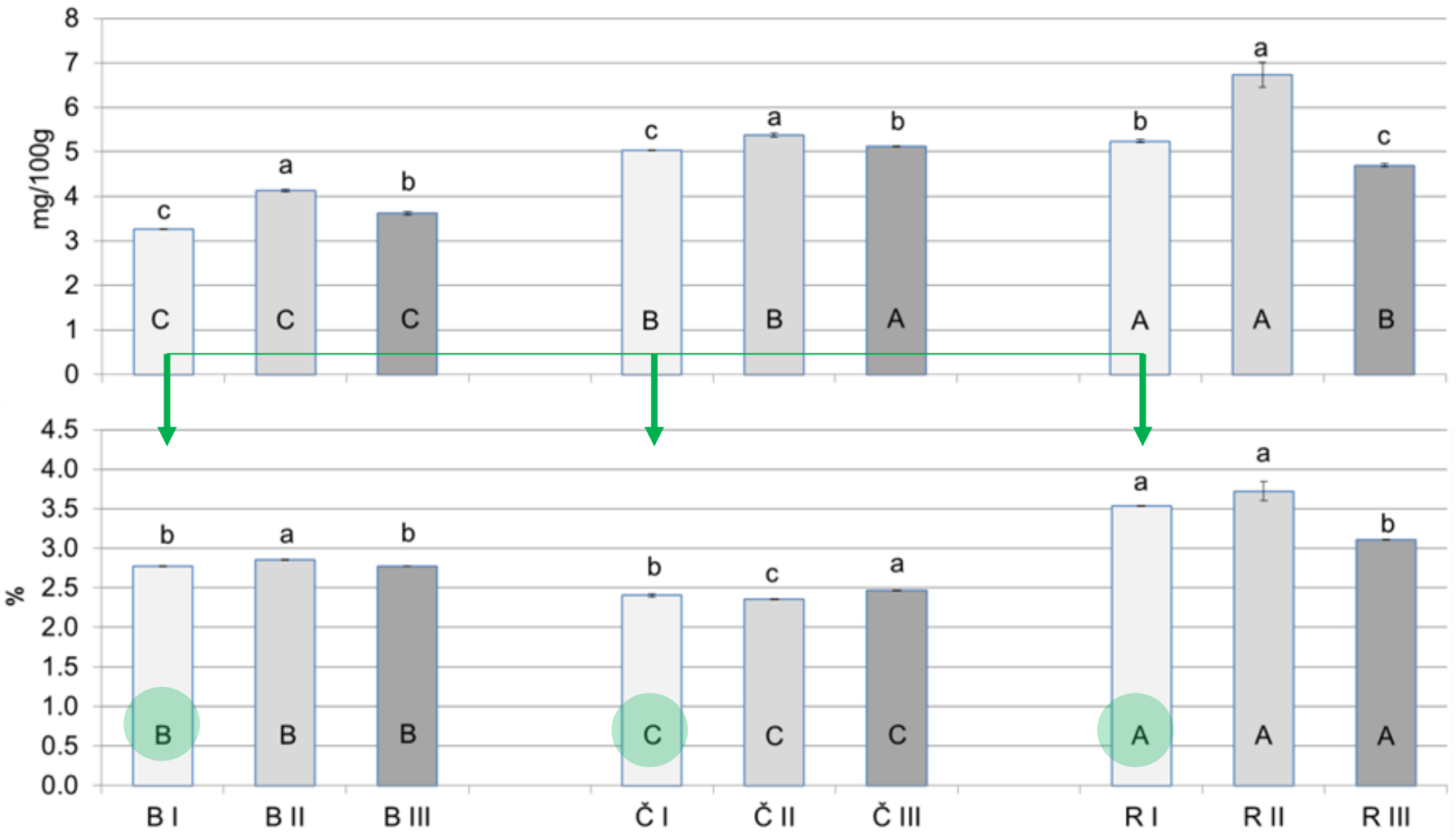
kampesterol



STEROLI | svježa ulja | sorta

kampesterol

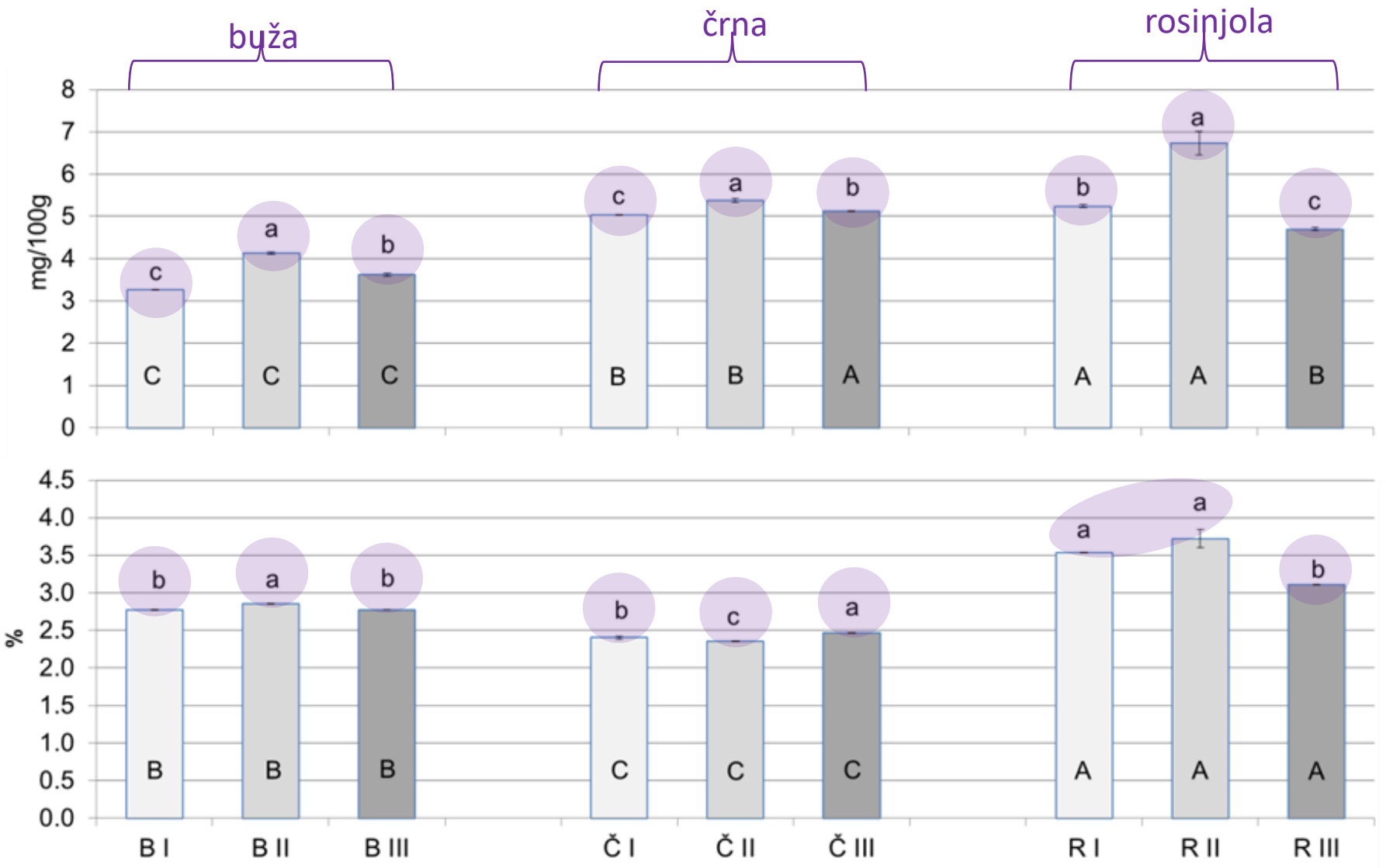
- treći najzastupljeniji sterol
- ***c*** (kmp-rol): **R I, II > Č I, II > B I, II**
  Č III > R III > B III
- ***%*** (kmp-rol): **R I > B I > Č I**



STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

kampesterol

- ***c*** (kmp-rol): najviša u **II**
- ***%*** (kmp-rol): najviša u **II** (osim **Č II**)

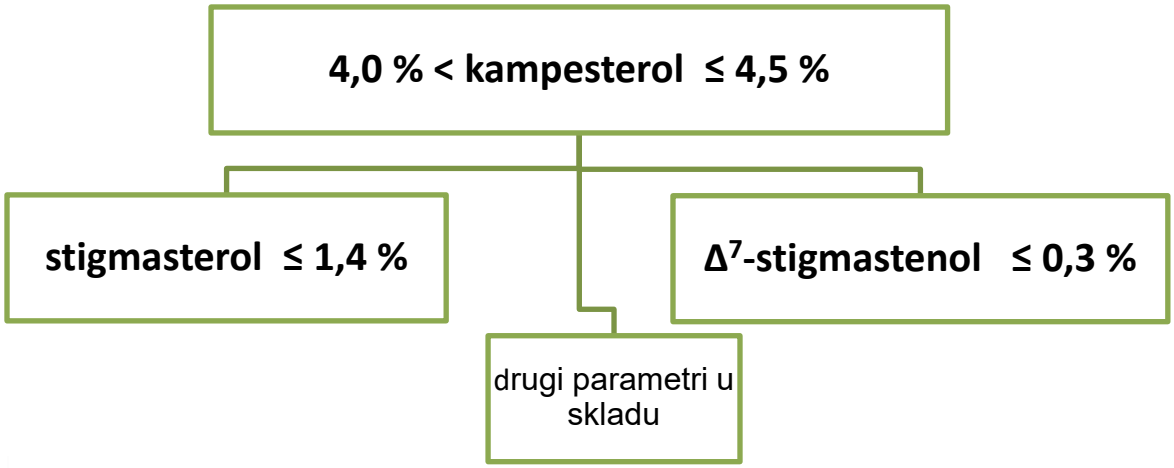


STEROLI | svježa ulja | sorta

kampesterol

- **% (kmp-rol) maks: ≤ 4,0**
- **R II** blizu granice **< 4,0 %**
- **maks2: ≤ 4,5 (stig-rol; D7-stig-nol)**

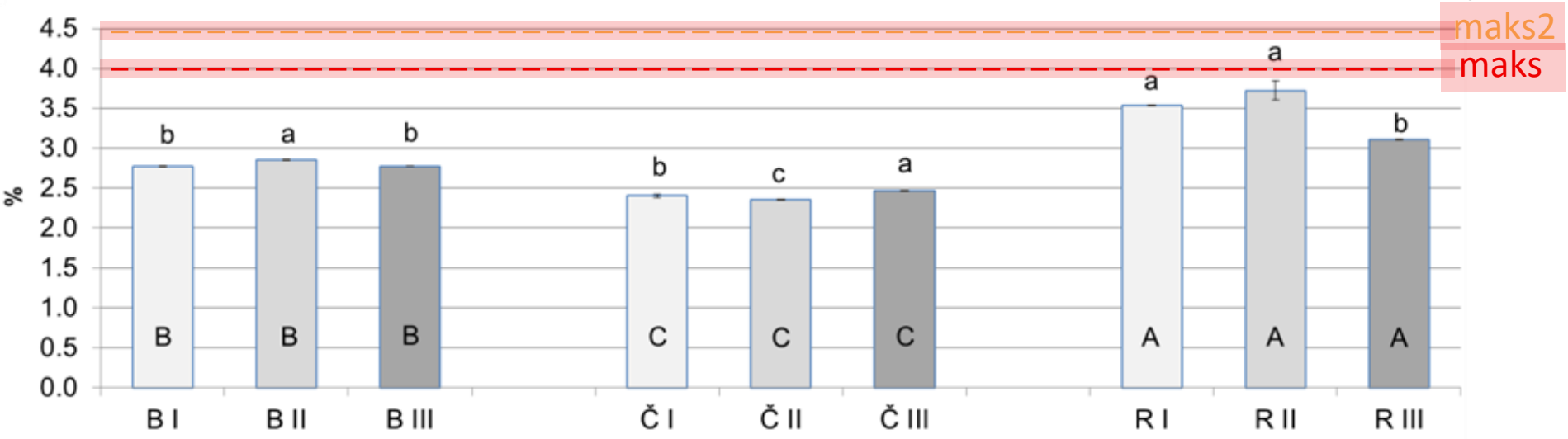
Dodatak Uredbi - Shema odlučivanja: **kampesterol** (DMU):



slučajevi

% (kampesterol) → iznad maks.

(Koutsaftakis i sur., 1999.; Rivera del Álamo i sur., 2004.; Sánchez Casas i sur., 2004.; Ceci i Carelli, 2007.; Ilyasoglu i sur., 2010.; Lerma-García i sur., 2011.; Sena-Moreno i sur., 2015.; Kyçyk i sur., 2016.; Deiana i sur., 2019.; Salazar-García i sur., 2019.; Skiada i sur., 2019.)



STEROLI | svježa ulja | sorta

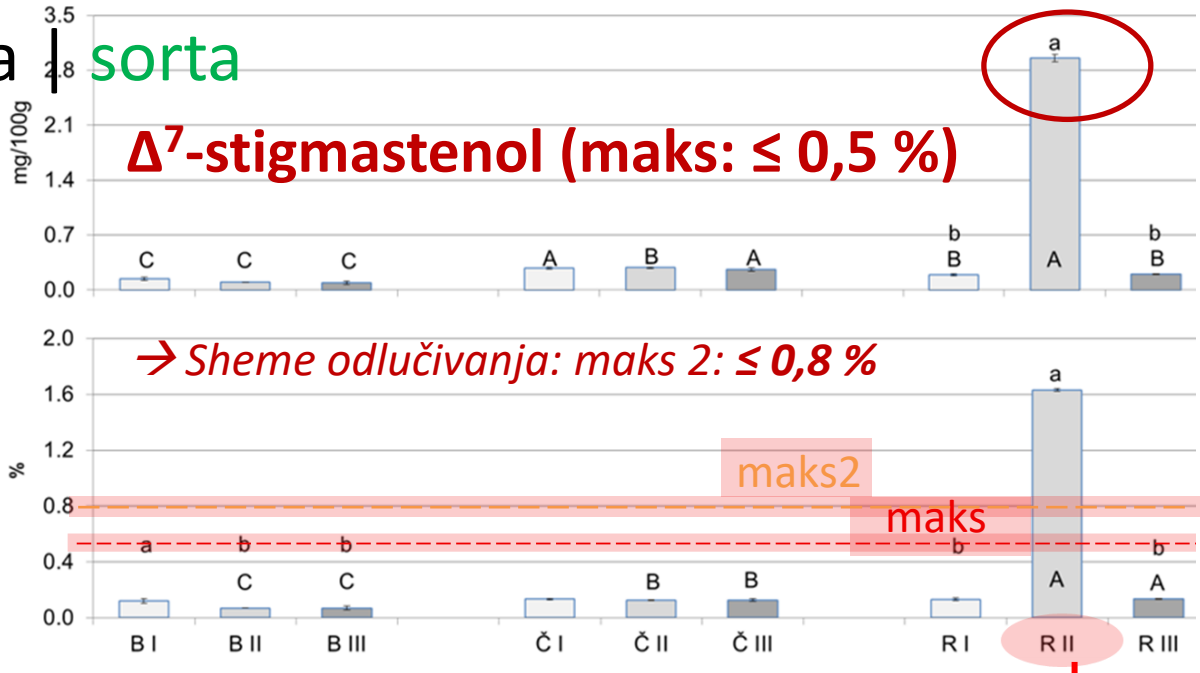
Predloženi novi dodatni kriterij za djevičanska, uklj. lampante *(IOC TS Rev.19)*:

$$\frac{\text{uk. β−sitosterol}}{\text{kampesterol}} \geq 28$$

→ R II: **24,02**

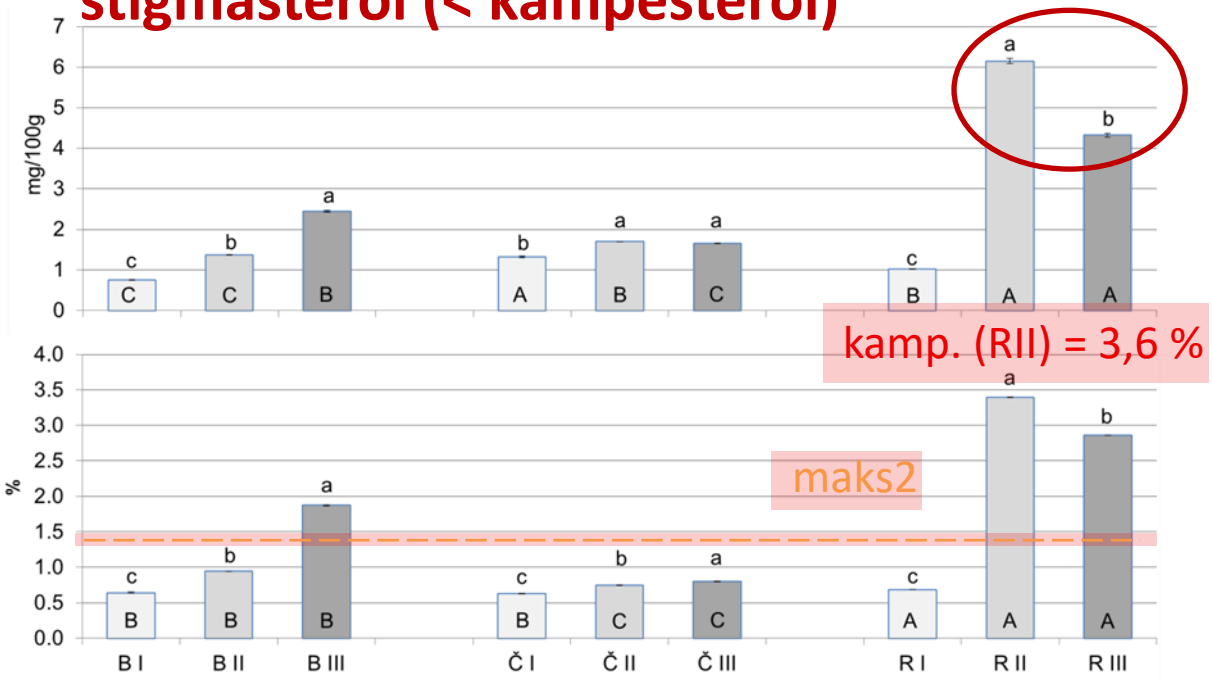
→ Č III: **38,71**

Δ^7-stigmastenol (maks: ≤ 0,5 %)



→ *Sheme odlučivanja: maks 2:* ***≤ 0,8 %***

stigmasterol (< kampesterol)



kamp. (RII) = 3,6 %

slični slučajevi

% (Δ7-stigmastenol) → **iznad maks.**

(Ceci i Carelli, 2007.; Krichène i sur., 2010.; Noorali i sur., 2014.; Yorulmaz i sur., 2014.; Bozdogan Konuskan i Mungan, 2016.; Kyçyk i sur., 2016.; Yorulmaz i Konuskan, 2017.)

STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

24-metilen-kolesterol

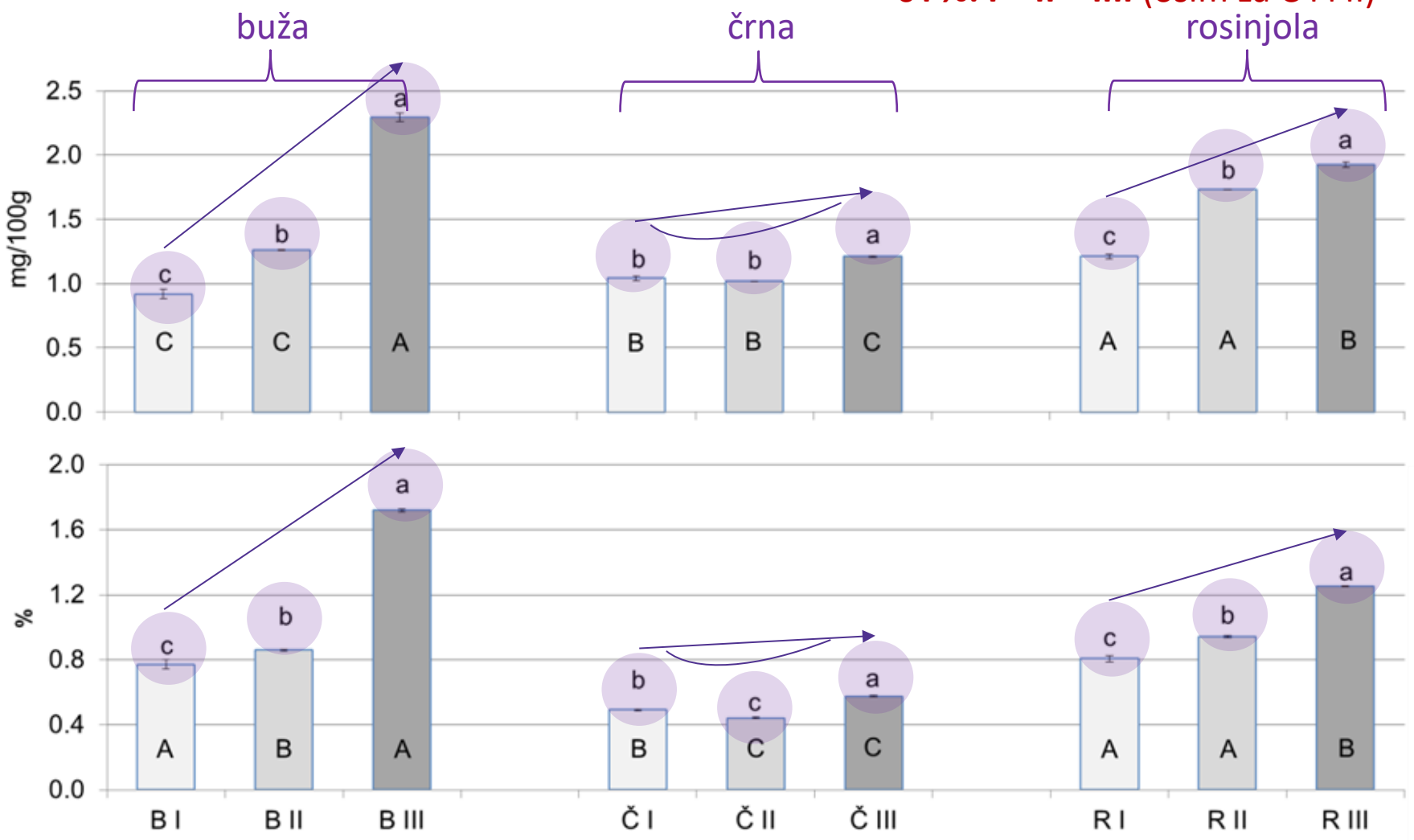
- ***c*** (24-mkl-rol): **Č > B; R**
- ***%*** (24-mkl-rol): **Č I, II > B I, II; R I, II**
- ***c*** i ***%*** (24-mkl-rol): **I < II**



STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

eritrodiol

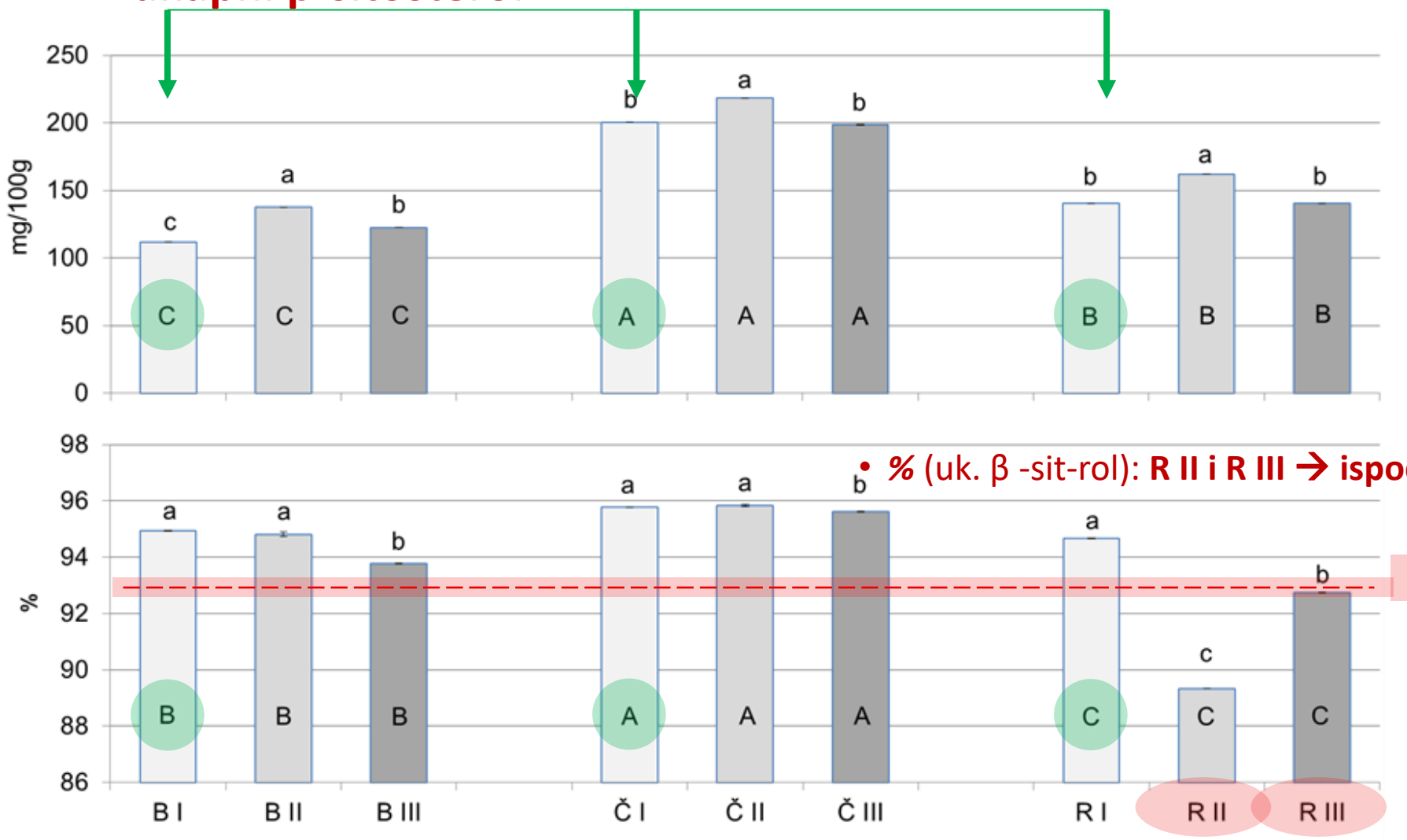
- sorta: ***c*** (eritro): **R I,II > Č I, II > B I, II**
  B III > R III > Č III
- sorta: **%** (eritro): **B; R > Č**
- **c i %: I < II < IIII** (osim za Č I i II)



STEROLI | svježa ulja | sorta

- ***c*, %** (uk. β-sit-rol) = **Č > R > B**
- sortne razlike: **β-sit-rol = uk. β-sit-rol**

ukupni β-sitosterol



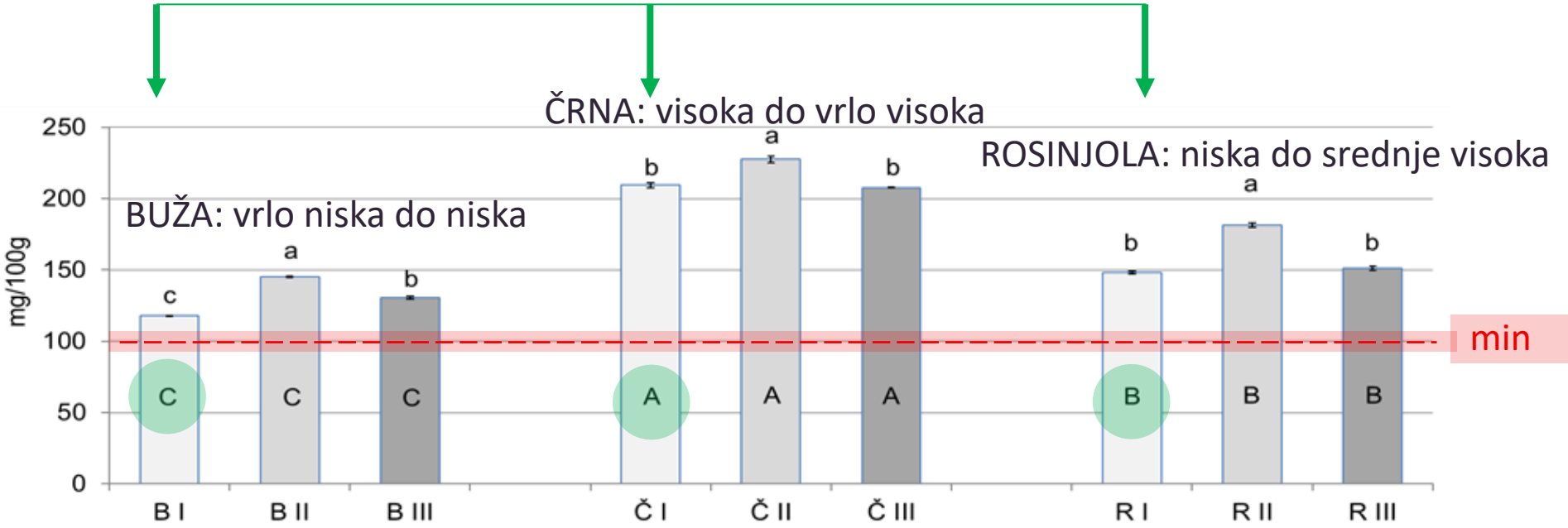
- **% (uk. β -sit-rol): R II i R III → ispod min**

- *slični slučajevi* *(Ceci i Carelli, 2007.; Krichène i sur., 2010.; Noorali i sur., 2014.; Bozdogan Konuskan i Mungan, 2016.; Kyçyk i sur., 2016.; Salazar-García i sur., 2019.)*

STEROLI | svježa ulja | sorta

ukupni steroli

- ***c*** (uk.steroli): **Č > R > B**
- **BI** – blizu donje granice

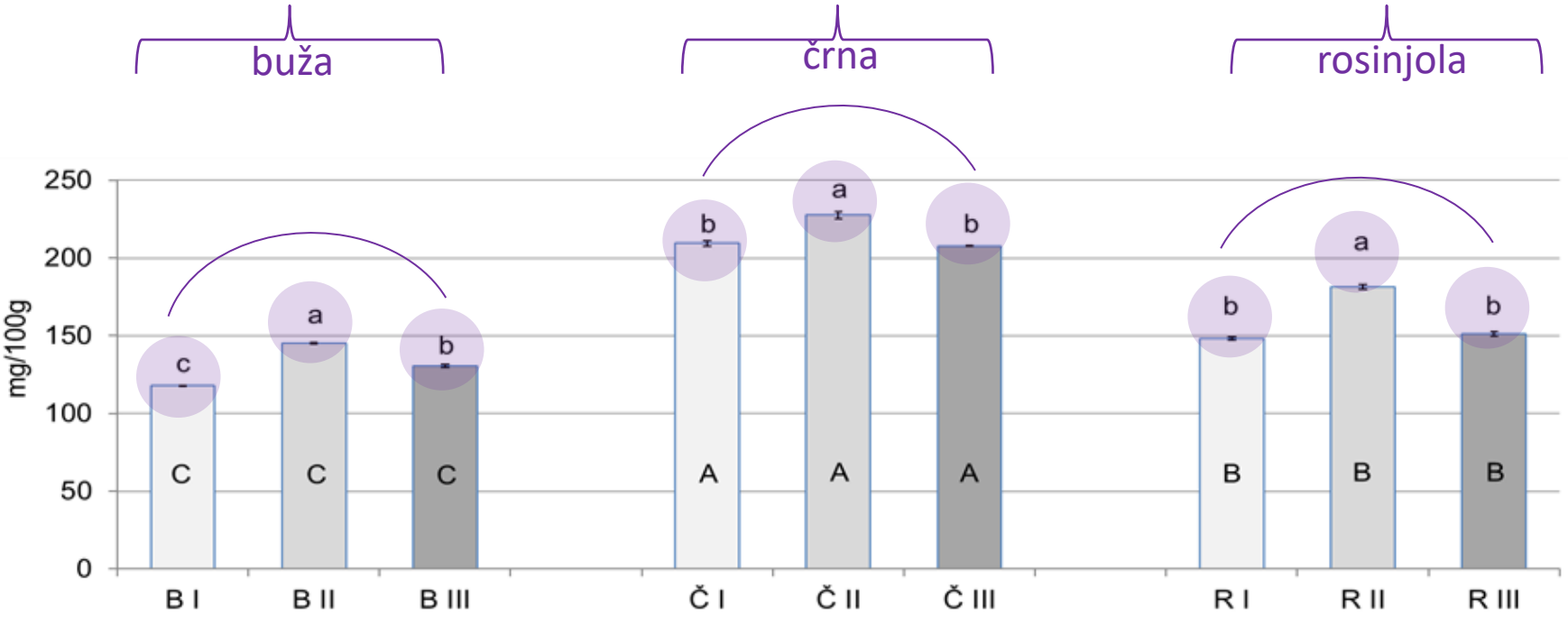


- Klasifikacija prema **koncentraciji ukupnih sterola** (*Kyçyk i sur., 2016.*)
- Zabilježene vrijednosti niže od granice od 100 mg/100 g propisane Uredbom Europske komisije EK, 2019. (*Pardo i sur., 2013.; Sena-Moreno i sur., 2015.; Pardo i sur., 2020. ; Stefanoudaki i sur., 2000.; Skiada i sur., 2019.; 2020.a; 2020.b; Deiana i sur., 2019. ; Yorulmaz i Konuskan, 2017.; Demirag i Konuskan, 2021.*)

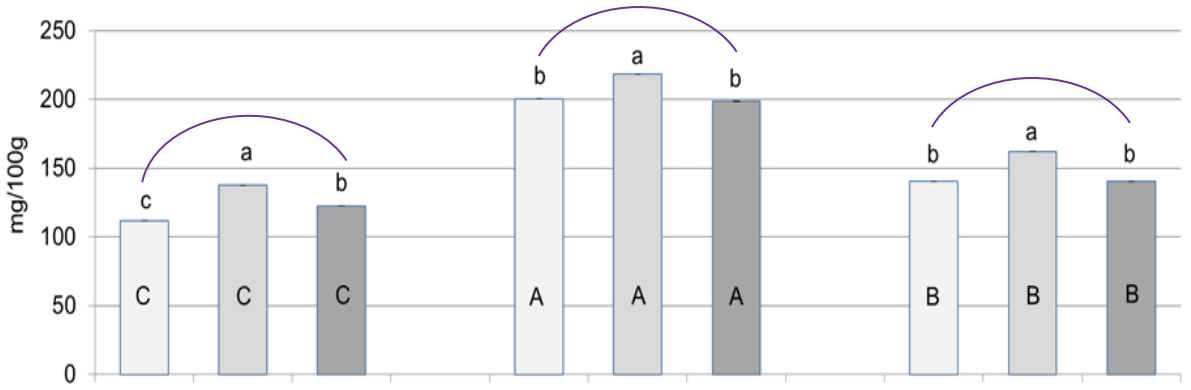
STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

- ***c*** (uk.steroli): **II > I, III**
- iste razlike kao za *c* (uk. β-sitosterol)

ukupni steroli



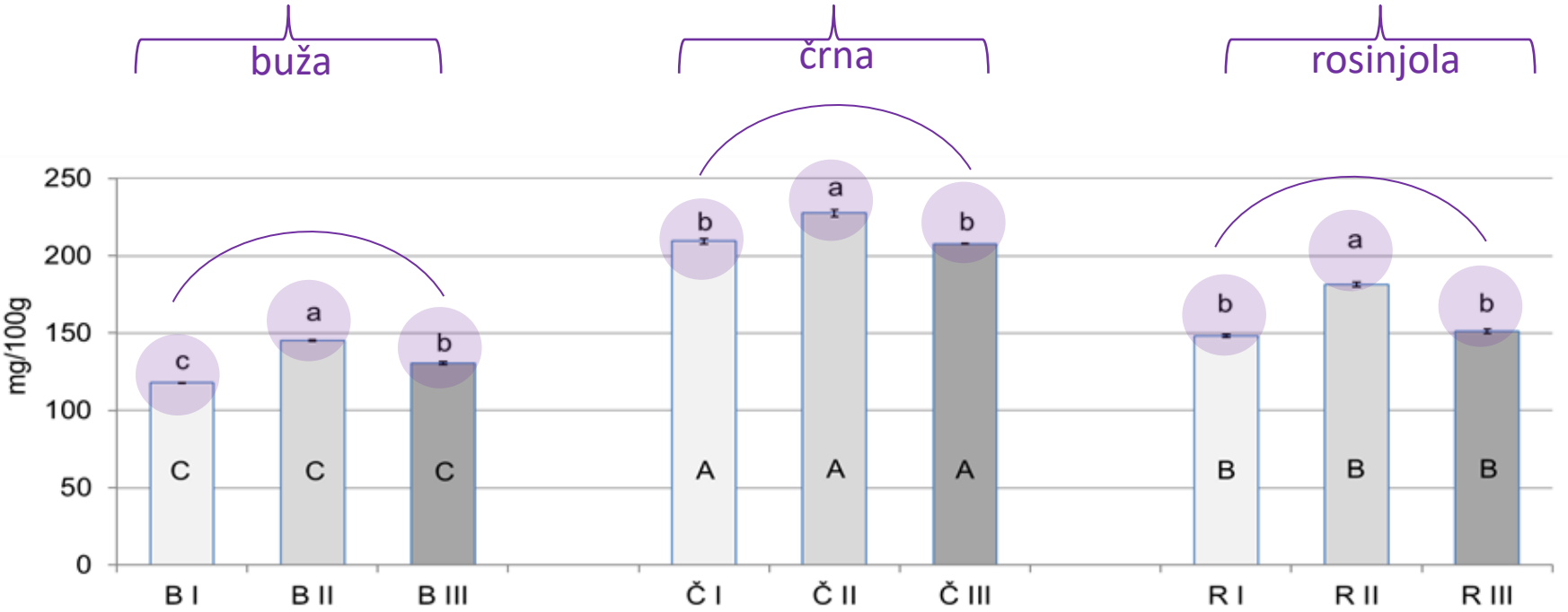
ukupni β-sitosterol



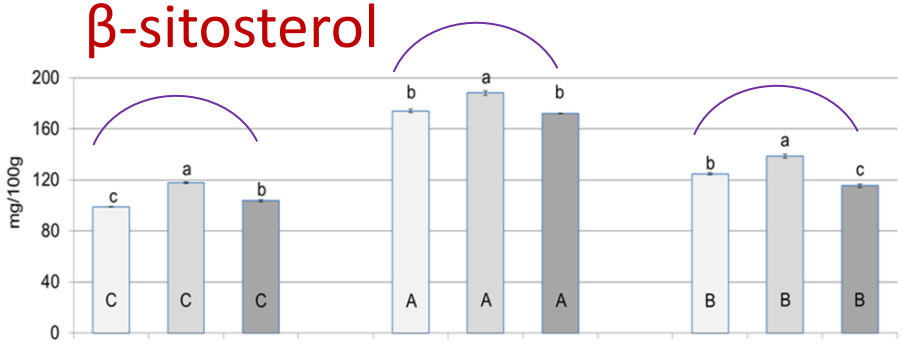
STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

- ***c*** (uk.steroli): **II > I, III**
- iste razlike kao za *c* (β-sit-rol i Δ5-avena)

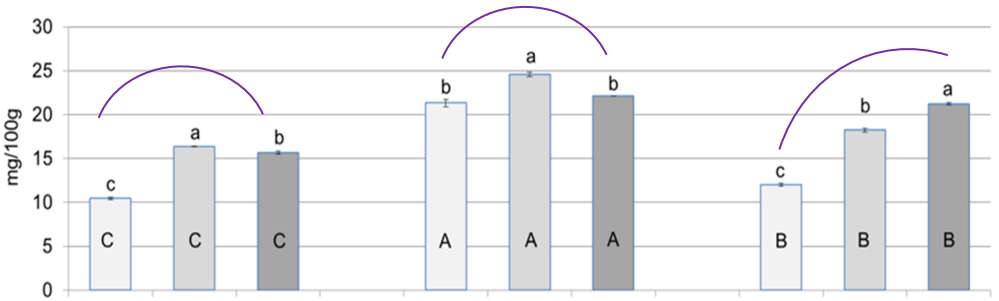
ukupni steroli



β-sitosterol

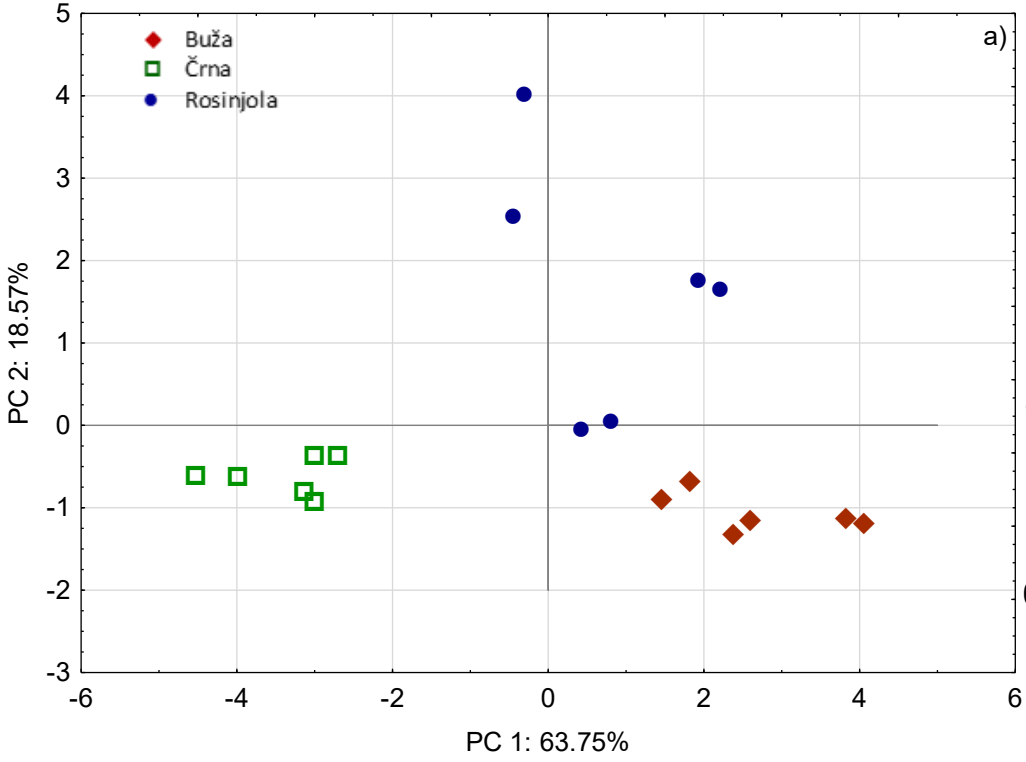


Δ5-avenasterol

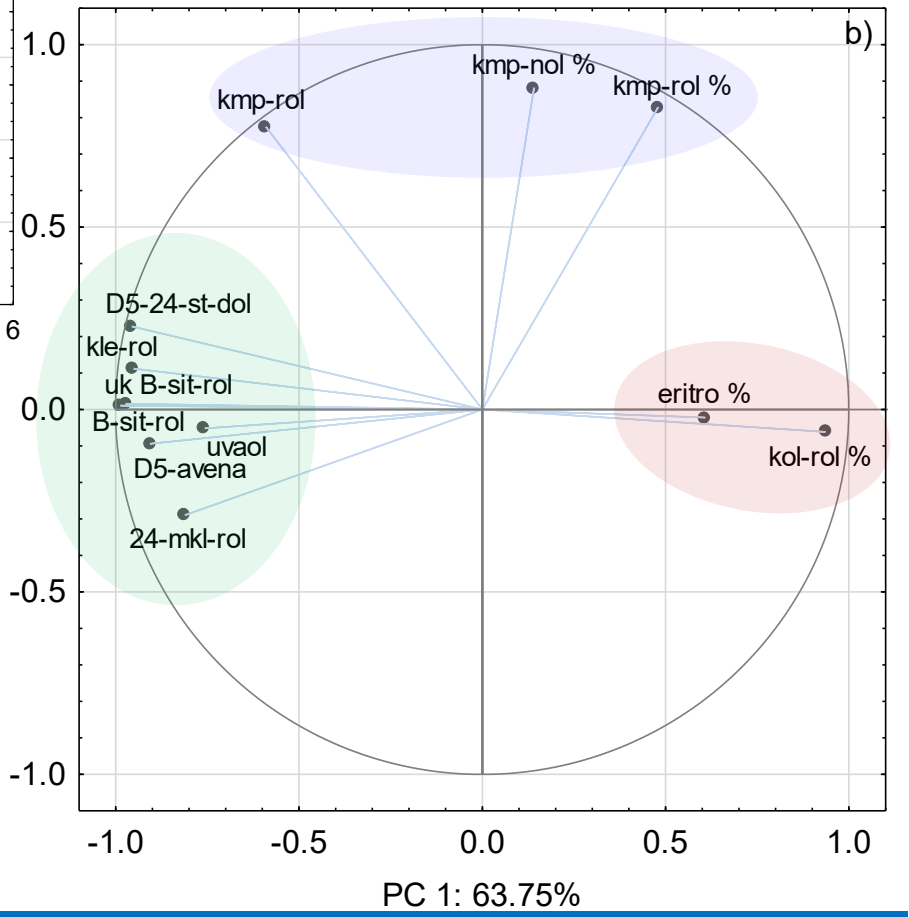


STEROLI | svježa ulja | sorta





- relativno uspješno razdvajanje s obzirom na sortu (12 varijabli – poč. od najviše *F*-vrijednosti)

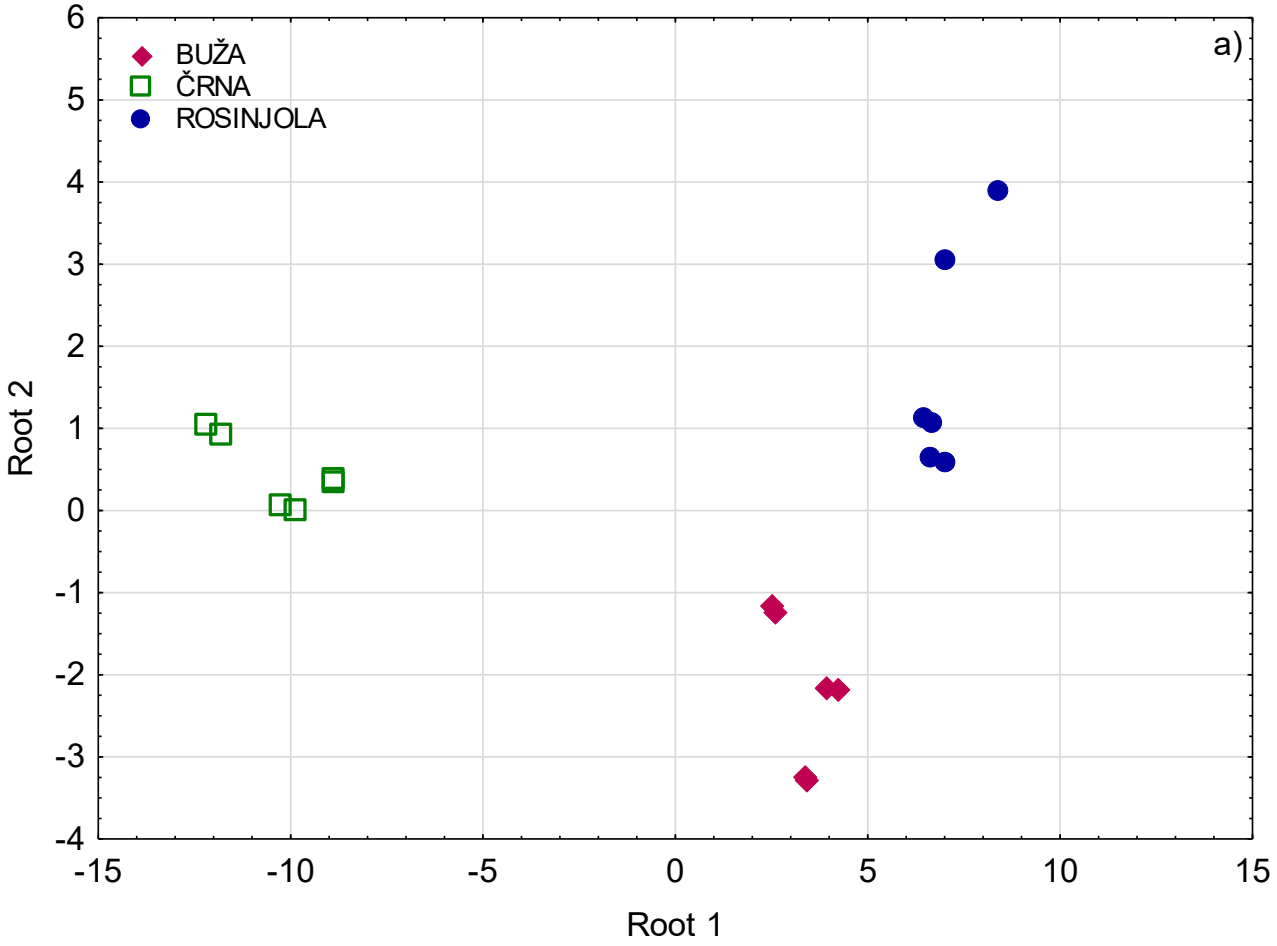


PC1 + PC2 = 82 %

PCA

STEROLI | svježa ulja | sorta





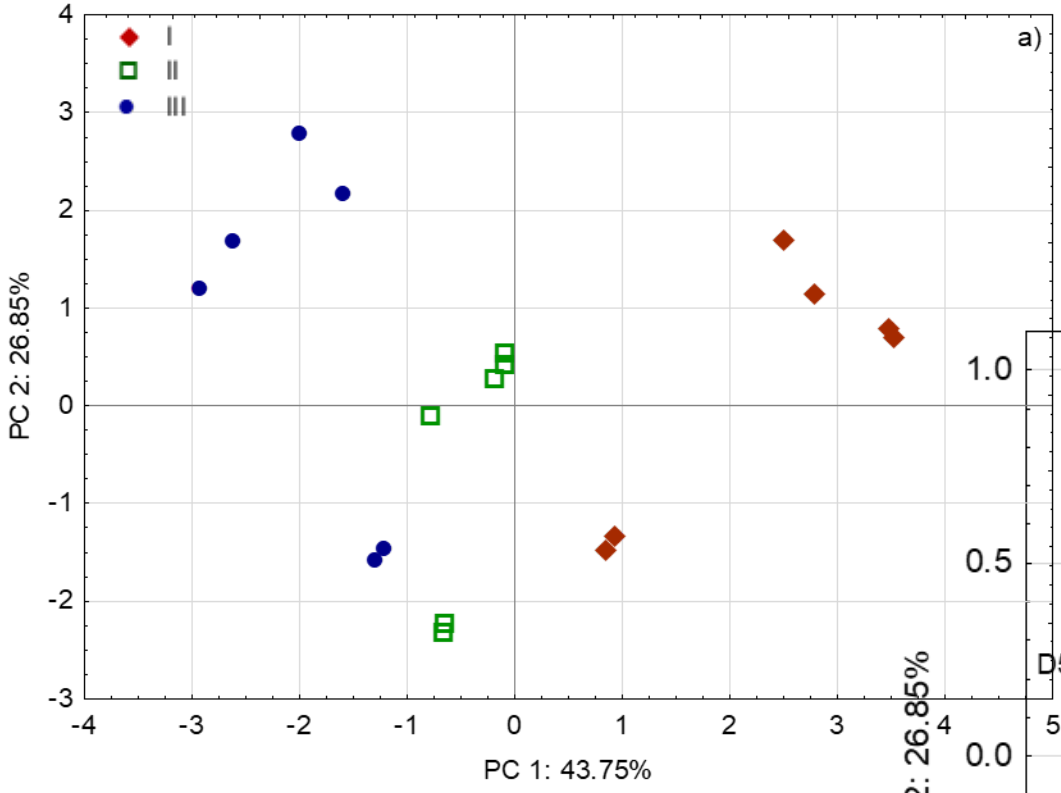
1. **β-sit-rol**
   → 78% (100% Č)
2. % **kmp-rol**
   → (100% B)
3. % **Δ5-avena**
   → 100 %

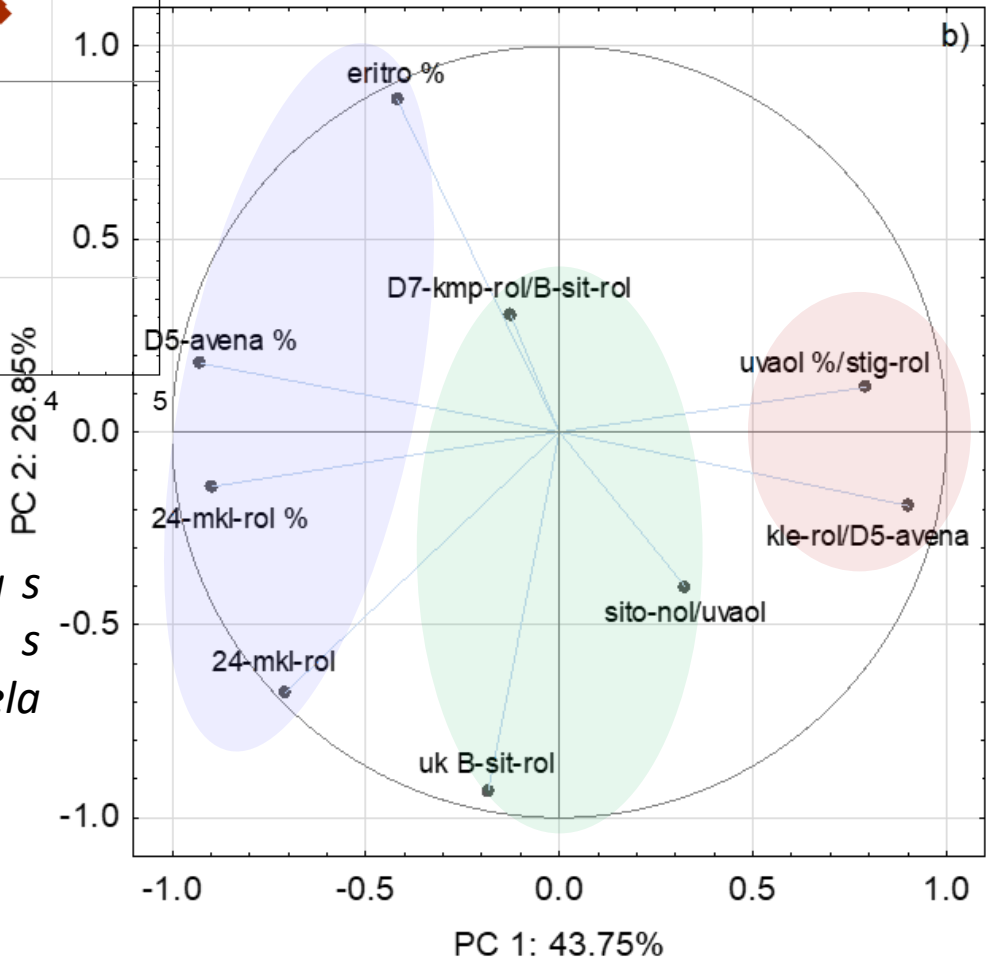
LDA

- 100 % točna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (3 varijable od 34)

STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti







PC1 + PC2 = 71 %

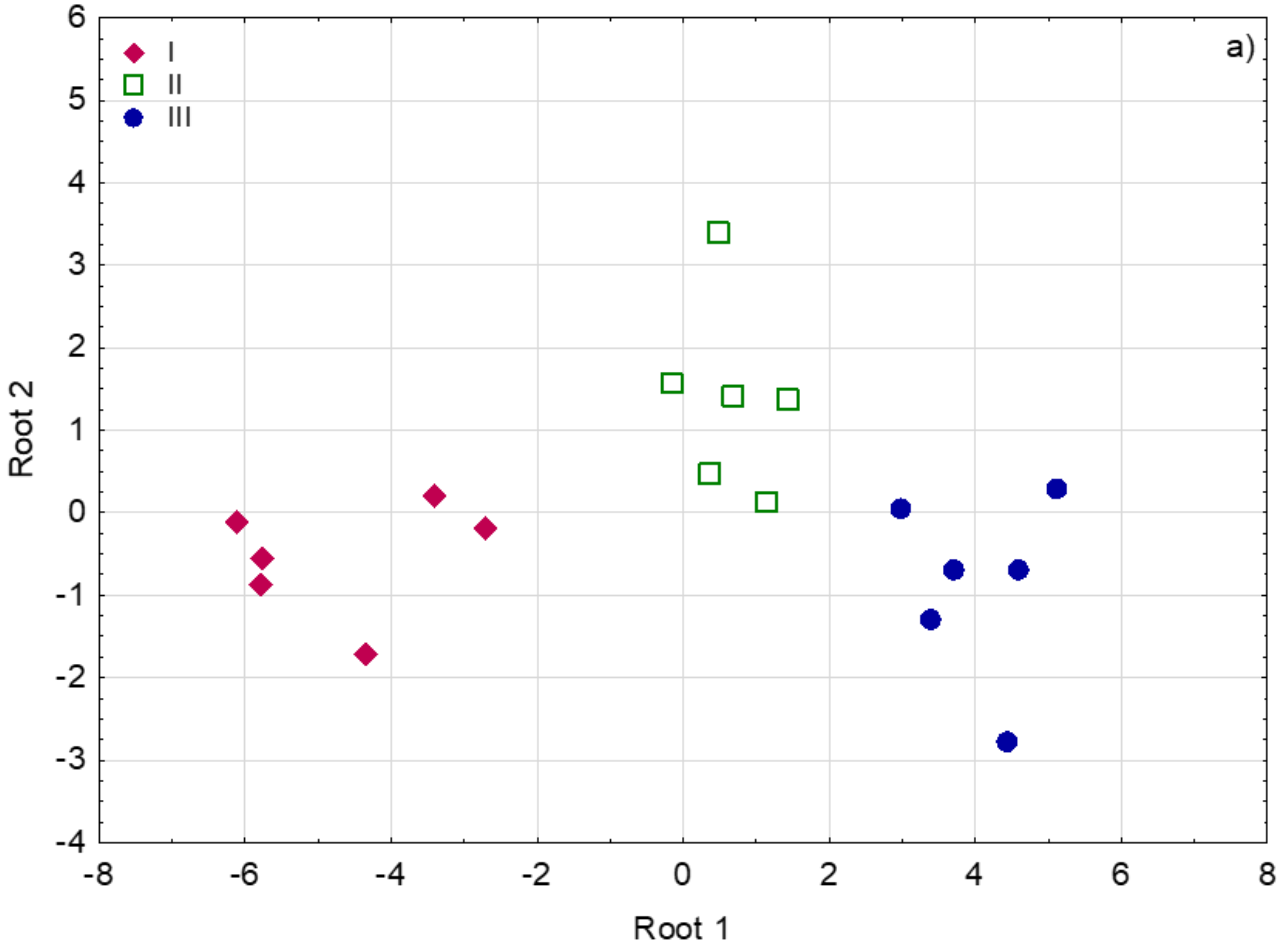
„Razdvajanje postignuto tek sa sterolima s najvišim F vrijednostima u kombinaciji s omjerima koncentracija ili relativnih udjela određenih sterola i triterpenskih diola."

PCA

STEROLI | svježa ulja | stupanj zrelosti



- osim *c* i *%* sterola, uključeni i omjeri u model



1. 24-mkl-rol
   → (100% I)
2. eritro
   → (100% II)
3. % uvaol
4. sito-nol/uvaol
   → (100%)
5. % 24-mkl-rol

LDA • **100 %** ispravna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (5 varijabli od 34)



→ USPJEŠNO RAZLIKOVANJE SORTA / STUPANJ ZRELOSTI
UNATOČ ČINJENICI DA POSTOJI MEĐUOVISNOST DJELOVANJA



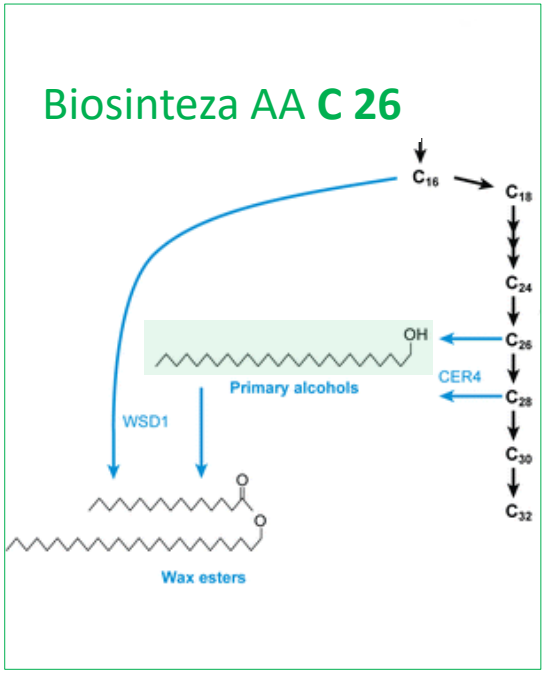
UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA STEROLE I TRITERPENSKE DIOLE U SVJEŽIM ULJIMA

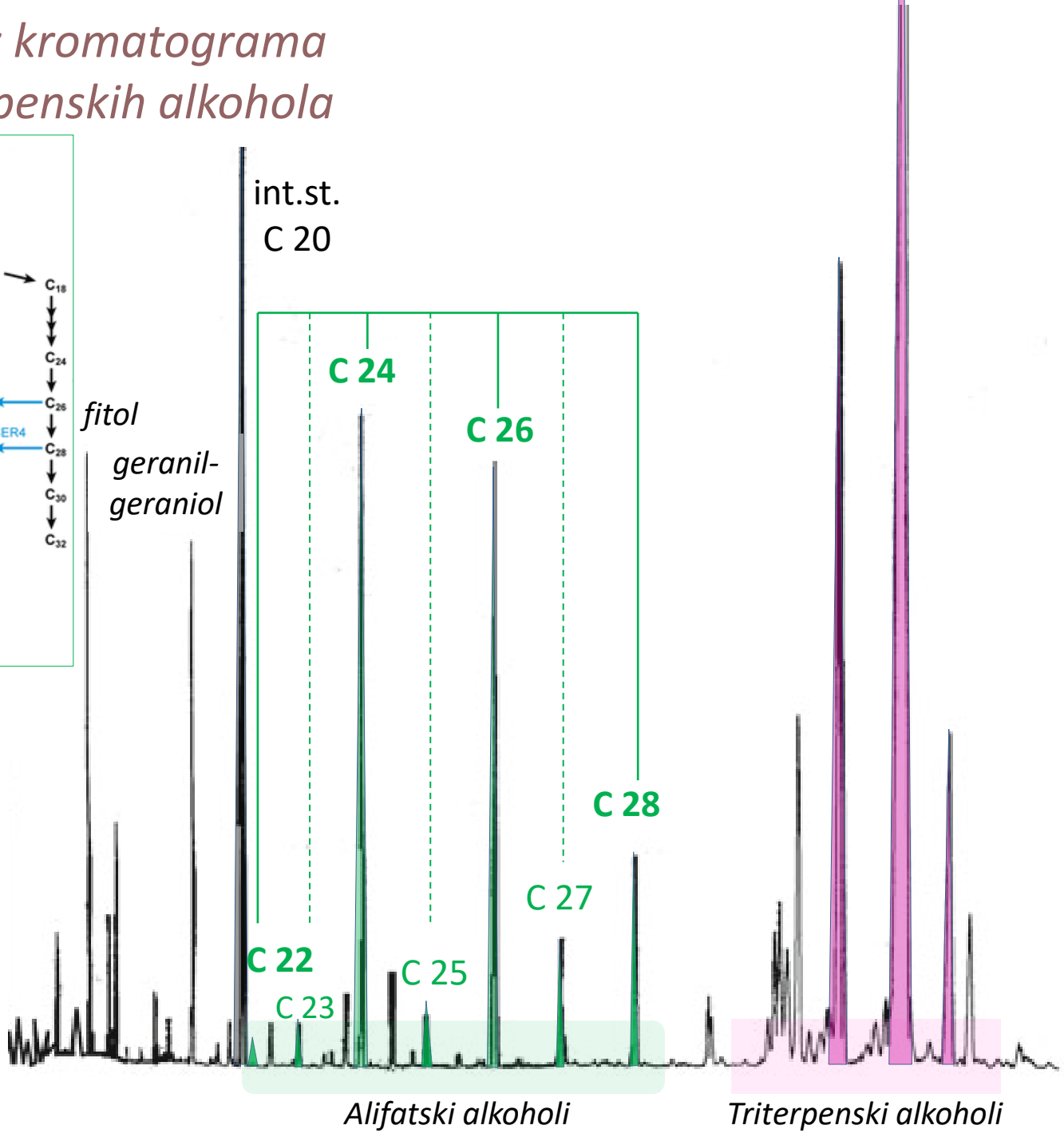




UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA ALIFATSKE ALKOHOLE U SVJEŽIM ULJIMA

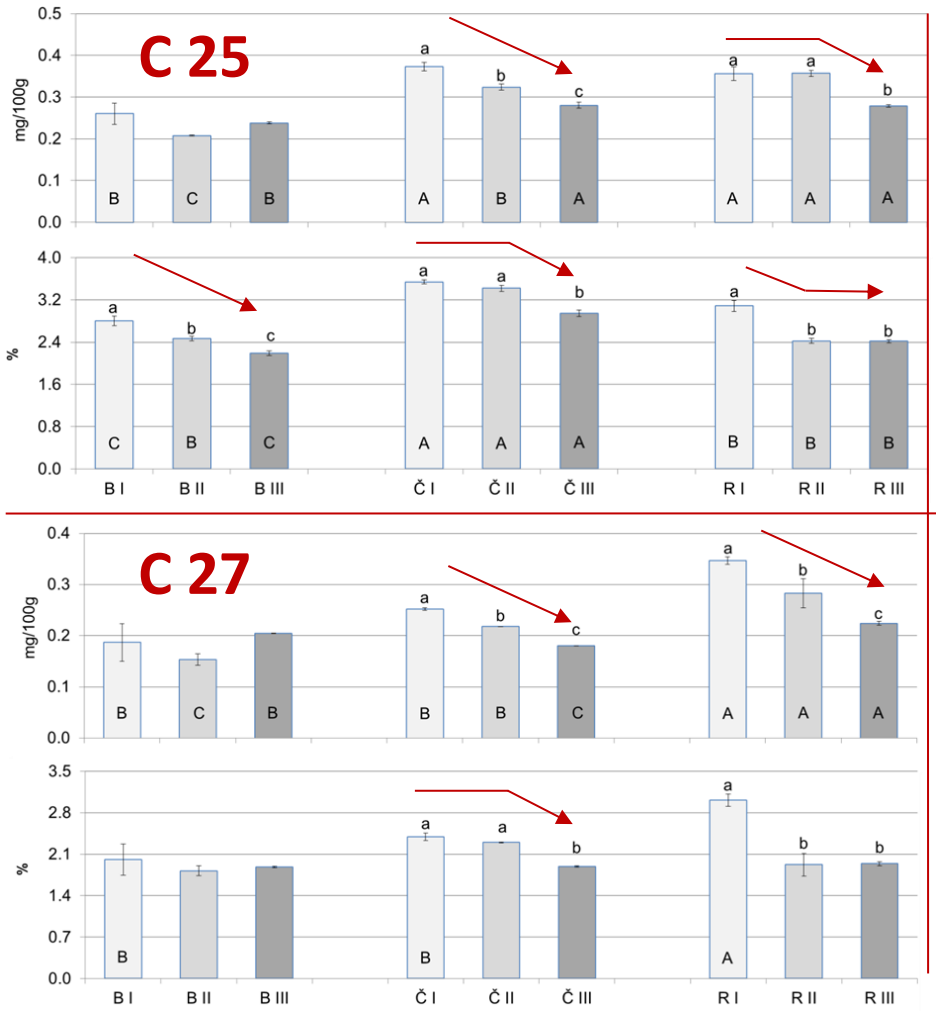
Simbolički prikaz kromatograma alifatskih i triterpenskih alkohola

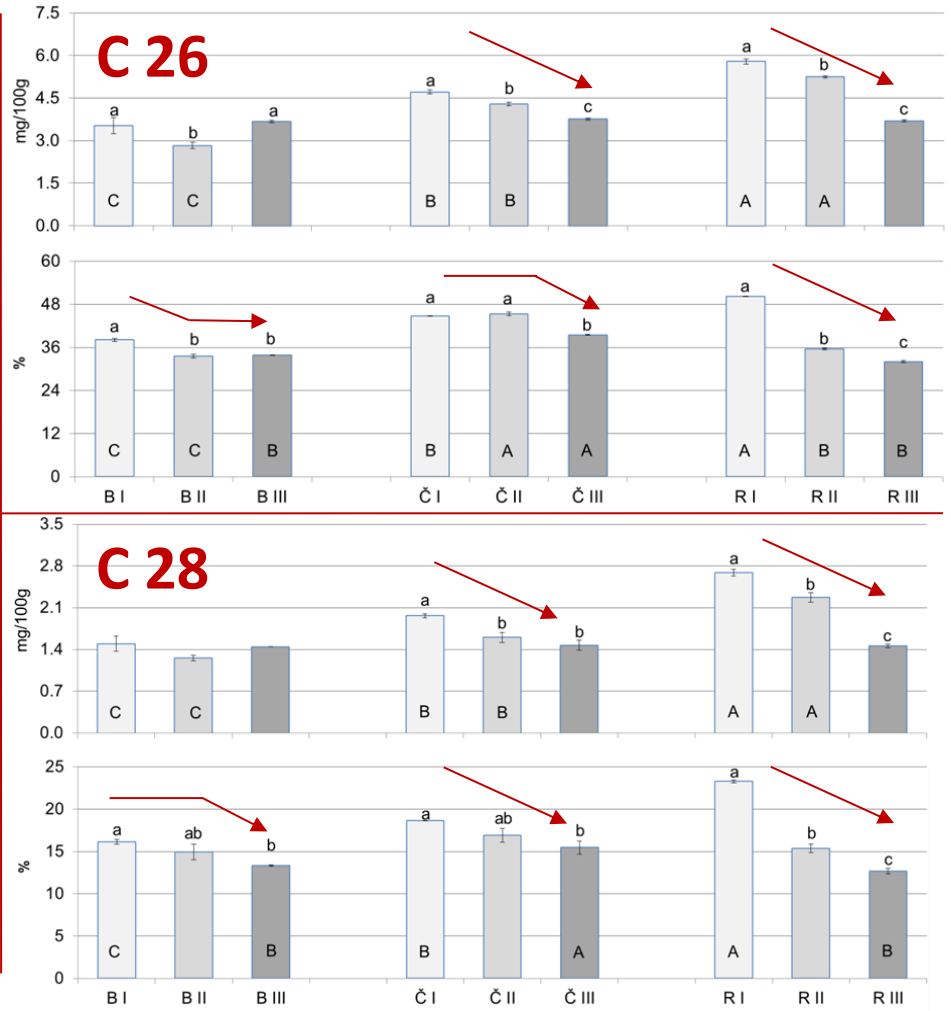




ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

- AA dužeg lanca - sniženje koncentracija i relativnih udjela (Č, R)

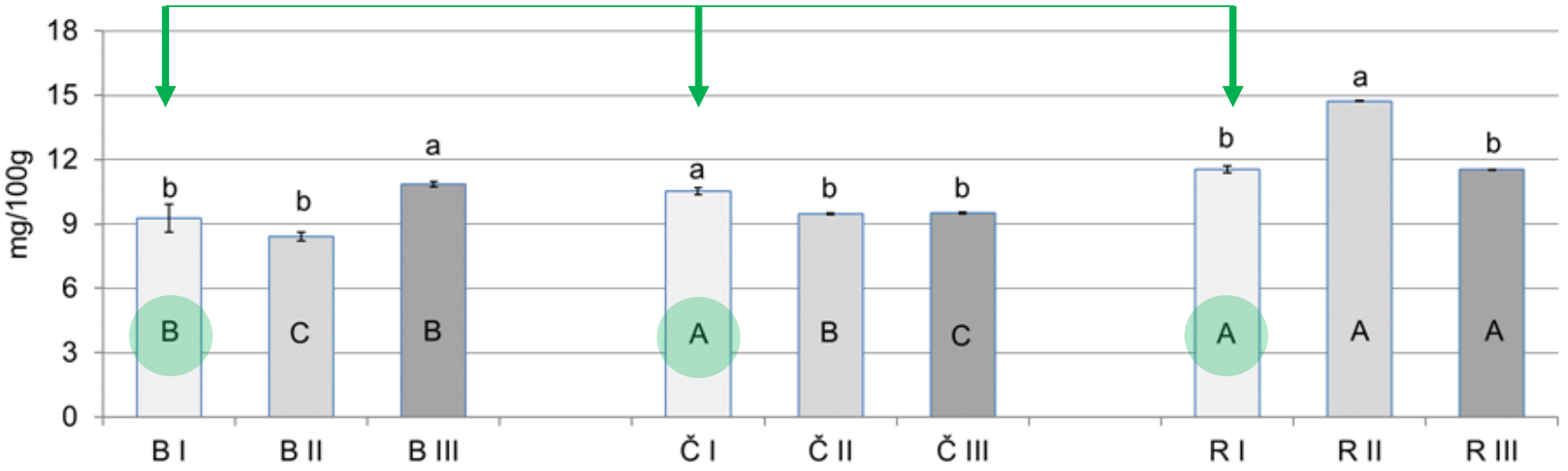




ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta

ukupni alifatski alkoholi

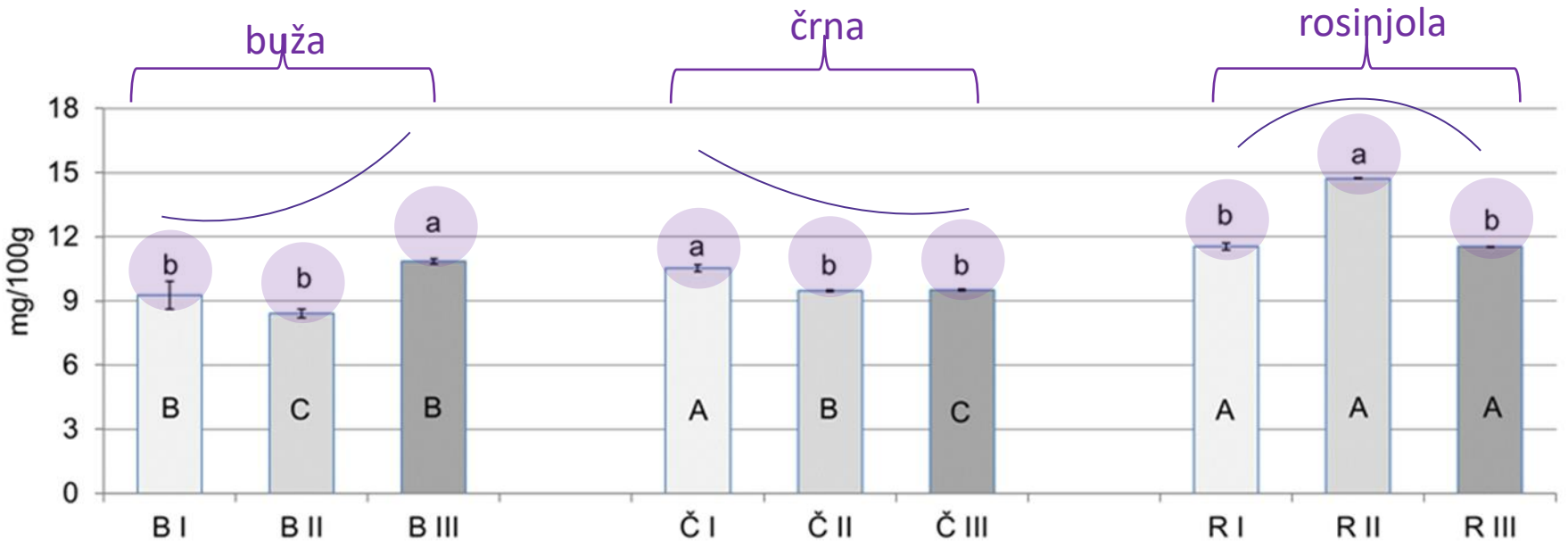
- ***c*** (uk. AA): **R > Č > B** (osim Č I = RI)



ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

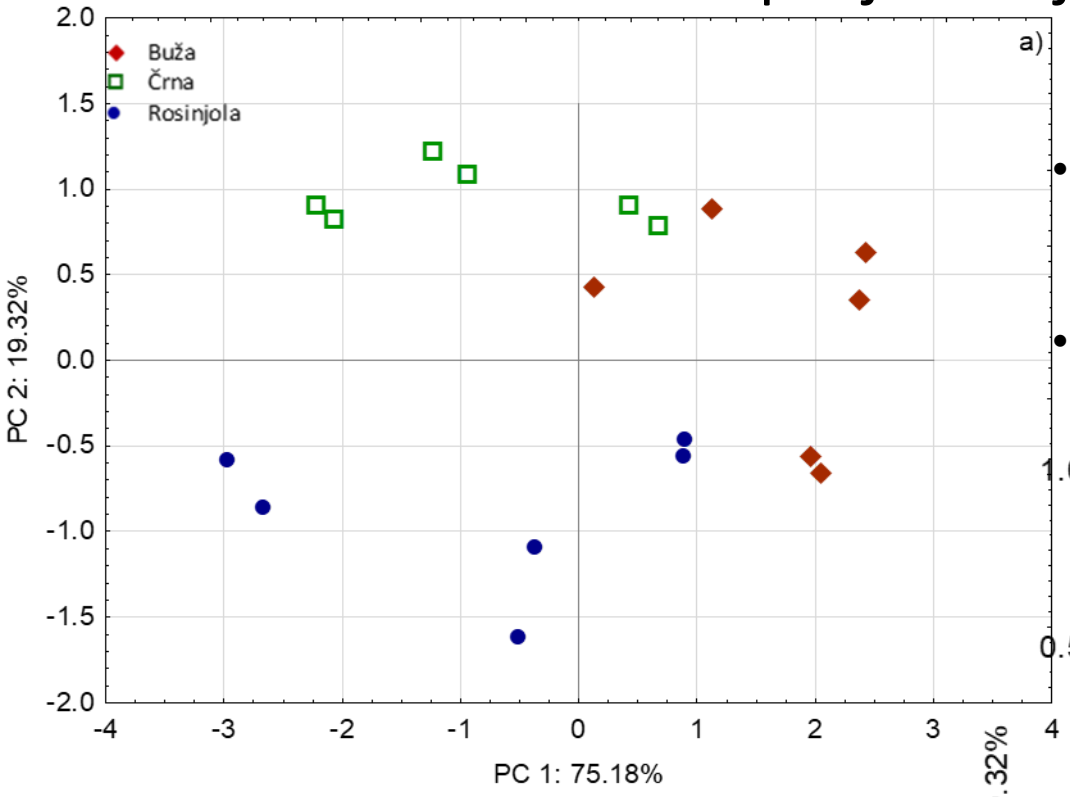
ukupni alifatski alkoholi

- ***c*** (uk. AA): **R > Č > B** (osim Č I = RI)
- dozrijevanje: različito za svaku sortu



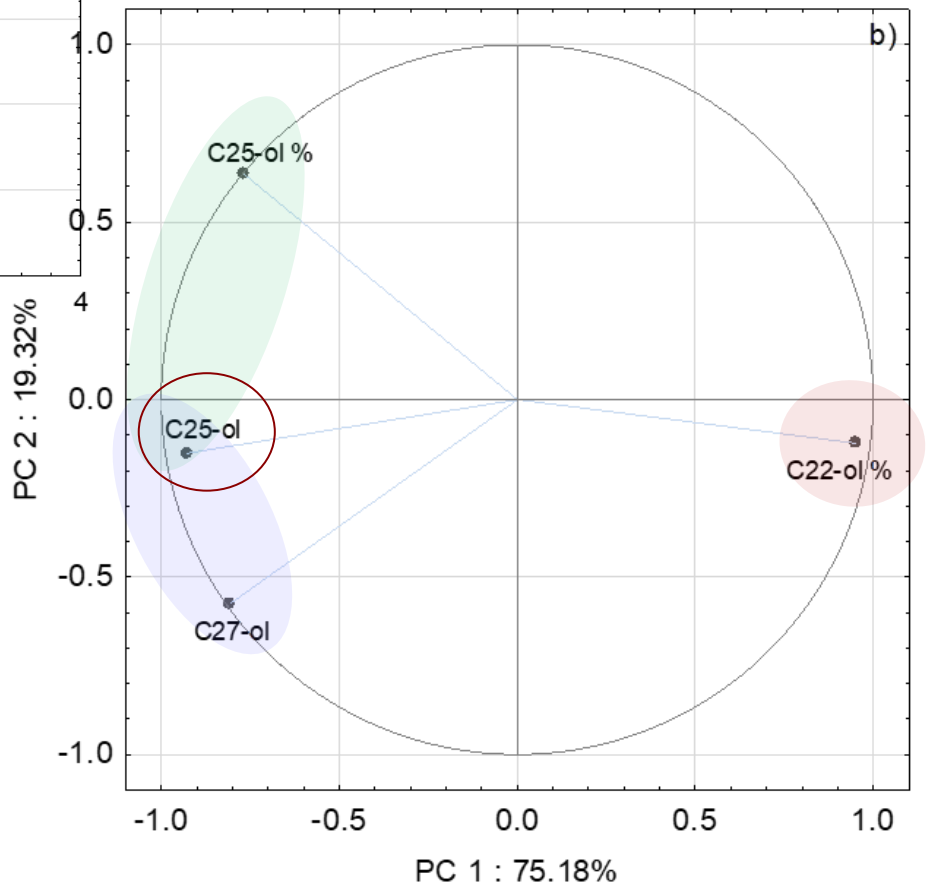
ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta





- relativno uspješno, ali ne potpuno razdvajanje s obzirom na sortu
- 4 varijable

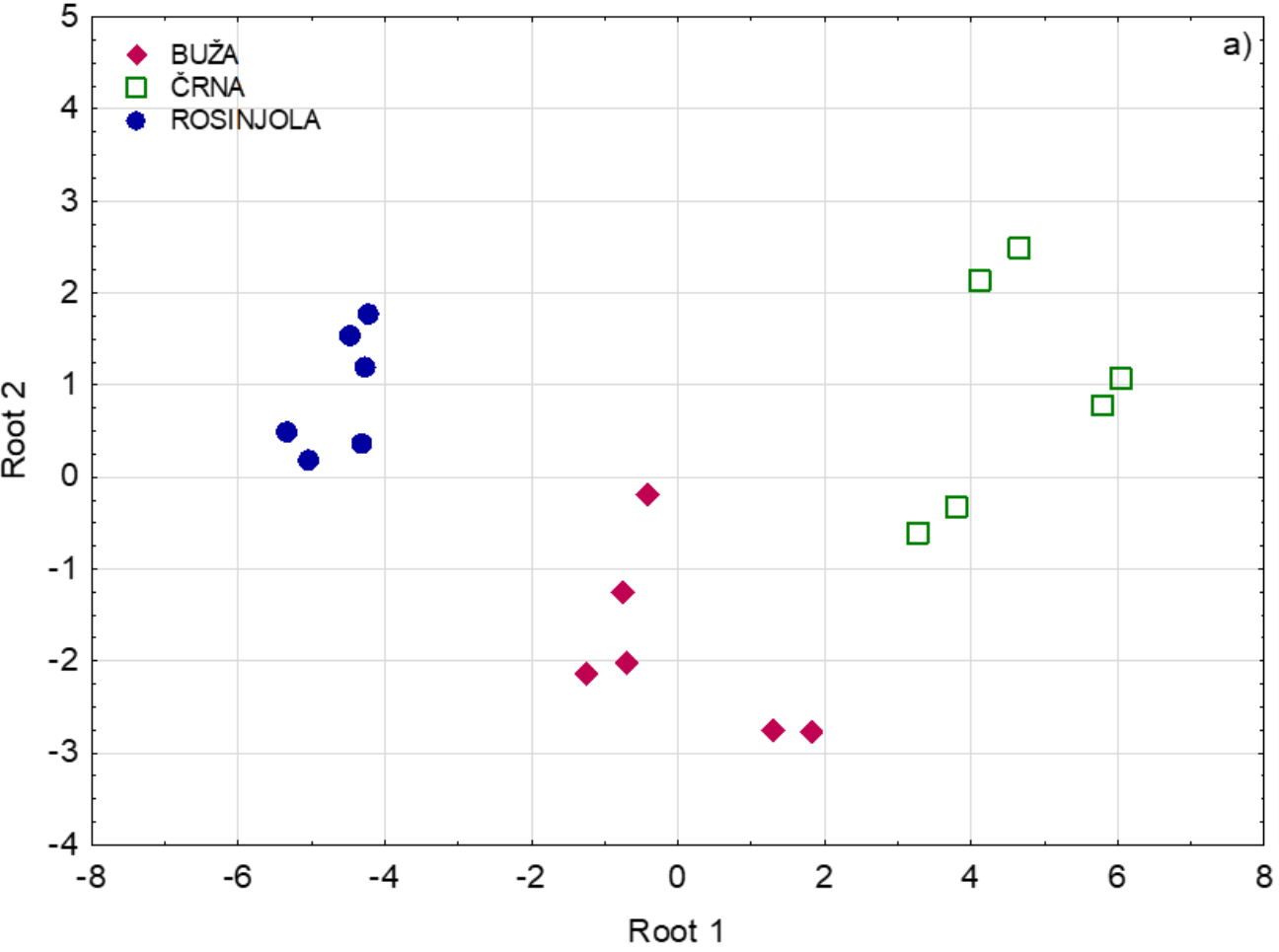
PC1 + PC2 = 95 %



PCA

ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta



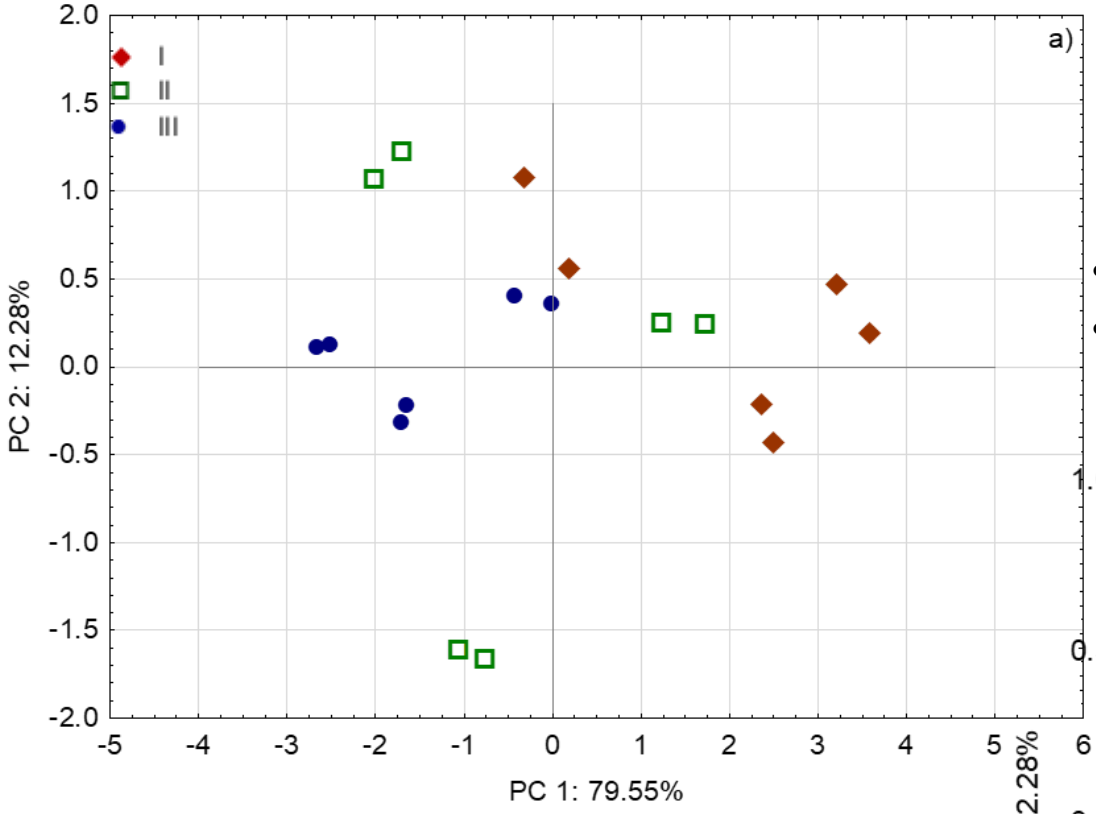


1. C 25
   → (100% B)
2. % C 25
   → (100% Č)
3. C 22
   → (100%)
4. C 24

LDA • **100 %** ispravna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (4 varijable od 15)

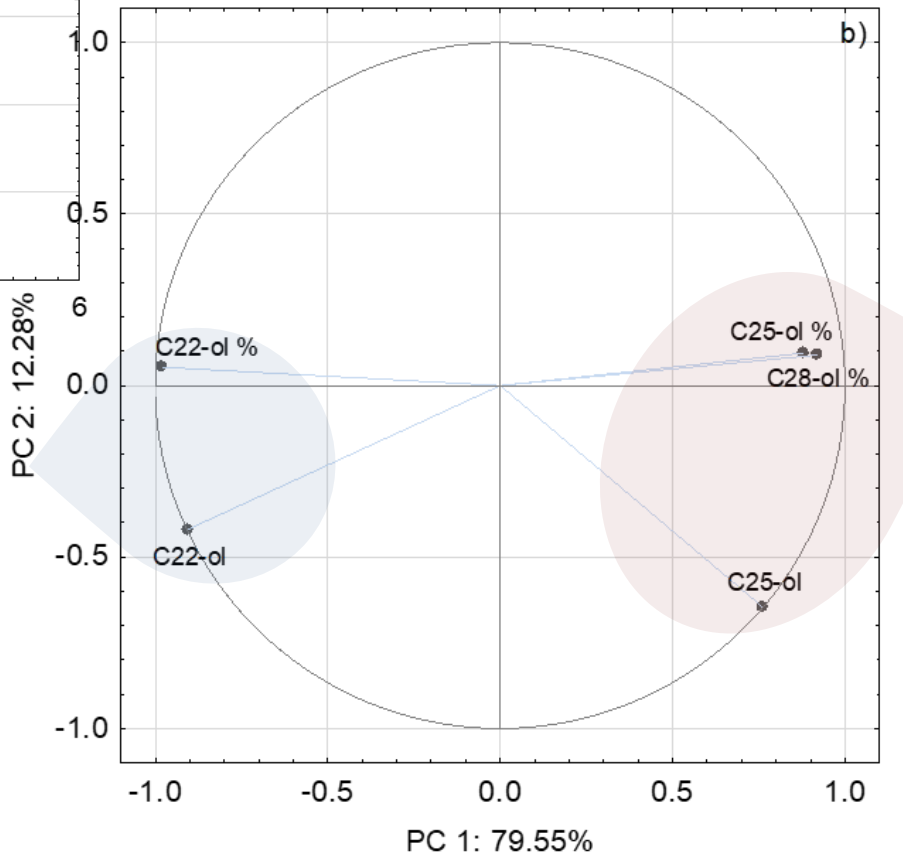
ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti





- nepotpuno razdvajanje
- I i III razdvojeni po PC1, 5 varijabli

PC1+PC2=92%

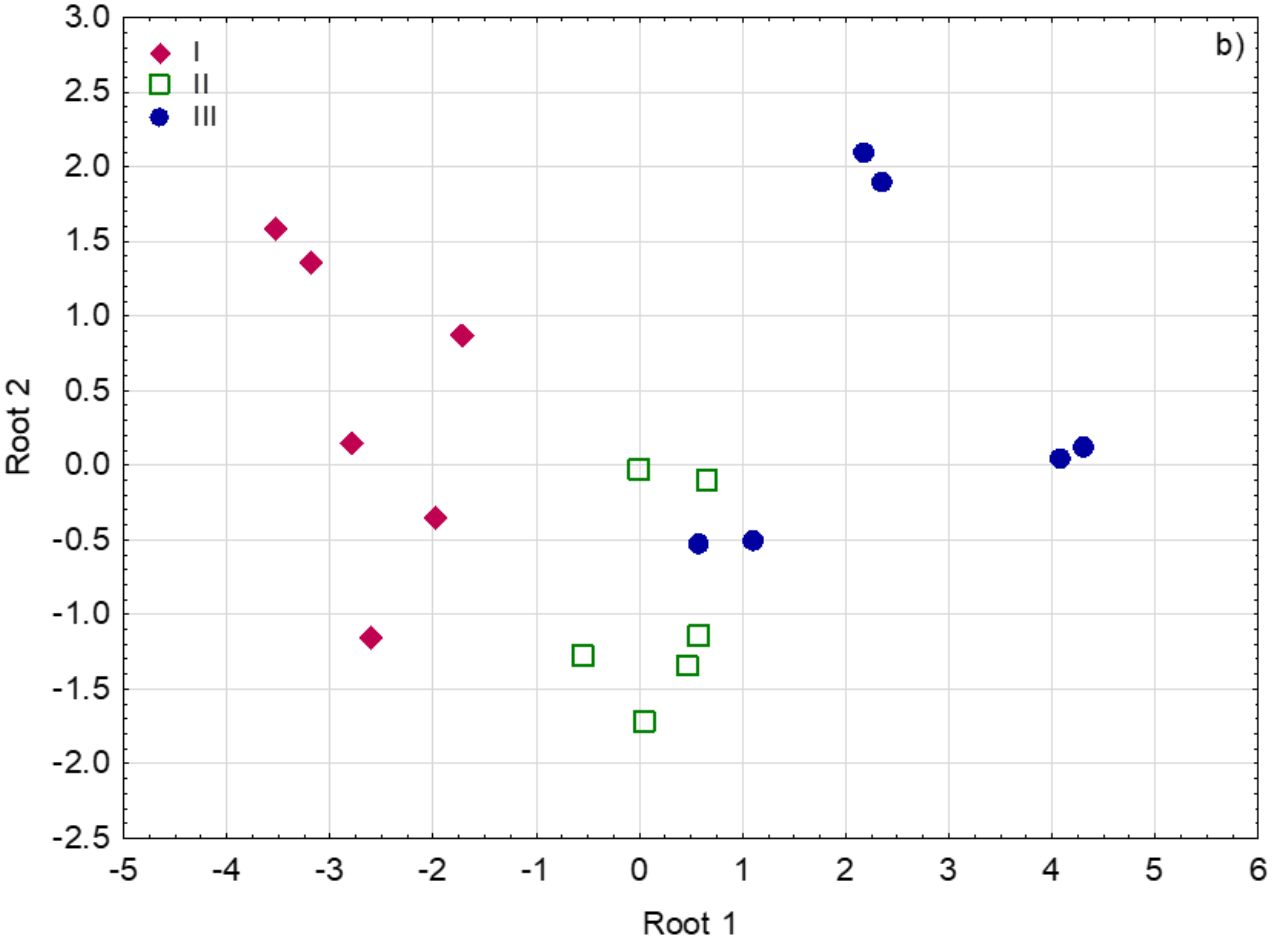


PCA

ALIFATSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti



- relativno uspješni u razlikovanju MU po stupnju zrelosti



model odabrao 5 varijabli:

1. % C 28
2. % C 23
   → (100% I)
3. % C 22
   → (100% II)
4. C 25
5. % C 26
   → (89%)

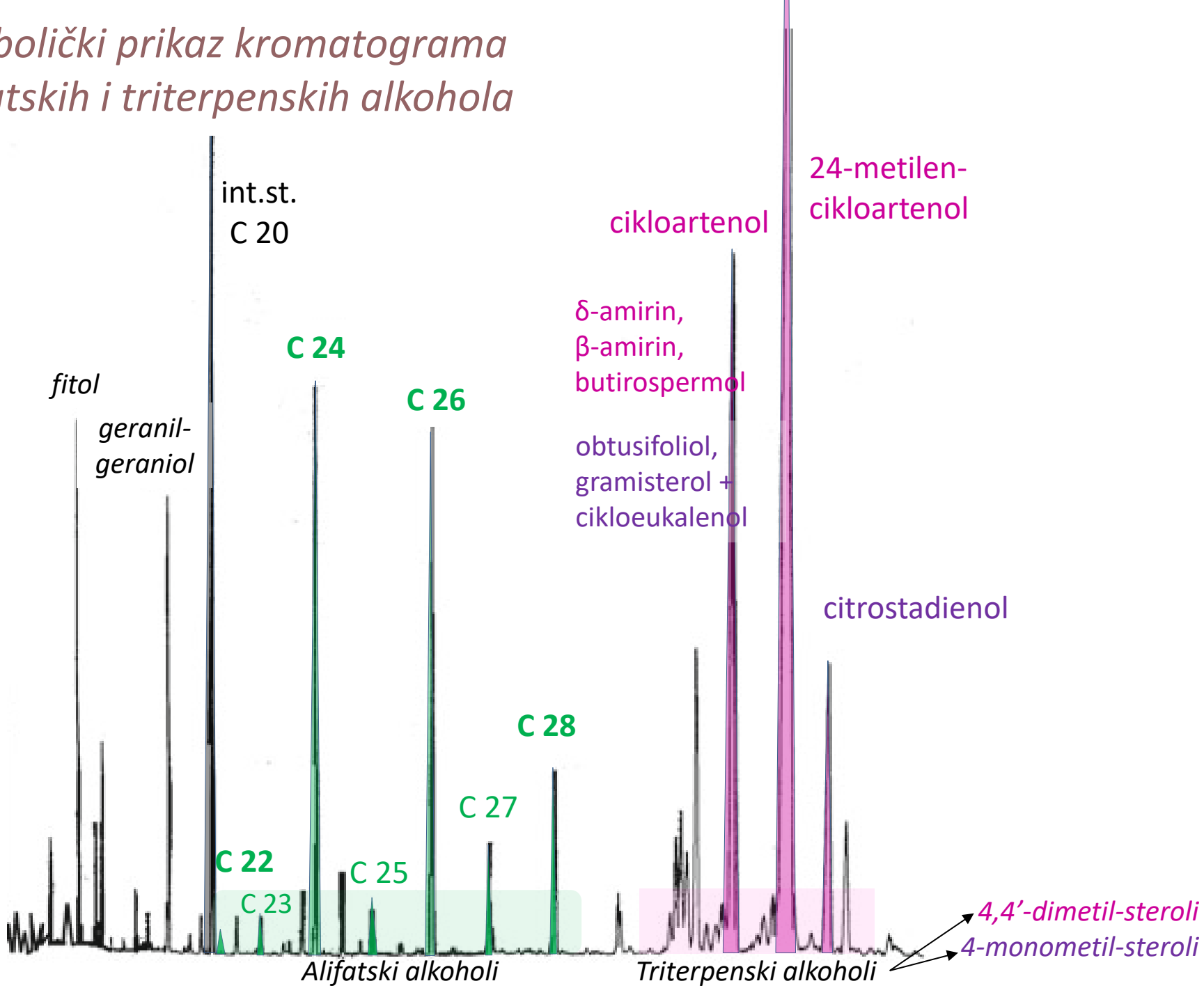
LDA • **89 %** ispravna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (14 varijabli)

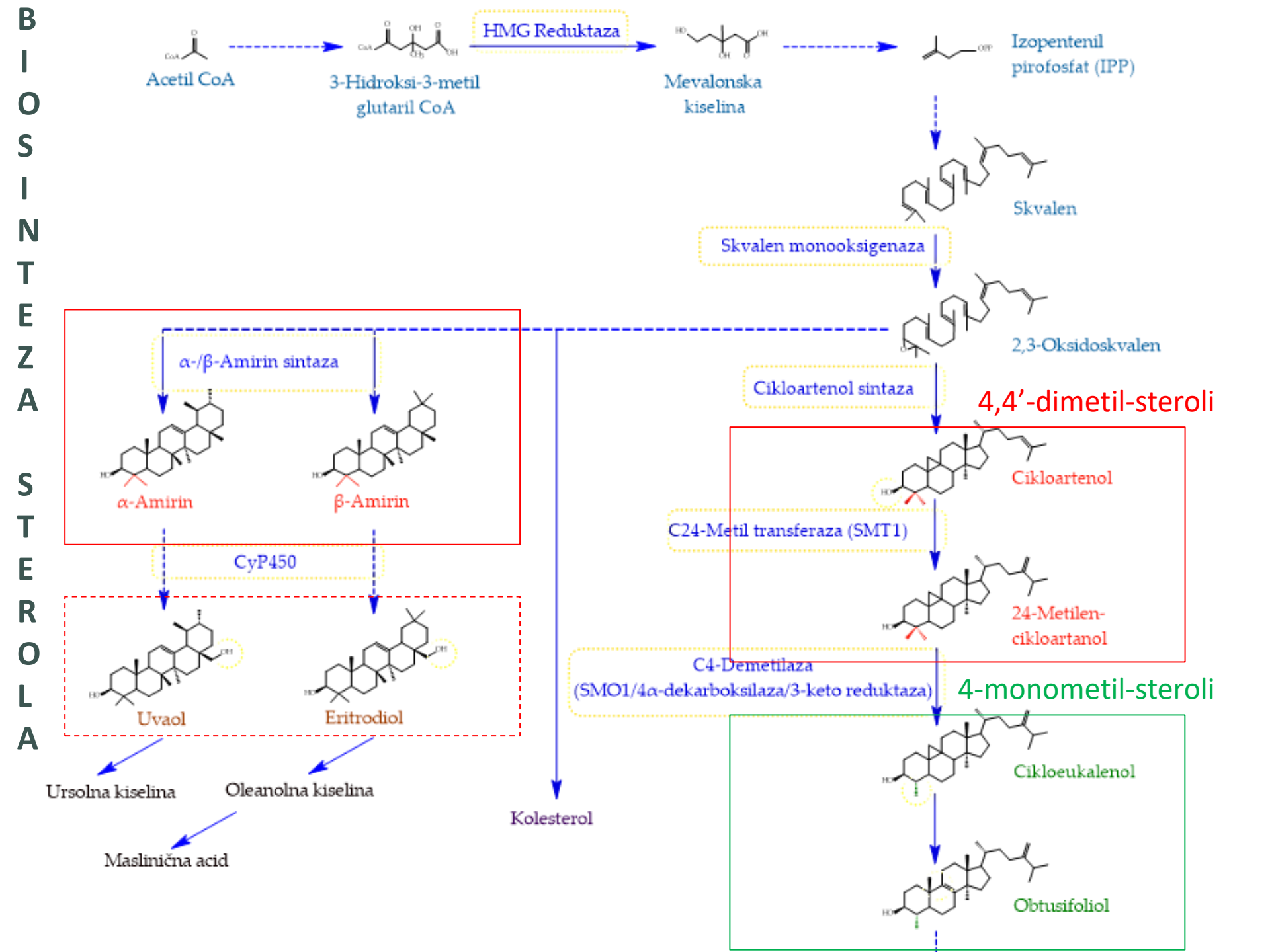




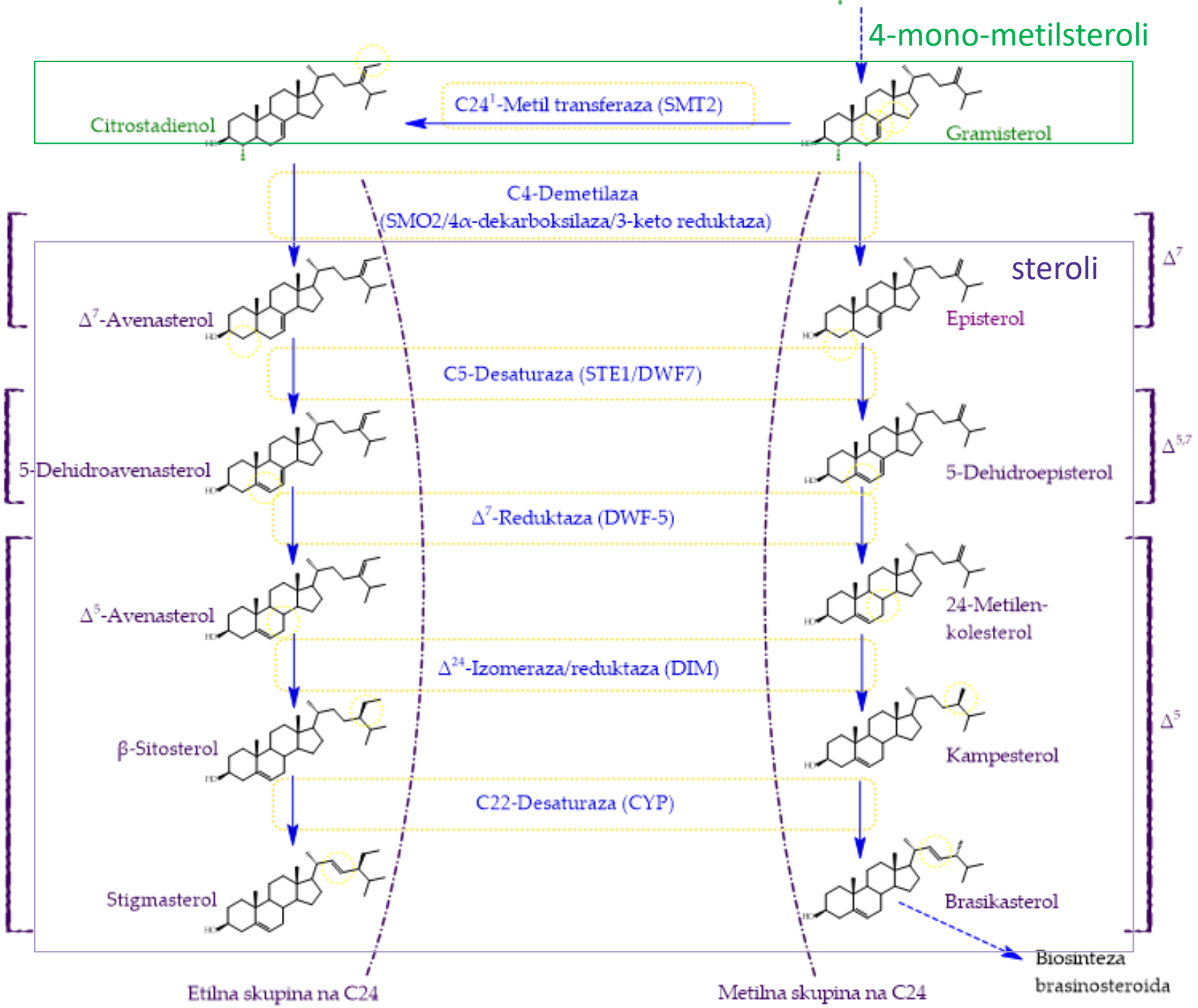
UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA TRITERPENSKE ALKOHOLE U SVJEŽIM ULJIMA

Simbolički prikaz kromatograma alifatskih i triterpenskih alkohola




BIOSINTEZA STEROLA
Acetil CoA
3-Hidroksi-3-metil glutaril CoA
HMG Reduktaza
Mevalonska kiselina
Izopentenil pirofosfat (IPP)
Skvalen
Skvalen monooksigenaza
2,3-Oksidoskvalen
α-/β-Amirin sintaza
Cikloartenol sintaza
4,4'-dimetil-steroli
α-Amirin
β-Amirin
Cikloartenol
C24-Metil transferaza (SMT1)
CyP450
24-Metilen-cikloartanol
C4-Demetilaza (SMO1/4α-dekarboksilaza/3-keto reduktaza)
4-monometil-steroli
Uvaol
Eritrodiol
Cikloeukalenol
Ursolna kiselina
Oleanolna kiselina
Kolesterol
Obtusifoliol
Maslinična acid

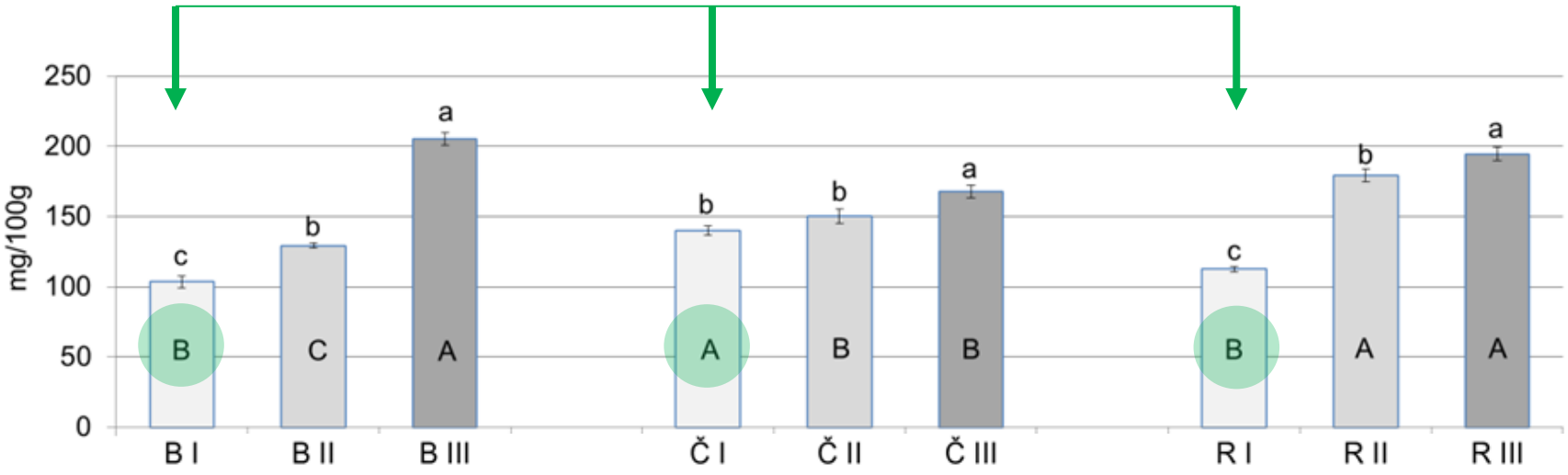
BIOSINTEZA STEROLA



TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta

ukupni triterpenski alkoholi

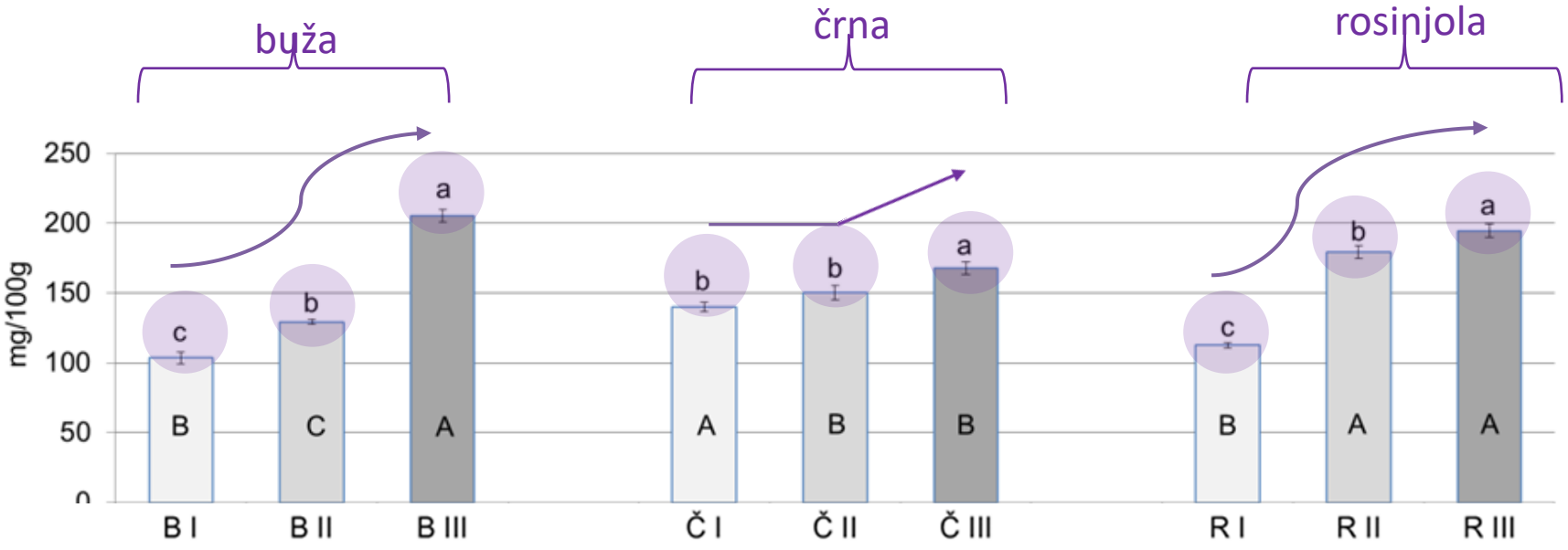
- ***c*** (uk. TT): **različito za svaki st.zrelosti**
  R II, III > Č II , III; B II , III



TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

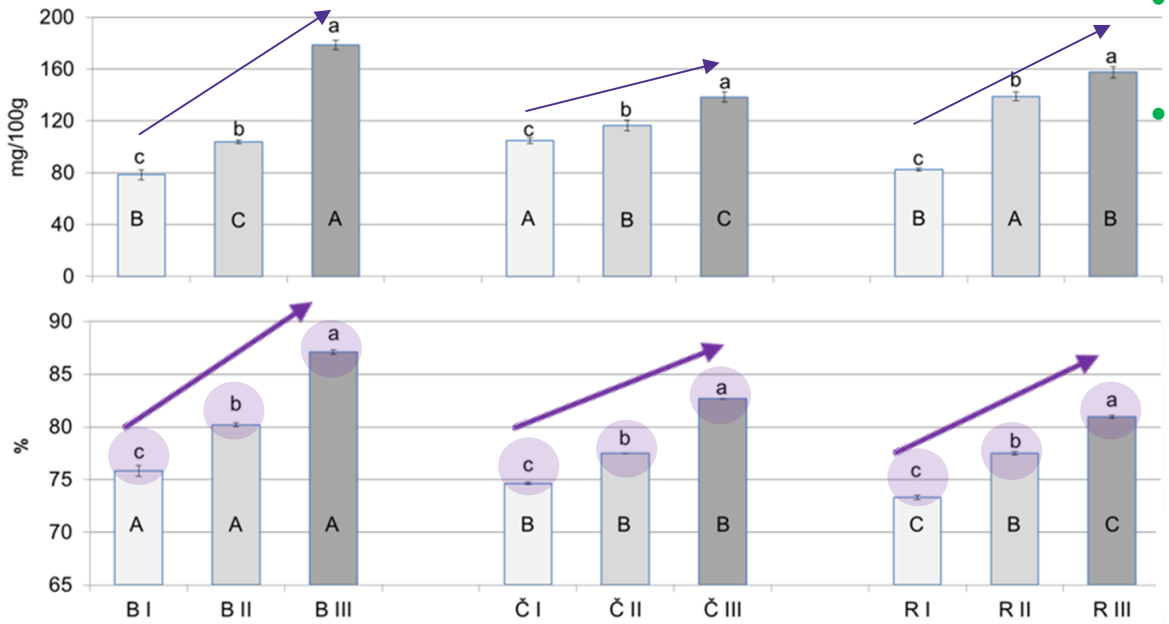
ukupni triterpenski alkoholi

- **porast konc. tijekom dozrijevanja**



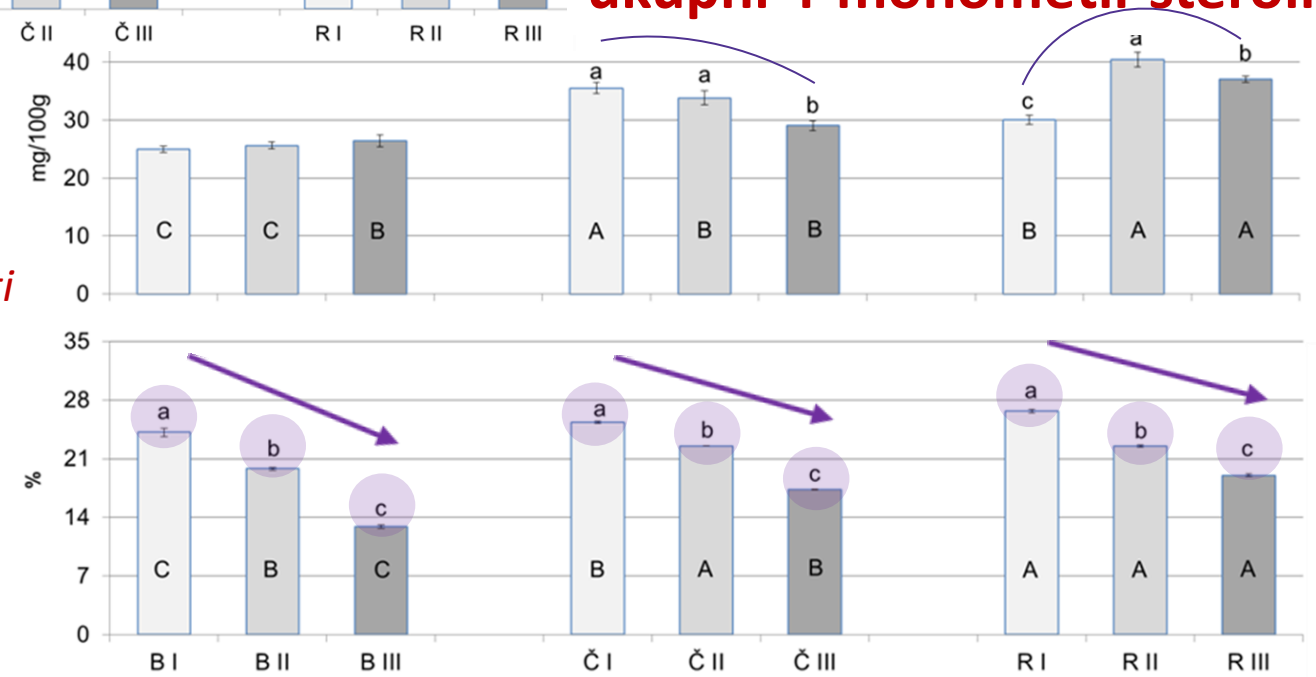
TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti

ukupni 4,4’-dimetil-steroli



- sorta: ***c*** (uk. 4,4’-dm-steroli): *različito u svakom st. zrelosti*
- sorta: ***%*** (uk. 4,4’-dm-steroli): **B >** Č; R

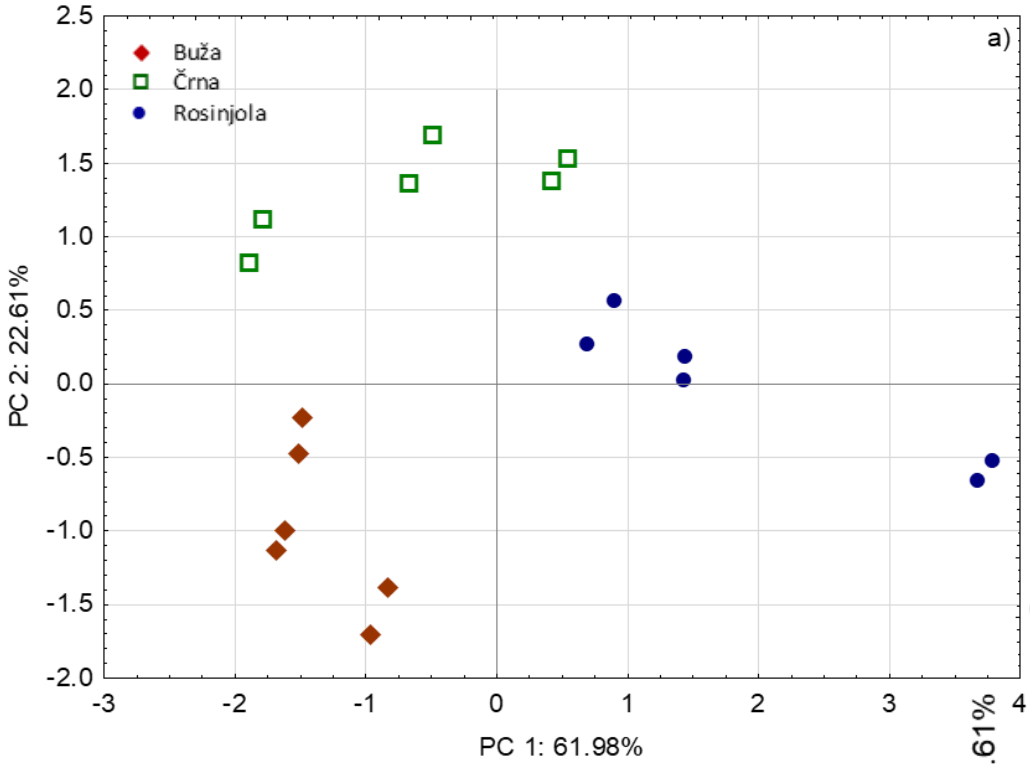
ukupni 4-monometil-steroli



- sorta: ***c*** (uk. 4-mm-steroli): *različito u svakom st. zrelosti*
- sorta: ***%*** (uk. 4-mm-steroli): **B <** Č; R

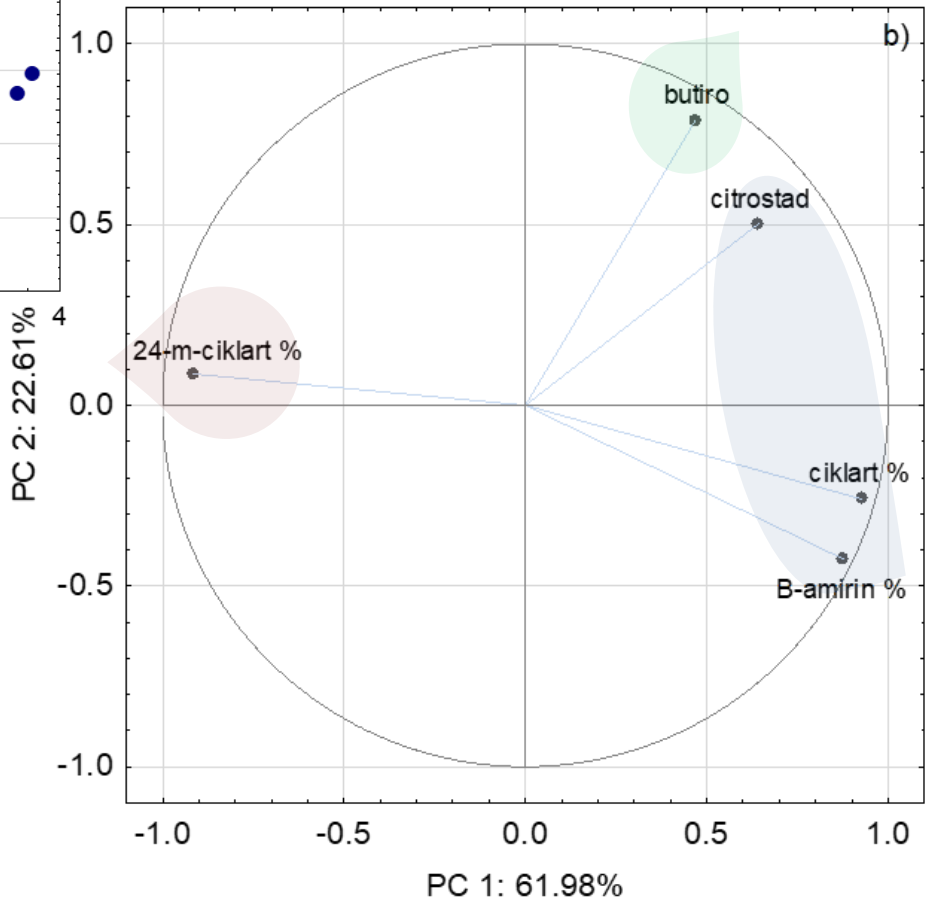
TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta





PC1 + PC2 = 85 %

- relativno uspješno razdvajanje (5 varijabli)

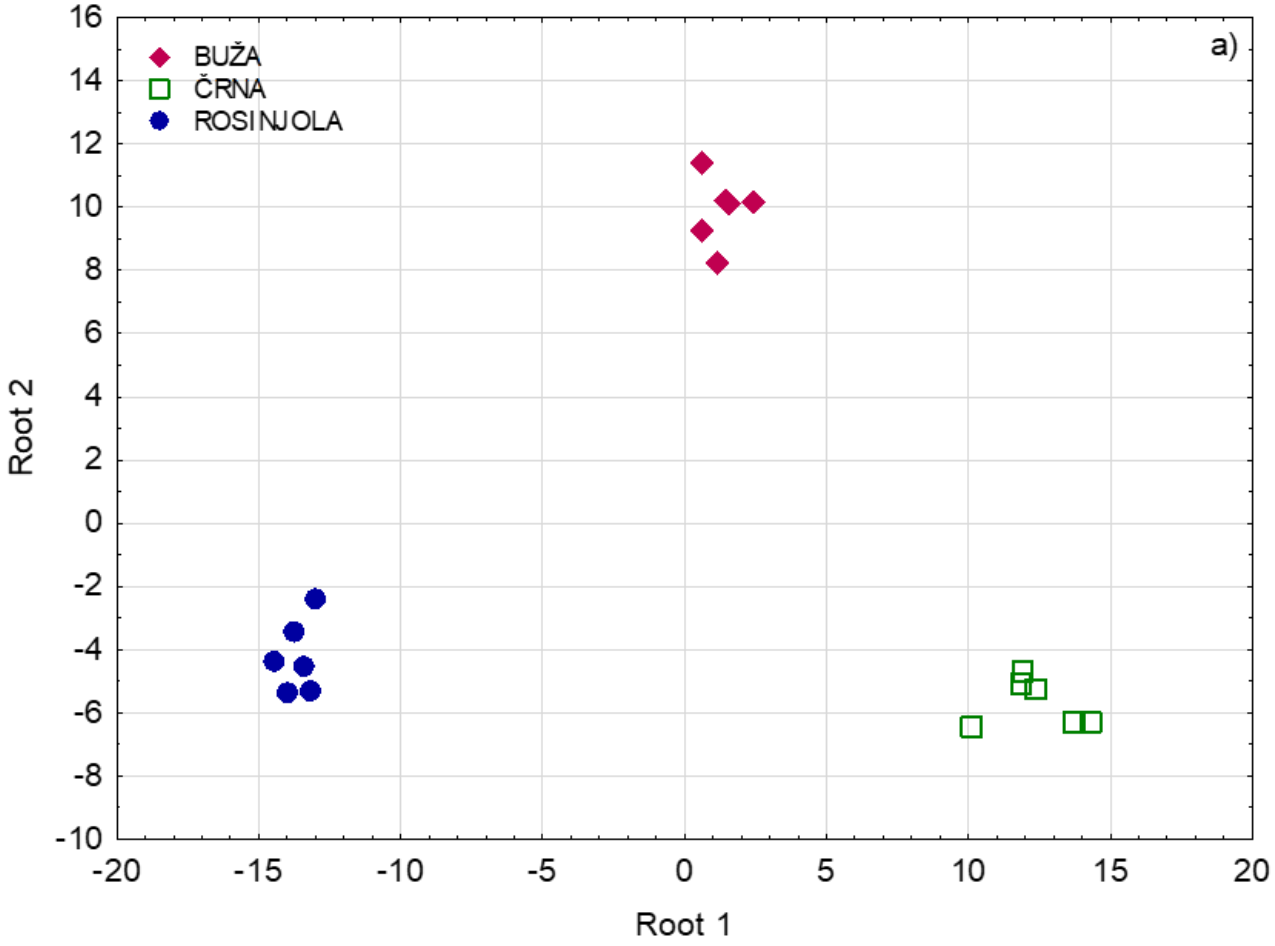


PCA

TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | sorta



- vrlo uspješan model za uspješnu klasifikaciju prema sorti, neovisno o zrelosti



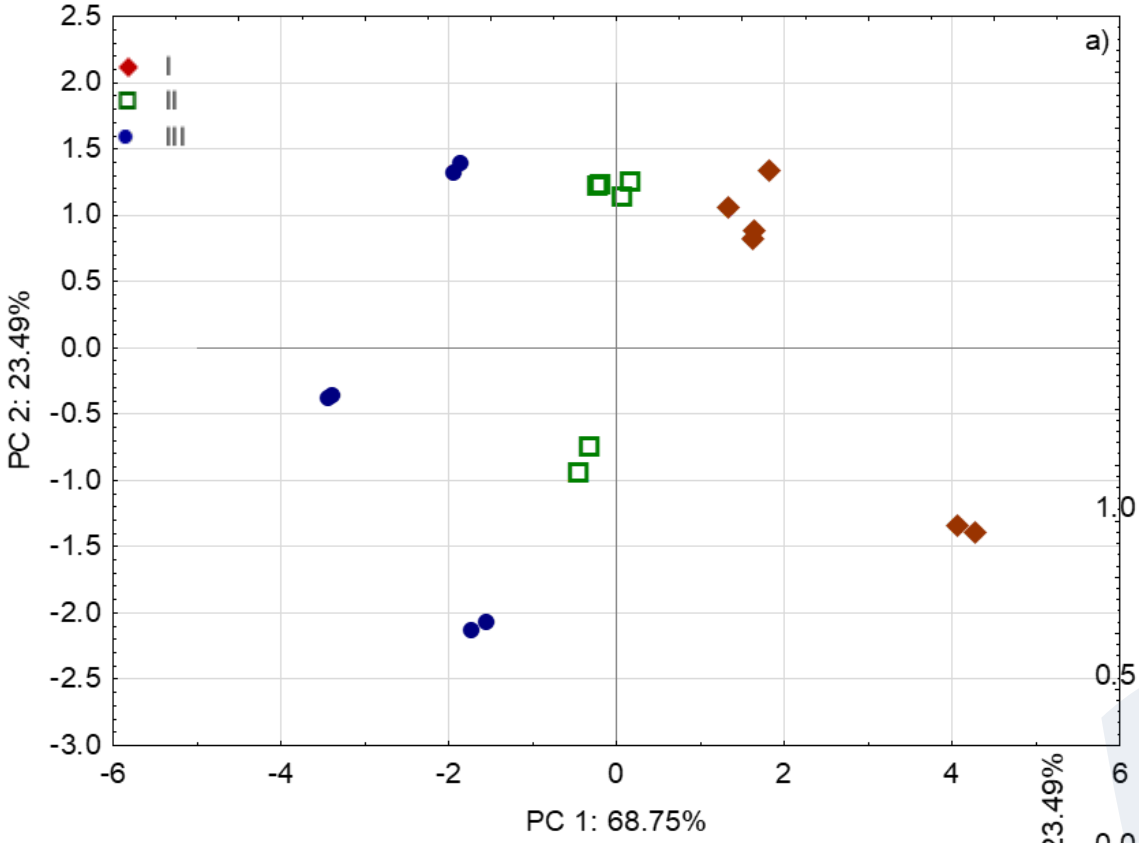
1. % β-amirin
   → 88,9%
   (→ 100% B i R)
2. % butirospermol
   → (100%)
3. % δ-amirin
4. % citrostadienol
5. β-amirin

LDA

- **100 %** ispravna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (5 varijabli od 16)

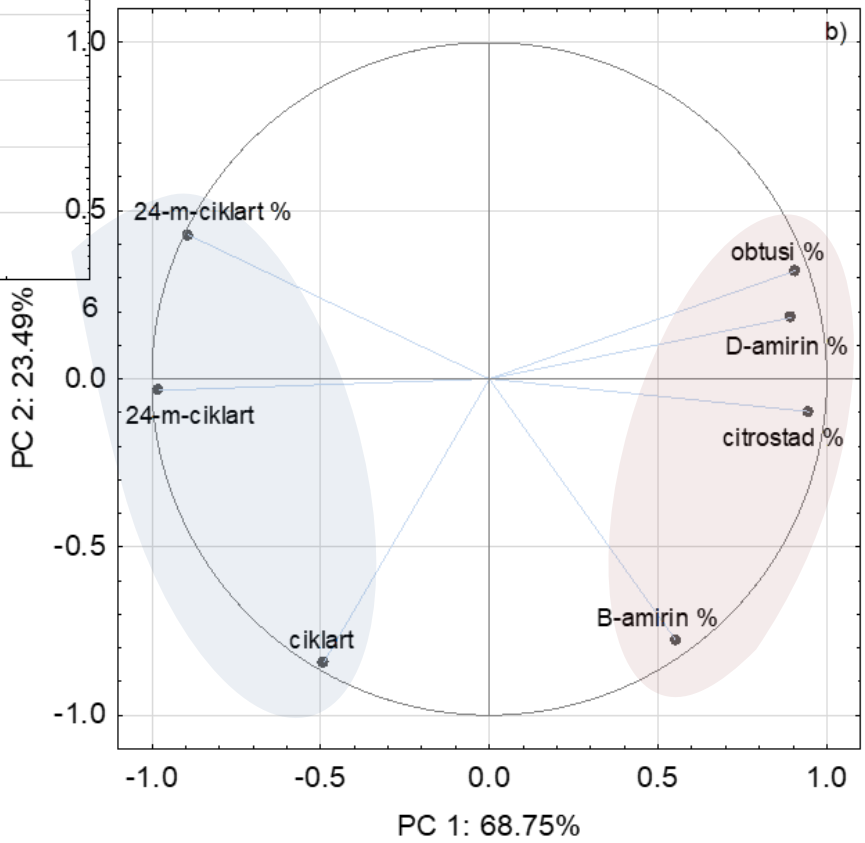
TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti





- relativno uspješno razdvajanje, (uzduž PC1; 7 varijabli)

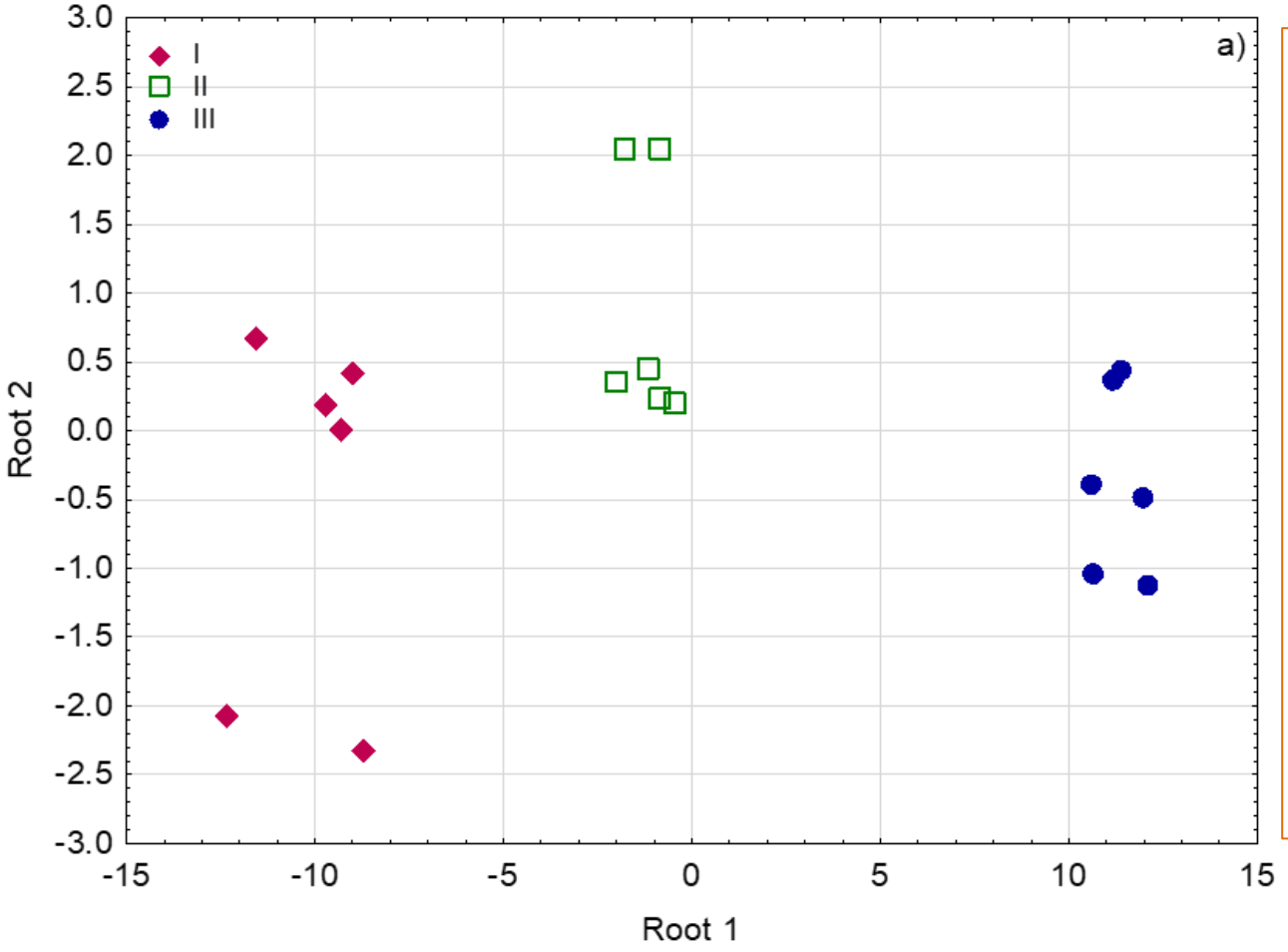
PC1 + PC2 = 92 %



PCA

TRITERPENSKI ALKOHOLI | svježa ulja | stupanj zrelosti





1. % obtusifoliol
   → 83 %
   (→ 100% II)
2. % δ-amirin
3. % butirospermol
   → (100%)
4. citrostadienol
5. gramisterola + cikloeukalenola

LDA • **100 %** ispravna klasifikacija svih 18 uzoraka svježih ulja (ukupno 16 varijabli)





UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA STEROLE I TRITERPENSKE DIOLE U SVJEŽIM I SKLADIŠTENIM ULJIMA



Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije sterola i triterpenskih diola

SMANJENJE uk.S

Thanh i sur. (2006.)

$\Delta^{5,23}$-stigmastadienol POJAVA (III sklad.)

$\Delta^{5,24}$-stigmastadienol SNIŽENJE (III sklad.)

Δ^{7}-stigmastenol POVEĆANJE (sklad.)

Abu-Alruz i sur. (2011.)

Tretman	kolesterol	24-metilen-kolesterol	kampesterol	kampestanol	stigmasterol	Δ-7-kampesterol	Δ-5,23-stigmastadienol	klerosterol	β-sitosterol	sitostanol	Δ-5-avenasterol	Δ-5,24-stigmastadienol	Δ-7-stigmastenol	Δ-7-avenasterol	eritrodiol	uvaol	ukupni β-sitosterol	UKUPNI STEROLI
	mg/100 g																	
Buža I																		
Mlado ulje	0,36^{b}	0,18^{a}	3,27^{b}	0,05	0,75	0,13	0,00	1,17	98,76^{b}	0,62^{b}	10,46	0,80	0,14^{c}	1,08	0,92	0,48	111,80^{b}	117,76^{b}
sobna *T* / 1g	0,45^{a}	0,16^{b}	3,24^{b}	0,06	0,71	0,11	0,00	1,30	94,59^{c}	0,83^{b}	9,76	0,73	0,30^{b}	0,98	0,89	0,44	107,20^{c}	113,22^{c}
T hlađ. / 1g	0,46^{a}	0,19^{a}	3,39^{a}	0,07	0,76	0,12	0,00	1,24	101,50^{a}	1,70^{a}	9,80	0,78	0,33^{b}	1,03	0,92	0,48	115,02^{a}	121,37^{a}
T zamrzav. / 1g	0,29^{c}	0,18^{a}	3,25^{b}	0,07	0,73	0,10	0,00	1,20	95,98^{c}	0,68^{b}	10,09	0,66	0,47^{a}	0,95	0,88	0,41	108,62^{c}	114,67^{c}
Buža II																		
Mlado ulje	0,36	0,37^{a}	4,13^{a}	0,05	1,37^{a}	0,14	0,00	1,63	117,66^{a}	0,76	16,39^{a}	1,02^{a}	0,10^{b}	1,00^{b}	1,26^{a}	0,46	137,45^{a}	144,98^{a}
sobna *T* / 1g	0,46	0,37^{a}	4,03^{b}	0,10	1,32^{a}	0,15	0,00	1,51	113,63^{b}	1,76	14,83^{b}	0,84^{b}	0,30^{a}	1,06^{b}	1,23^{a}	0,58	132,57^{b}	140,35^{b}
T hlađ. / 1g	0,41	0,40^{a}	4,13^{a}	0,09	1,32^{a}	0,16	0,00	1,40	117,14^{a}	1,57	15,75^{ab}	1,00^{a}	0,26^{a}	1,01^{b}	1,29^{a}	0,56	136,86^{a}	144,64^{a}
T zamrzav. / 1g	0,43	0,22^{b}	3,70^{c}	0,07	0,82^{b}	0,14	0,00	1,32	110,59^{c}	0,87	11,54^{c}	0,85^{b}	0,09^{b}	1,17^{a}	1,02^{b}	0,46	125,17^{c}	131,81^{c}
Buža III																		
Mlado ulje	0,34	0,31^{b}	3,62^{a}	0,04^{b}	2,44^{a}	0,14^{a}	0,00^{b}	1,19	103,59^{a}	0,85	15,66^{a}	1,10^{a}	0,09^{c}	1,12	2,30^{a}	0,74^{a}	122,39^{a}	130,50^{a}
sobna *T* / 1g	0,40	0,27^{c}	3,36^{c}	0,05^{b}	2,30^{c}	0,10^{b}	0,01^{a}	1,14	96,19^{c}	1,35	13,86^{c}	1,02^{b}	0,50^{a}	1,06	2,15^{b}	0,66^{b}	113,56^{c}	121,60^{c}
T hlađ. / 1g	0,40	0,32^{a}	3,51^{b}	0,08^{a}	2,36^{b}	0,13^{a}	0,00^{b}	1,61	99,80^{b}	0,93	15,07^{b}	0,92^{c}	0,38^{b}	1,04	2,23^{ab}	0,73^{a}	118,34^{b}	126,55^{b}
T zamrzav. / 1g	0,30	0,30^{b}	3,46^{b}	0,05^{b}	2,32^{bc}	0,14^{a}	0,00^{b}	1,37	99,60^{b}	0,71	15,26^{ab}	0,88^{c}	0,39^{b}	1,06	2,16^{b}	0,74^{a}	117,82^{b}	125,83^{b}
Črna I																		
Mlado ulje	0,39^{c}	0,36^{c}	5,03^{a}	0,09	1,32^{b}	0,18	0,00	2,23	173,87^{ab}	1,42	21,34^{b}	1,71^{a}	0,28^{c}	1,17^{a}	1,04	0,84^{a}	200,57^{ab}	209,41^{b}
sobna *T* / 1g	0,51^{a}	0,53^{a}	5,10^{a}	0,12	1,59^{a}	0,19	0,00	2,22	176,64^{a}	1,79	22,50^{a}	1,67^{a}	0,32^{bc}	1,07^{b}	0,80	0,81^{ab}	204,82^{a}	214,24^{a}
T hlađ. / 1g	0,45^{b}	0,38^{bc}	4,82^{b}	0,12	1,27^{c}	0,16	0,00	2,14	163,61^{c}	1,23	20,18^{c}	1,44^{b}	0,40^{b}	1,06^{b}	0,96	0,72^{c}	188,61^{c}	197,27^{c}
T zamrzav. / 1g	0,33^{d}	0,39^{b}	4,99^{ab}	0,13	1,32^{b}	0,16	0,00	2,04	170,37^{b}	1,28	20,99^{bc}	1,47^{b}	0,55^{a}	1,08^{b}	0,99	0,73^{bc}	196,15^{b}	205,09^{b}
Črna II																		
Mlado ulje	0,33^{c}	0,50^{a}	5,37^{a}	0,06^{c}	1,70^{a}	0,17	0,00	2,33	188,13^{a}	1,29^{b}	24,62^{a}	1,84^{a}	0,29	1,07^{b}	1,02	0,79	218,22^{a}	227,70^{a}

Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$). Ukupni β-sitosterol: $\Delta^{5,23}$-stigmastadienol, klerosterol, β-sitosterol, sitostanol, Δ^{5}-avenasterol i $\Delta^{5,24}$-stigmastadienol.

Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije sterola i triterpenskih diola

$\Delta^{5,23}$-stigmastadienol POJAVA (III sklad.)

$\Delta^{5,24}$-stigmastadienol SNIŽENJE (III sklad.)

Δ^{7}-stigmastenol POVEĆANJE (sklad.)

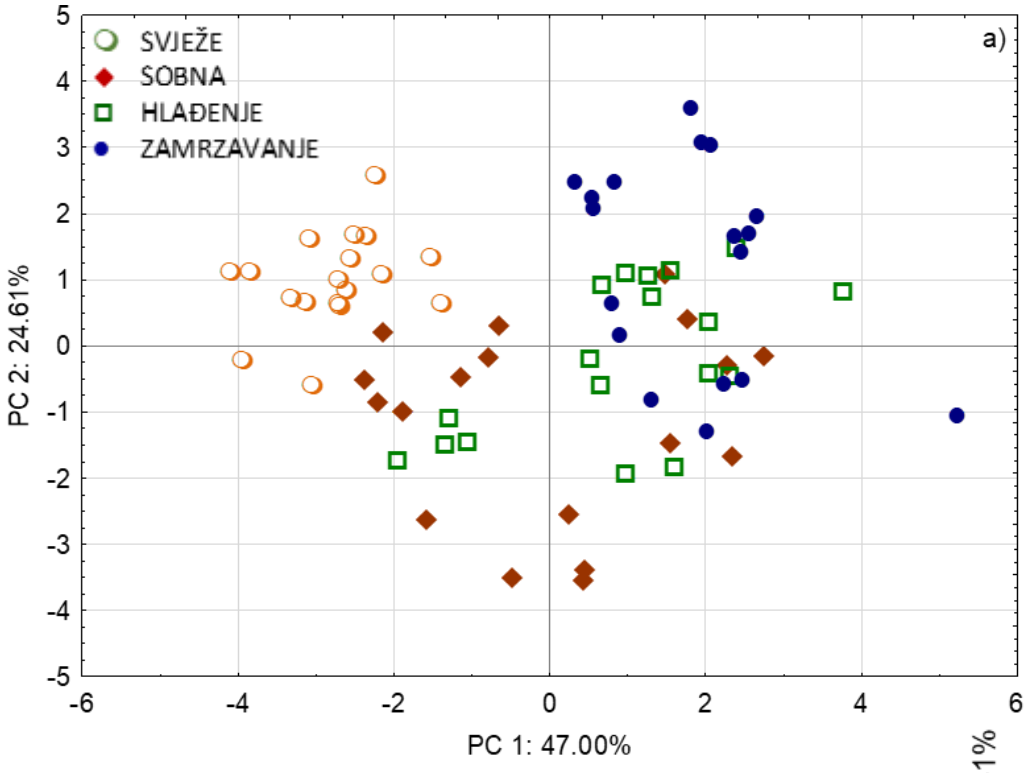
SMANJENJE uk.S

sobna *T* / 1g	0,40^{b}	0,42^{b}	5,35^{a}	0,14^{a}	1,41^{c}	0,16	0,00	2,22	183,37^{b}	1,10^{b}	22,63^{c}	1,80^{a}	0,35	1,24^{a}	1,04^{ab}	0,84	211,12^{b}	220,58^{b}
T hlađ. / 1g	0,46^{a}	0,54^{a}	5,13^{b}	0,13^{a}	1,64^{b}	0,12	0,00	3,23	178,53^{c}	1,27^{b}	23,33^{b}	1,49^{b}	0,33	1,00^{c}	0,92^{c}	0,78	207,85^{bc}	217,21^{bc}
T zamrzav. / 1g	0,35^{bc}	0,54^{a}	5,17^{b}	0,11^{b}	1,63^{b}	0,16	0,00	2,19	177,49^{c}	1,75^{a}	22,73^{c}	1,48^{b}	0,25	1,02^{c}	1,09^{a}	0,72	205,64^{c}	214,87^{c}
Črna III																		
Mlado ulje	0,37	0,54^{c}	5,13^{b}	0,04^{b}	1,66^{b}	0,17	0,00	2,09	171,92^{a}	0,87	22,12^{a}	1,63^{a}	0,26^{c}	0,95^{ab}	1,21	0,80^{a}	198,63^{a}	207,75^{a}
sobna *T* / 1g	0,35	0,65^{a}	5,29^{a}	0,10^{a}	1,71^{a}	0,16	0,00	2,02	173,73^{a}	0,94	22,07^{a}	1,52^{b}	0,56^{a}	0,99^{a}	1,26	0,72^{b}	200,27^{a}	210,09^{a}
T hlađ. / 1g	0,54	0,58^{b}	4,91^{c}	0,11^{a}	1,61^{c}	0,17	0,00	3,59	164,71^{b}	1,04	20,99^{b}	1,28^{c}	0,34^{b}	0,91^{bc}	1,16	0,66^{b}	191,61^{b}	200,78^{b}
T zamrzav. / 1g	0,32	0,59^{b}	4,94^{c}	0,08^{a}	1,62^{c}	0,13	0,00	1,88	163,31^{b}	1,49	20,19^{c}	1,13^{d}	0,36^{b}	0,87^{c}	1,24	0,67^{b}	188,01^{c}	196,92^{c}
Rosinjola I																		
Mlado ulje	0,39	0,14^{b}	5,24^{a}	0,14^{a}	1,02^{ab}	0,12	0,00	1,47	124,62^{a}	0,96	12,04	1,24	0,20	0,68^{b}	1,21	0,62^{a}	140,33^{a}	148,25^{a}
sobna *T* / 1g	0,41	0,19^{a}	5,20^{a}	0,10^{b}	1,04^{a}	0,13	0,00	1,48	124,65^{a}	0,86	12,21	1,17	0,35	0,72^{a}	1,33	0,62^{a}	140,37^{a}	148,50^{a}
T hlađ. / 1g	0,35	0,17^{ab}	4,96^{b}	0,10^{b}	0,98^{bc}	0,12	0,02	1,43	119,82^{b}	1,20	11,27	1,04	0,43	0,67^{b}	1,28	0,56^{ab}	134,78^{b}	142,57^{b}
T zamrzav. / 1g	0,45	0,17^{ab}	4,93^{b}	0,09^{b}	0,96^{c}	0,09	0,01	2,07	115,71^{c}	1,02	10,96	1,02	0,37	0,65^{c}	1,20	0,54^{b}	130,78^{b}	138,49^{b}
Rosinjola II																		
Mlado ulje	0,37	0,32	6,74	0,29	6,15^{a}	0,40	0,51	1,88	138,68^{a}	1,08	18,25^{a}	1,55	2,96^{b}	2,10^{a}	1,73^{c}	0,66	161,94^{a}	181,27^{a}
sobna *T* / 1g	0,44	0,39	6,48	0,41	6,18^{a}	0,41	0,53	1,73	139,88^{a}	0,92	18,61^{a}	1,43	2,98^{b}	2,11^{a}	1,78^{bc}	0,66	163,09^{a}	182,48^{a}
T hlađ. / 1g	0,32	0,39	6,45	0,45	6,15^{a}	0,38	0,56	1,85	137,96^{a}	0,91	18,43^{a}	1,37	3,11^{a}	2,13^{a}	1,99^{a}	0,65	161,07^{a}	180,45^{a}
T zamrzav. / 1g	0,35	0,36	6,32	0,43	5,82^{b}	0,38	0,52	1,74	134,16^{b}	1,06	17,39^{b}	1,31	2,91^{b}	1,98^{b}	1,82^{b}	0,58	156,19^{b}	174,74^{b}
Rosinjola III																		
Mlado ulje	0,32^{b}	0,37	4,70^{b}	0,08^{b}	4,32^{b}	0,16^{b}	0,00^{c}	1,62	115,39^{b}	0,67^{b}	21,24^{a}	1,28^{a}	0,20^{d}	0,82^{b}	1,92^{b}	0,63	140,21^{a}	151,18^{b}
sobna *T* / 1g	0,49^{a}	0,39	5,24^{a}	0,28^{a}	4,94^{a}	0,28^{a}	0,31^{a}	1,92	118,16^{a}	1,55^{a}	16,92^{d}	1,26^{b}	1,75^{a}	1,50^{a}	1,60^{c}	0,60	140,11^{a}	154,99^{a}
T hlađ. / 1g	0,31^{b}	0,45	4,57^{c}	0,07^{b}	4,24^{c}	0,15^{b}	0,00^{c}	1,35	113,99^{b}	0,69^{b}	20,82^{b}	1,01^{c}	0,60^{b}	0,80^{bc}	2,06^{a}	0,63	137,86^{a}	149,04^{b}
T zamrzav. / 1g	0,34^{b}	0,41	4,38^{d}	0,05^{b}	4,05^{d}	0,15^{b}	0,04^{b}	1,38	108,21^{c}	0,56^{b}	20,21^{c}	1,28^{a}	0,47^{c}	0,79^{c}	1,95^{b}	0,60	131,68^{b}	142,33^{c}

Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$). Ukupni β-sitosterol: $\Delta^{5,23}$-stigmastadienol, klerosterol, β-sitosterol, sitostanol, Δ^{5}-avenasterol i $\Delta^{5,24}$-stigmastadienol.

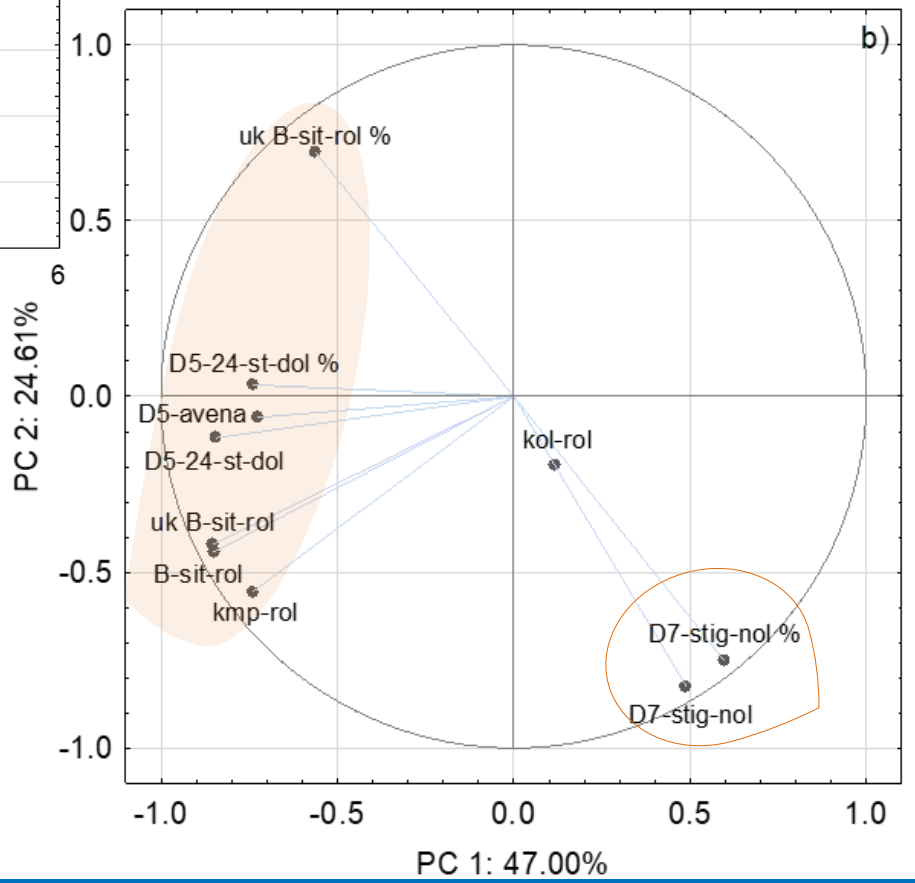
STEROLI | svježa i sklad. ulja | skladištenje





- razdvajanje na temelju uvjeta skladištenja nije dobro
- uzorci svježih ulja više izdvojeni

PC1 + PC2 = 72 %

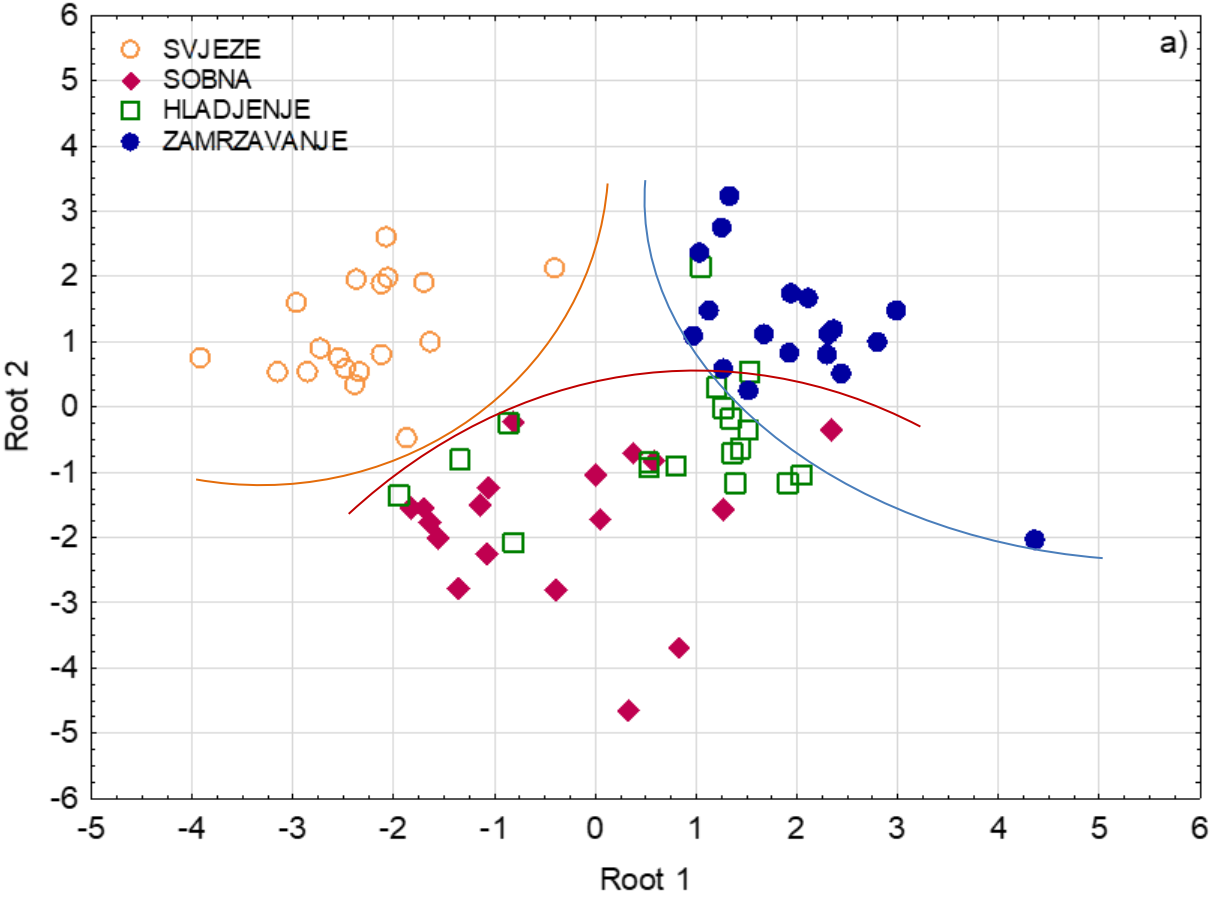


PCA

STEROLI | svježa i sklad. ulja | skladištenje



- relativno dobro međusobno razdvajanje:
  - svježih ulja,
  - ulja usklad. na sob. *T* i
  - ulja na *T* zamrz.



Izdvojeno 6 varijabli:

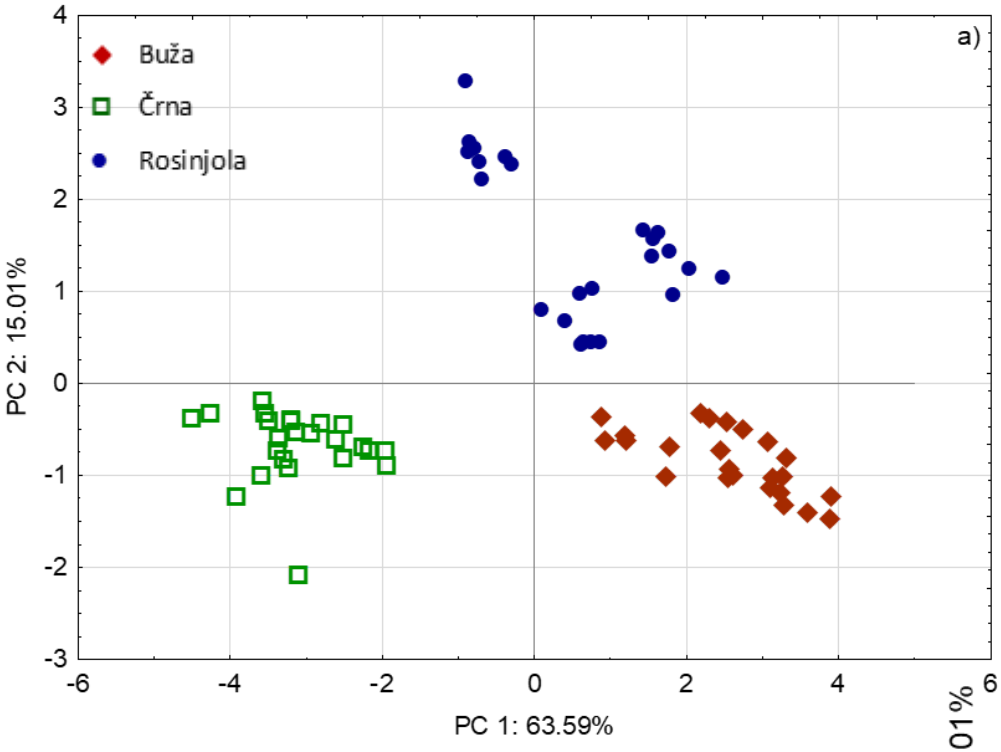
1. **Δ5,24-stigmastadienol**
   → 57 %
   (100% svježih ulja;
   100 % ulja na -20°C)
2. – 6. varijabla
   → 86 %

LDA

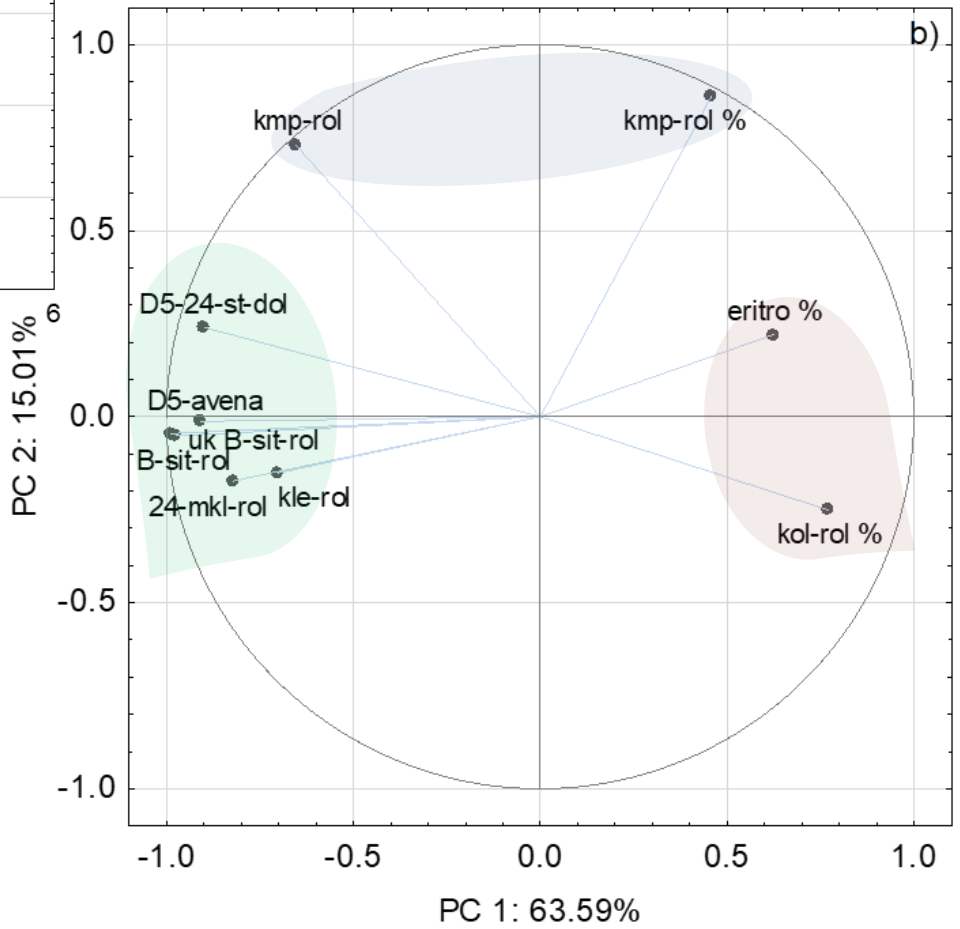
- **86 %** ispravna klasifikacija (18 svj.+54 sklad = 72 uzoraka ulja; 34 varijable)

STEROLI | svježa i sklad. ulja | sorta





- relativno uspješno razdvajanje
- 2 manje, a svih ostalih 10 varijabli iste kao kod svježih ulja



PC1 + PC2 = 79 %

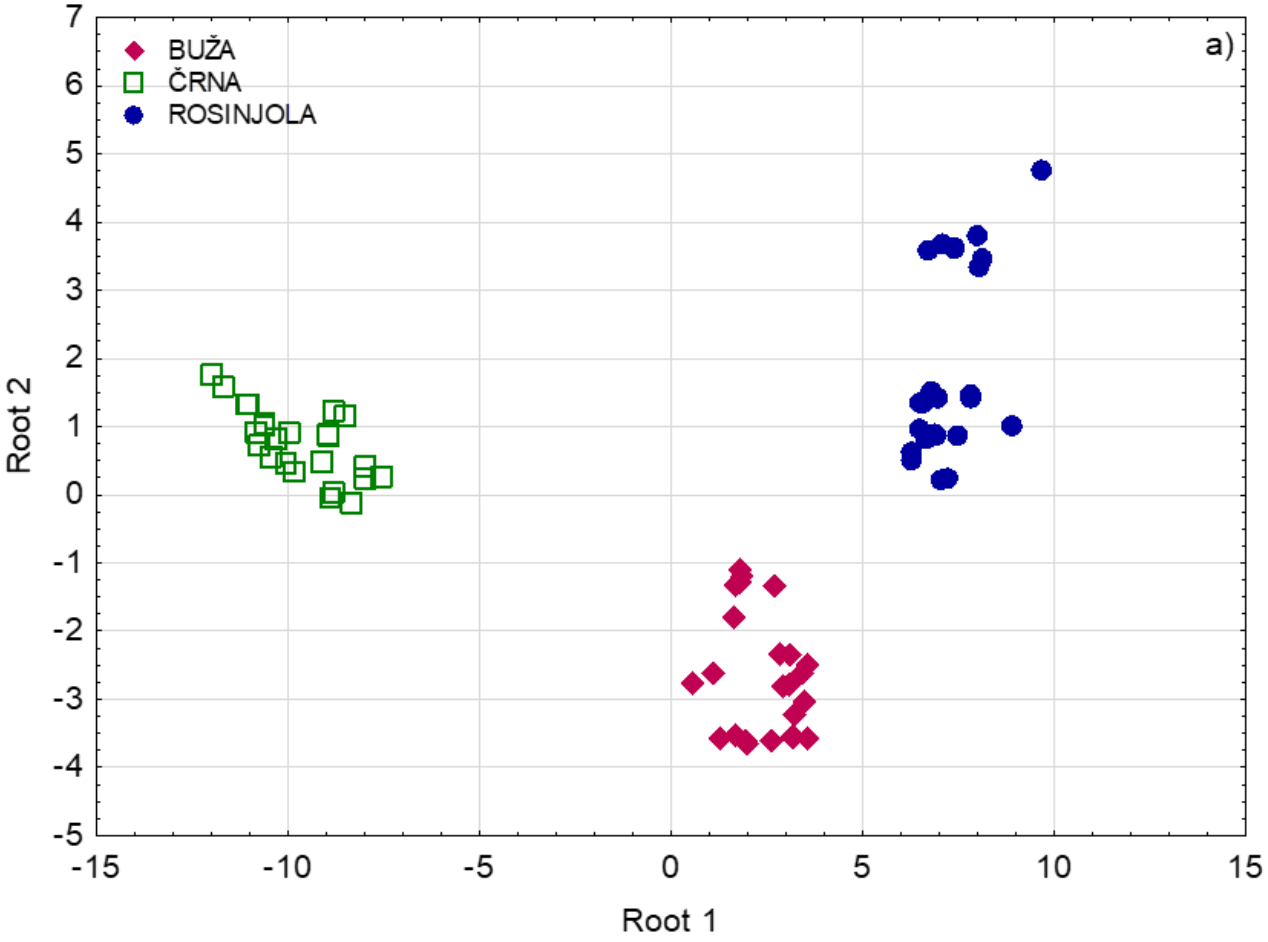
„Promjene tijekom starenja ulja nisu značajnije utjecale na potencijal sterola kao pokazatelja sortnog podrijetla."

PCA

STEROLI | svježa i sklad. ulja | sorta



„Rezultat LDA gdje je sorta odabrana kao grupirajući faktor postigao je 100% točnu klasifikaciju maslinovih ulja na osnovi sorte neovisno o stupnju zrelosti i vremenu, odnosno temperaturi skladištenja.„



Iste tri varijable kao u setu svježih ulja:

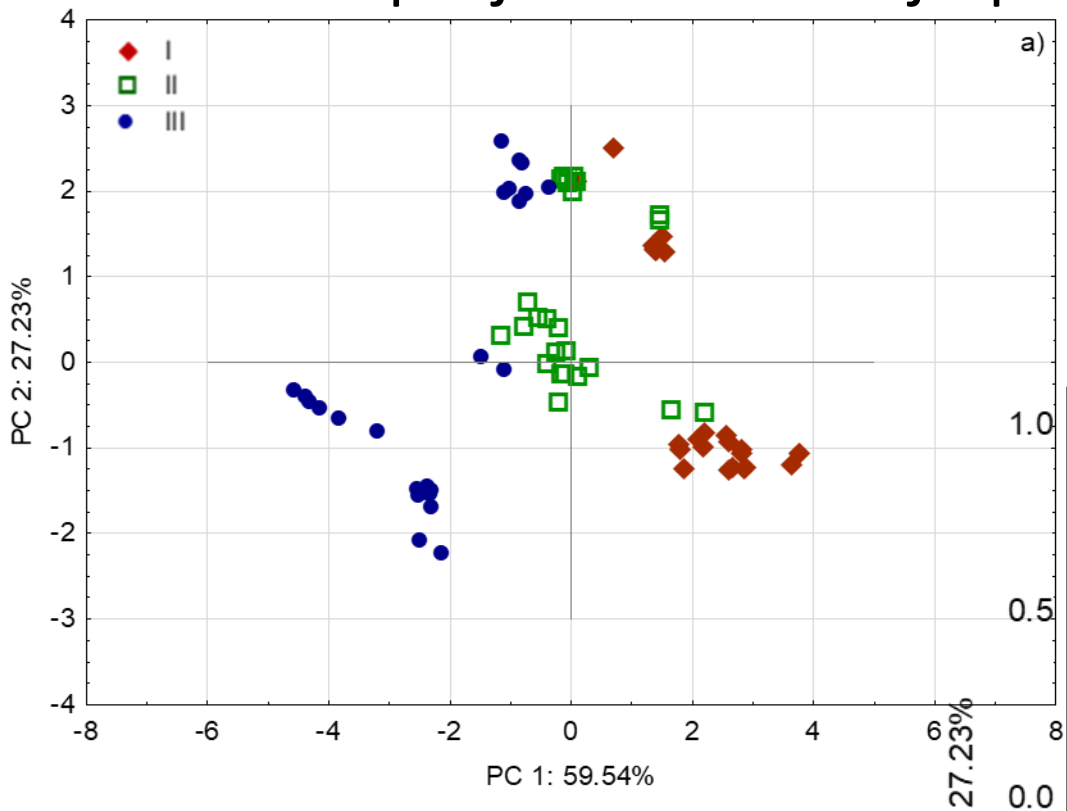
1. **β-sit-rol**
   → 90% (100% Č)
2. % **kmp-rol**
   → (100% B)
3. Δ^5-avena
   → 100%

(osim *c* umjesto *%* Δ^5-avena)

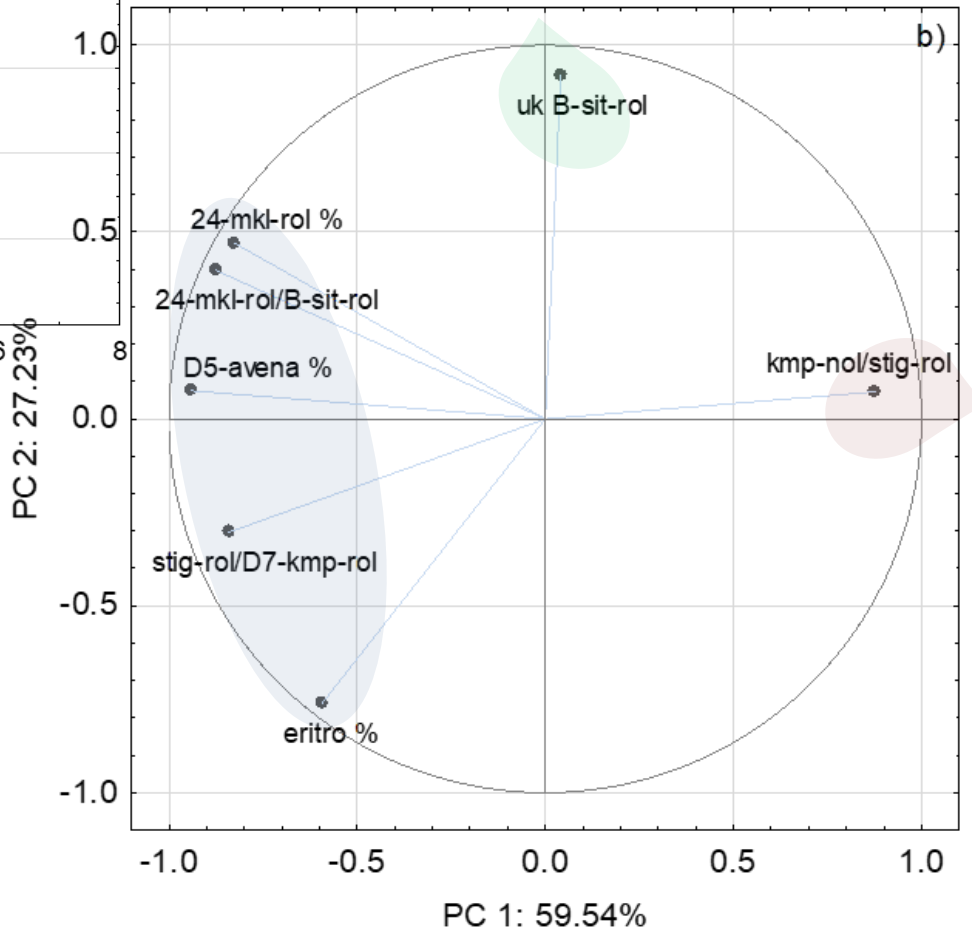
LDA • **100 %** točna klasifikacija (18 svj.+54 sklad = 72 uzoraka ulja; 34 varijable)

STEROLI | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti





- nepotpuno razdvajanje (7 varijabli); rasap vj. kao posljedica utjecaja sorte



PC1 + PC2 = 87 %

UVEDENE NOVE VARIJABLE:

→ 24-mkl-rol/B-sit-rol

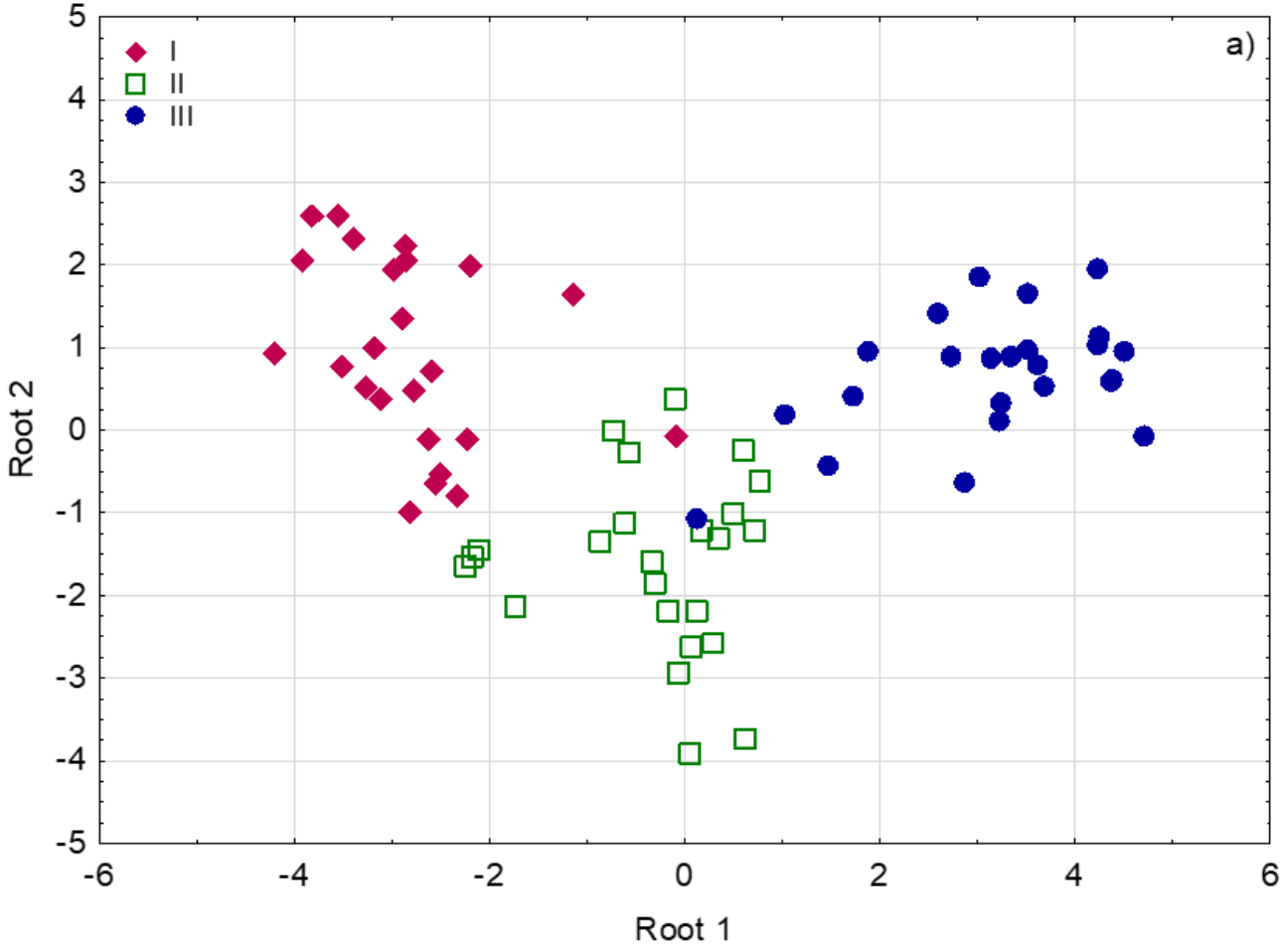
→ stig-rol/D7-kmp-rol

→ kmp-nol/stig-rol

PCA

STEROLI | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti





„Promjene tijekom skladištenja ulja su ipak donekle utjecale na stabilnost sterola kao pokazatelja stupnja zrelosti."

1. **24-mkl-rol/β-sit-rol**
2. **– 7. varijabli**

→ 97 %

LDA • **97 %** točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uzorka ulja; 34 varijable)



UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA ALIFATSKE ALKOHOLE U SVJEŽIM I SKLADIŠTENIM ULJIMA





Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije i % alifatskih alkohola

SMANJENJE: oksidacija; esterifikacija s MK u voskove *(Mariani i Venturini, 2006.)*.

POVEĆANJE: razgradnja duljih MK *(Caradec i sur., 2004.)*; ili hidroliza voskova *(Mariani i sur., 2018.)*

PCA analiza – neuspješno razdvajanje s obz. na tretmane skladištenja

Tretman	decosanol	tricosanol	tetracosanol	pentacosanol	hexacosanol	heptacosanol	octacosanol	UKUPNI ALIFATSKI	decosanol	tricosanol	tetracosanol	pentacosanol	hexacosanol	heptacosanol	octacosanol
	mg/100 g								%						
Buža I															
Mlado ulje	1,24	0,20	2,35	0,26	3,53	0,19	1,50	9,27	13,49	2,12 a	25,36	2,80	38,09	2,01	16,13
sobna *T* / 1g	1,12	0,16	2,16	0,18	3,18	0,15	1,41	8,36	13,39	1,97 b	25,78	2,19	38,06	1,75	16,88
T hlađ. / 1g	1,21	0,16	2,30	0,26	3,38	0,17	1,42	8,90	13,55	1,83 b	25,83	2,91	38,02	1,86	16,01
T zamrzav. / 1g	1,21	0,18	2,34	0,25	3,49	0,21	1,45	9,14	13,23	1,96 b	25,67	2,75	38,17	2,32	15,91
Buža II															
Mlado ulje	1,66	0,19	2,13	0,21	2,83	0,15	1,26	8,43	19,74	2,23	25,22	2,47	33,56	1,82	14,96
sobna *T* / 1g	1,55	0,19	2,01	0,21	2,68	0,13	1,17	7,93	19,53	2,33	25,33	2,60	33,84	1,64	14,72
T hlađ. / 1g	1,63	0,19	2,12	0,22	2,86	0,15	1,26	8,43	19,31	2,24	25,22	2,56	33,92	1,83	14,92
T zamrzav. / 1g	1,70	0,18	2,19	0,23	2,88	0,14	1,21	8,53	19,95	2,17	25,68	2,65	33,75	1,67	14,13
Buža III															
Mlado ulje	2,17 a	0,20 b	2,92 a	0,24 ab	3,68 a	0,20	1,45 ab	10,86 a	20,03	1,87 b	26,87 b	2,19 a	33,84	1,88	13,33
sobna *T* / 1g	2,11 a	0,27 a	3,00 a	0,19 c	3,44 ab	0,19	1,31 bc	10,52 a	20,10	2,60 a	28,50 a	1,83 b	32,71	1,80	12,46
T hlađ. / 1g	2,18 a	0,20 b	2,93 a	0,27 a	3,71 a	0,19	1,54 a	11,01 a	19,84	1,77 b	26,64 b	2,41 a	33,65	1,69	14,01
T zamrzav. / 1g	1,95 b	0,18 b	2,51 b	0,21 bc	3,07 b	0,15	1,19 c	9,26 b	21,08	1,92 b	27,12 b	2,22 a	33,19	1,67	12,80
Črna I															
Mlado ulje	0,96 b	0,17	2,11 a	0,37	4,72 a	0,25	1,97 a	10,54 a	9,09 b	1,57	20,04 b	3,54	44,74 a	2,39	18,63 a
sobna *T* / 1g	1,08 a	0,14	1,83 c	0,33	4,11 bc	0,18	1,64 c	9,31 b	11,63 a	1,47	19,66 c	3,54	44,14 b	1,92	17,65 b
T hlađ. / 1g	0,88 c	0,14	1,97 b	0,34	4,01 c	0,21	1,70 b	9,24 b	9,47 b	1,50	21,32 a	3,67	43,39 c	2,26	18,40 a
T zamrzav. / 1g	0,85 c	0,13	1,96 b	0,36	4,41 ab	0,25	1,86 ab	9,83 ab	8,69 b	1,32	19,90 bc	3,70	44,82 a	2,54	18,93 a
Črna II															

Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$).

Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije sterola i triterpenskih diola

SMANJENJE: oksidacija; esterifikacija s MK u voskove *(Mariani i Venturini, 2006.)*.

POVEĆANJE: razgradnja duljih MK *(Caradec i sur., 2004.)*; ili hidroliza voskova *(Mariani i sur., 2018.)*

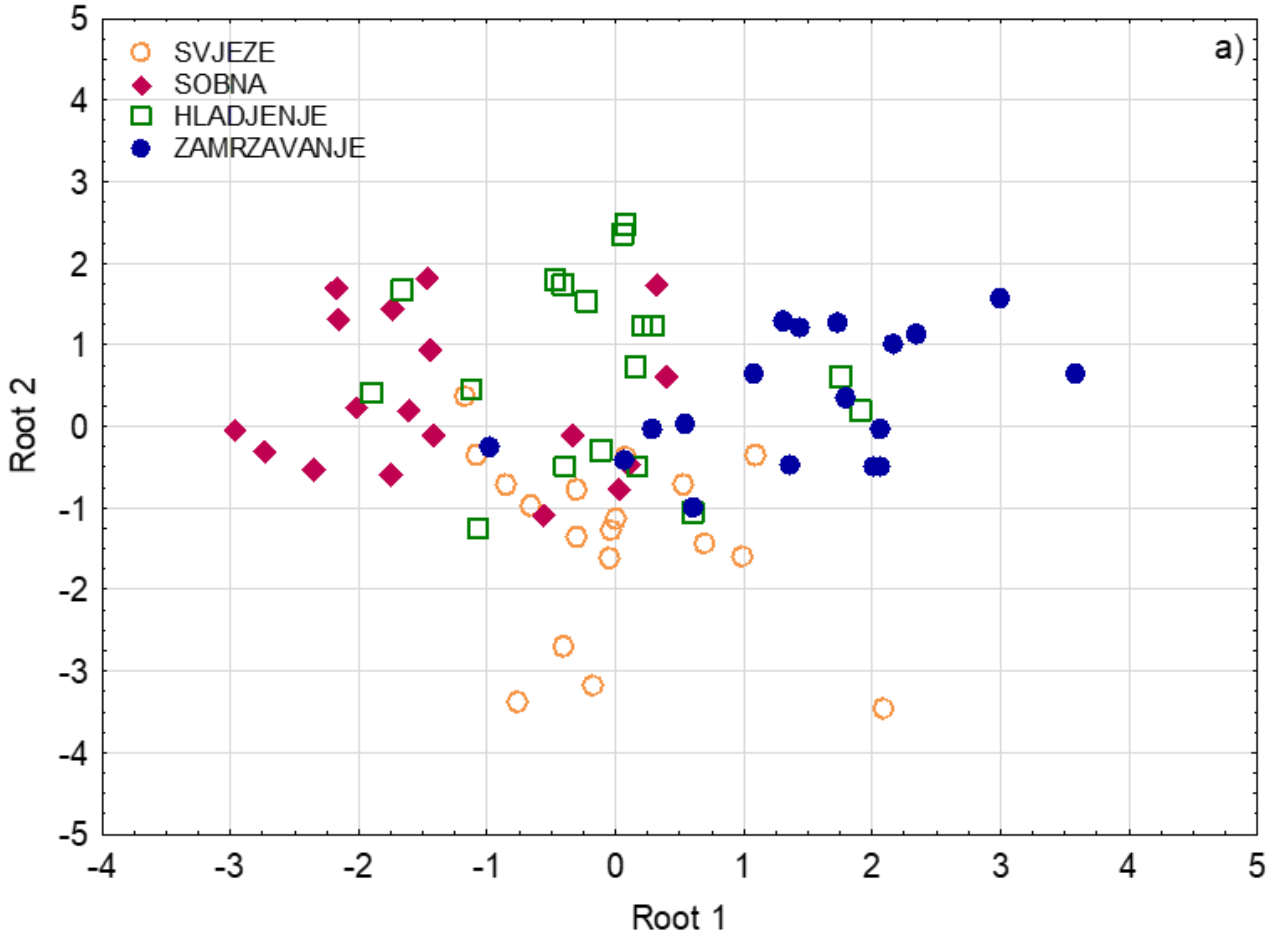
PCA analiza – neuspješno razdvajanje s obz. na tretmane skladištenja

Mlado ulje	1,03	0,15	1,85	b 0,32	4,30	b 0,22	ab 1,60	b 9,48	b	10,92	a 1,59	19,57	3,42	45,33	2,30	16,89		
sobna *T* / 1g	0,96	0,17	2,16	a 0,38	4,63	a 0,26	a 1,92	a 10,47	a	9,19	b 1,57	20,58	3,61	44,15	2,43	18,29		
T hlađ. / 1g	1,03	0,13	1,83	b 0,32	4,16	b 0,18	b 1,60	b 9,20	b	11,10	a 1,38	19,78	3,44	45,02	1,93	17,36		
T zamrzav. / 1g	1,03	0,15	1,83	b 0,32	4,15	b 0,19	b 1,55	b 9,23	b	11,15	a 1,60	19,87	3,50	44,97	2,08	16,83		
Črna III																		
Mlado ulje	1,45	0,18	2,20	b 0,28	3,76	0,18	1,47	9,52	a	15,21	1,87	23,11	2,94	39,51	1,89	15,46		
sobna *T* / 1g	1,49	0,19	2,32	a 0,30	3,71	0,17	1,49	9,66	a	15,39	1,99	24,01	3,05	38,36	1,79	15,41		
T hlađ. / 1g	1,50	0,18	2,16	bc 0,28	3,75	0,20	1,52	9,60	a	15,63	1,86	22,51	2,95	39,08	2,11	15,87		
T zamrzav. / 1g	1,50	0,17	2,10	c 0,27	3,60	0,17	1,40	9,21	b	16,30	1,87	22,81	2,95	39,05	1,81	15,21		
Rosinjola I																		
Mlado ulje	0,50	a 0,11	a 1,75	0,36	5,79	0,35	a 2,69	ab 11,54	a	4,36	0,93	a 15,13	ab 3,08	50,20	ab 3,01	23,28	b	
sobna *T* / 1g	0,51	a 0,11	a 1,74	0,37	5,77	0,36	a 2,76	a 11,62	a	4,39	0,95	a 14,93	b 3,19	49,69	b 3,09	23,76	a	
T hlađ. / 1g	0,46	b 0,07	c 1,64	0,32	5,50	0,32	b 2,59	bc 10,90	b	4,21	0,68	b 15,04	b 2,93	50,50	a 2,89	23,75	a	
T zamrzav. / 1g	0,47	b 0,09	b 1,64	0,33	5,40	0,31	b 2,48	c 10,73	b	4,39	0,87	a 15,31	a 3,04	50,33	a 2,90	23,16	b	
Rosinjola II																		
Mlado ulje	2,28	ab 0,27	4,01	a 0,36	5,25	a 0,28	2,27	14,73	a	15,63	1,85	27,28	2,42	35,54	1,92	15,37		
sobna *T* / 1g	2,16	bc 0,25	3,63	b 0,32	4,78	b 0,26	2,11	13,52	b	15,98	1,85	26,87	2,39	35,34	1,94	15,63		
T hlađ. / 1g	2,30	a 0,26	3,87	a 0,38	5,04	ab 0,27	2,17	14,28	ab	16,11	1,84	27,07	2,64	35,30	1,89	15,15		
T zamrzav. / 1g	2,04	c 0,22	3,31	c 0,30	4,21	c 0,23	1,79	12,10	c	16,86	1,84	27,32	2,49	34,77	1,90	14,84		
Rosinjola III																		
Mlado ulje	1,93	b 0,23	3,71	a 0,28	b 3,70	b 0,22	b 1,46	b 11,53	b	16,73	2,02	a 32,15	a 2,42	32,06	b 1,94	a 12,69	b	
sobna *T* / 1g	2,03	a 0,22	3,66	a 0,31	a 4,43	a 0,25	a 1,90	a 12,80	a	15,86	1,69	b 28,58	b 2,42	34,61	a 1,99	a 14,85	a	
T hlađ. / 1g	1,95	b 0,23	3,78	a 0,28	b 3,76	b 0,20	bc 1,49	b 11,70	b	16,66	1,96	a 32,33	a 2,43	32,14	b 1,72	b 12,76	b	
T zamrzav. / 1g	1,86	c 0,21	3,47	b 0,26	c 3,39	c 0,19	c 1,35	c 10,74	c	17,35	2,00	a 32,35	a 2,41	31,59	b 1,76	b 12,54	b	

Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$).

ALIFATSKI A. | svježa i sklad. ulja | skladištenje





- 13 varijabli

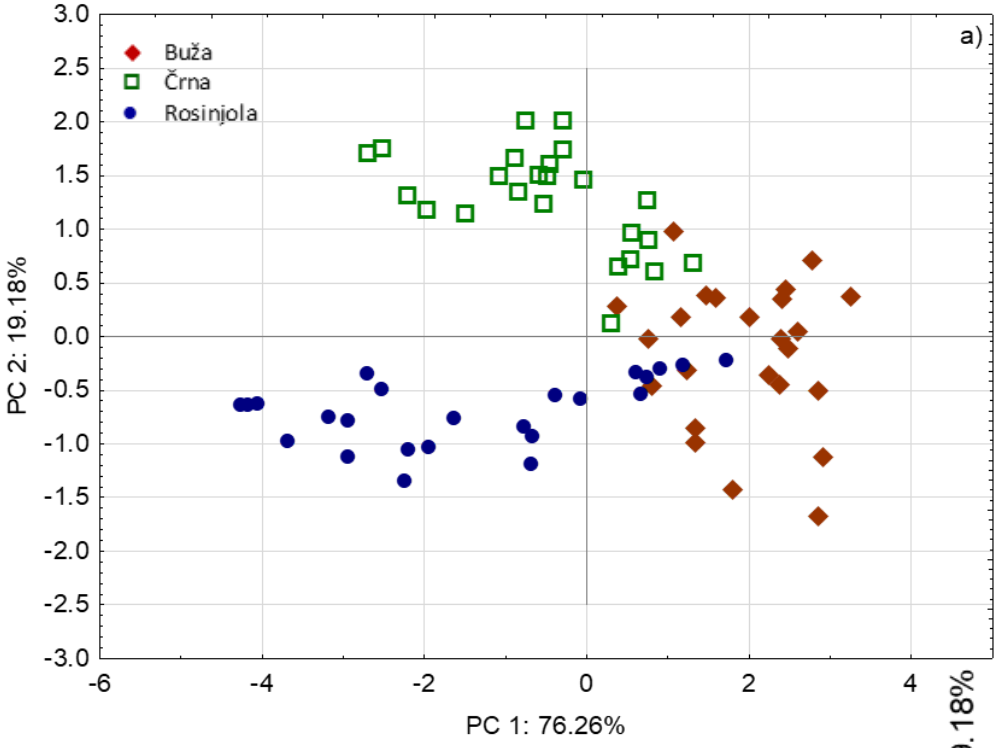
→ nepotpuno razdvajanje na osnovi uvjeta skladištenja

LDA

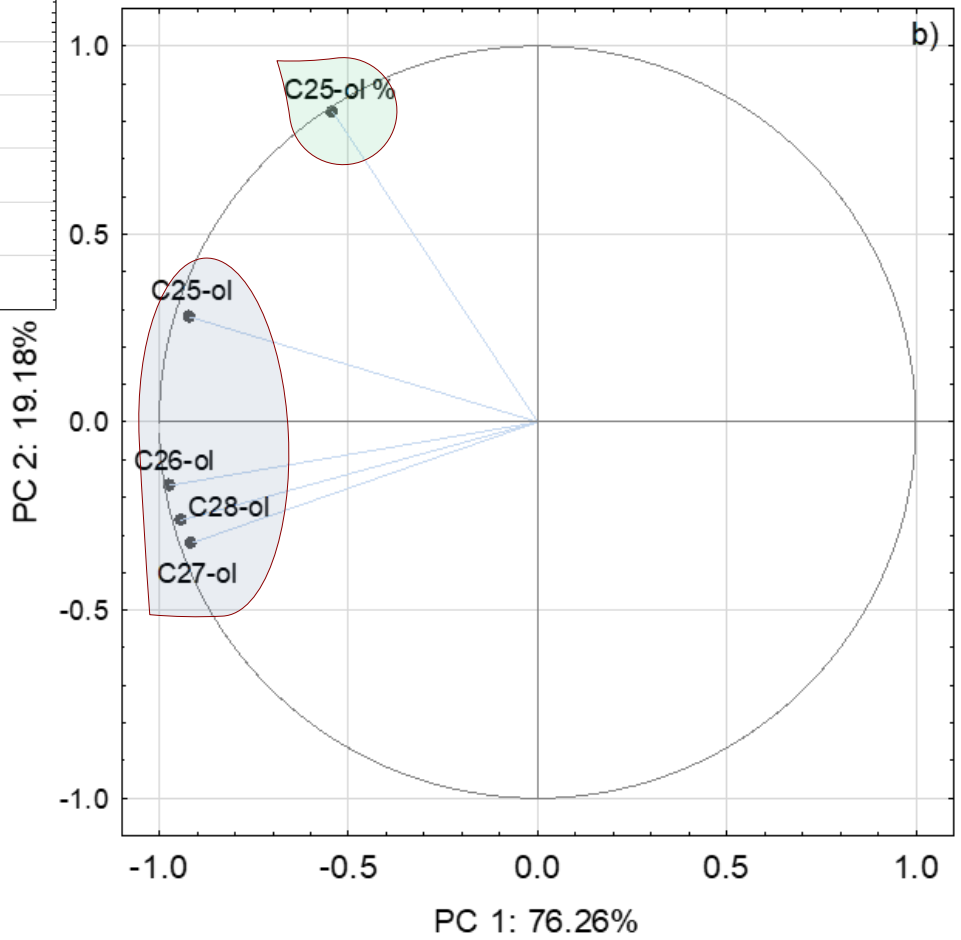
- **samo 78 %** točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uz.; 14 varijabli)

ALIFATSKI A. | svježa i sklad. ulja | sorta





- relativno uspješno, iako nepotpuno razdvajanje
- 3/5 varijabli iz svj. uzoraka:
  ***c* i *%* C 25**; ***c* C27**

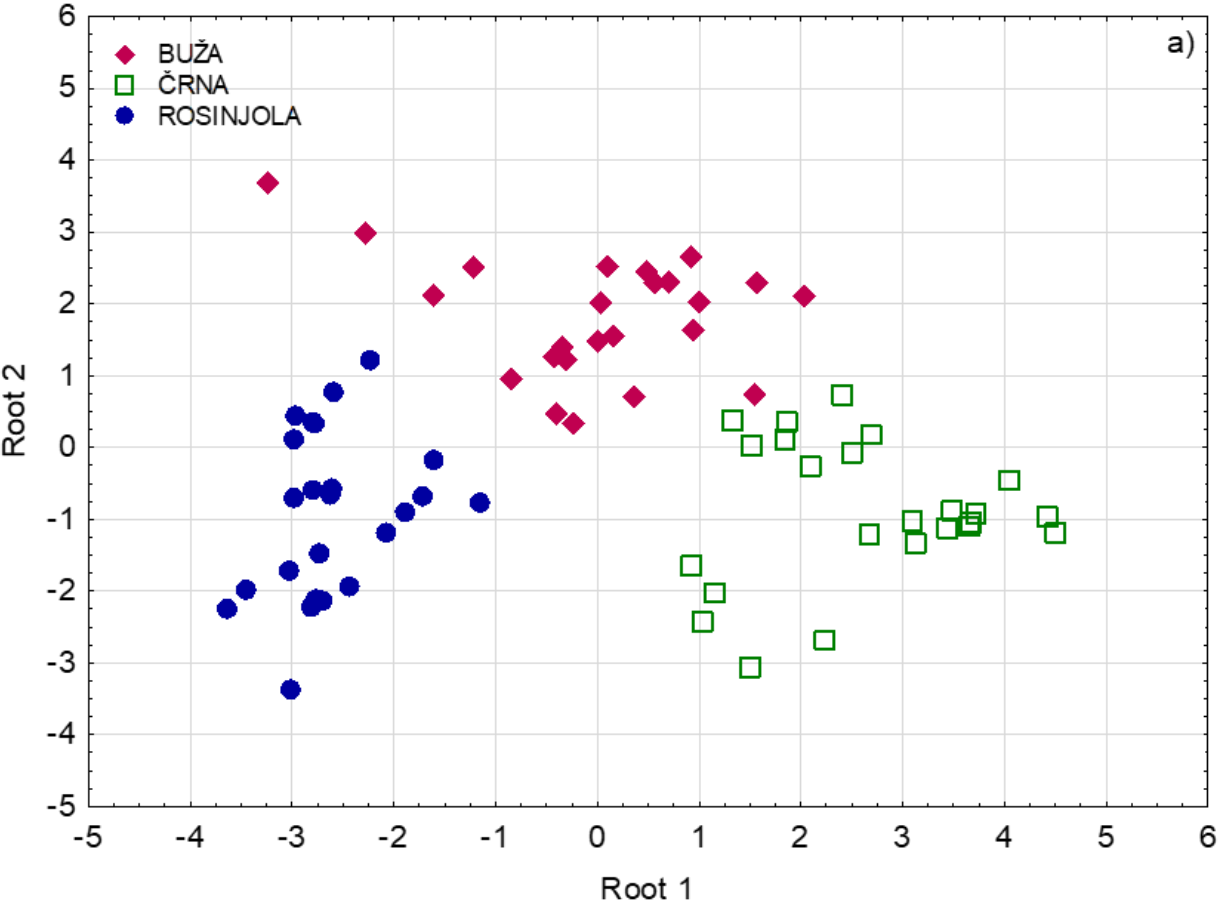


PC1 + PC2 = 95 %

PCA

ALIFATSKI A. | svježa i sklad. ulja | sorta





- 3/4 varijable prepoznatih u svj. uljima

1. C 25

2. % C 25

→ 90 % Č

3. C 22

4. % C 26

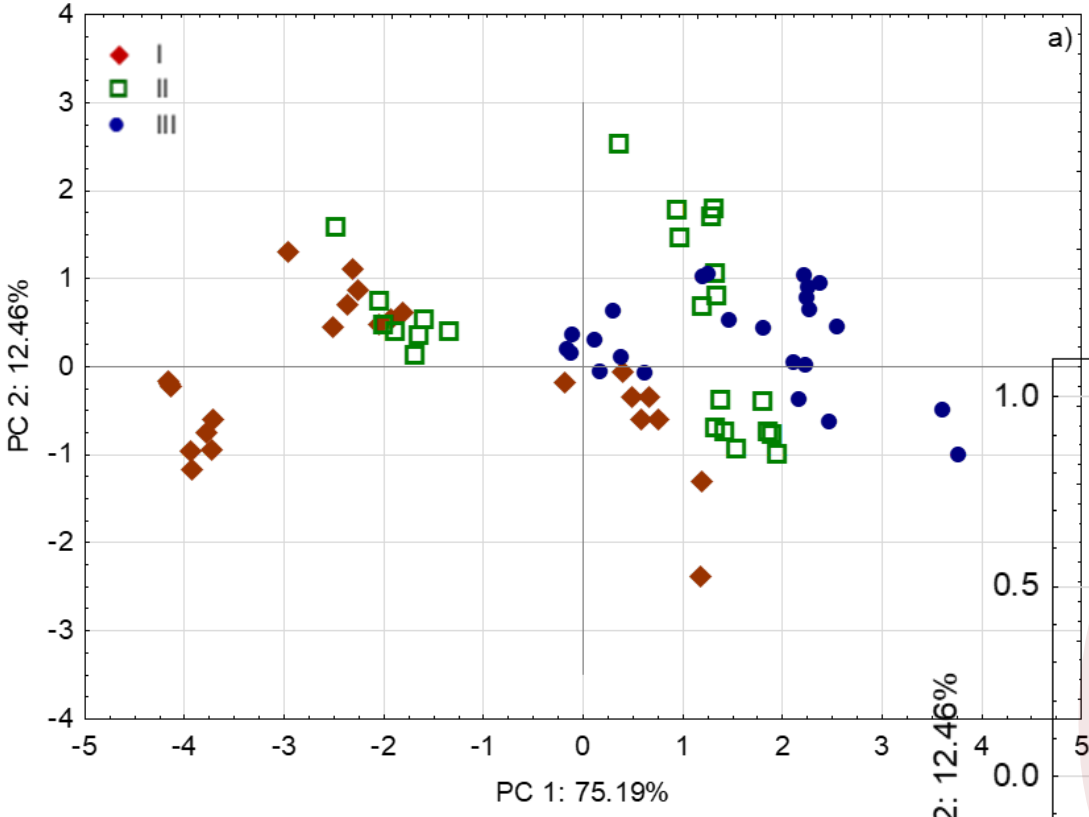
→ (100%)

LDA

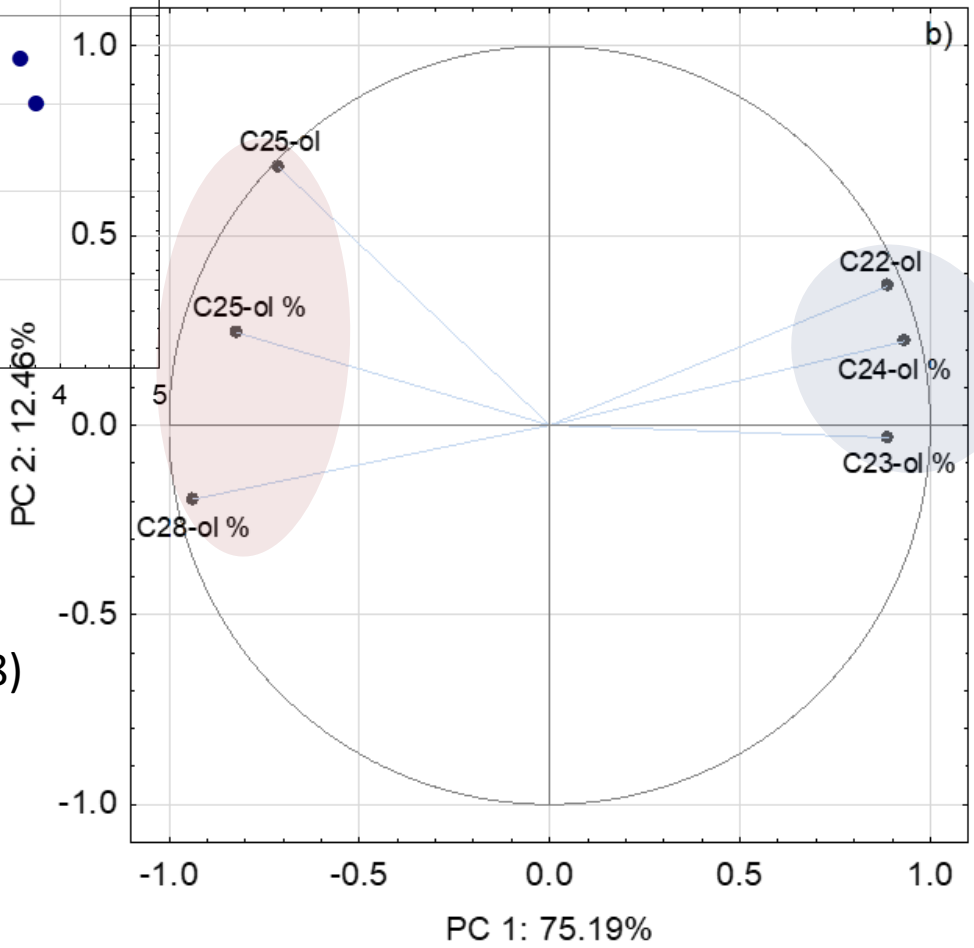
- 100 % točna klasifikacija na osnovi sorte (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uz.; 14 varijabli)

ALIFATSKI A. | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti





- slabo razdvajanje (6 varijabli)
- gubitak dijela informacija o stupnju zrelosti sadržanih u sastavu AA



PC1 + PC2 = 88 %

VARIJABLE IZ SETA SVJ. ULJA:

→ c i % (C 25); c (C22); % (C28)

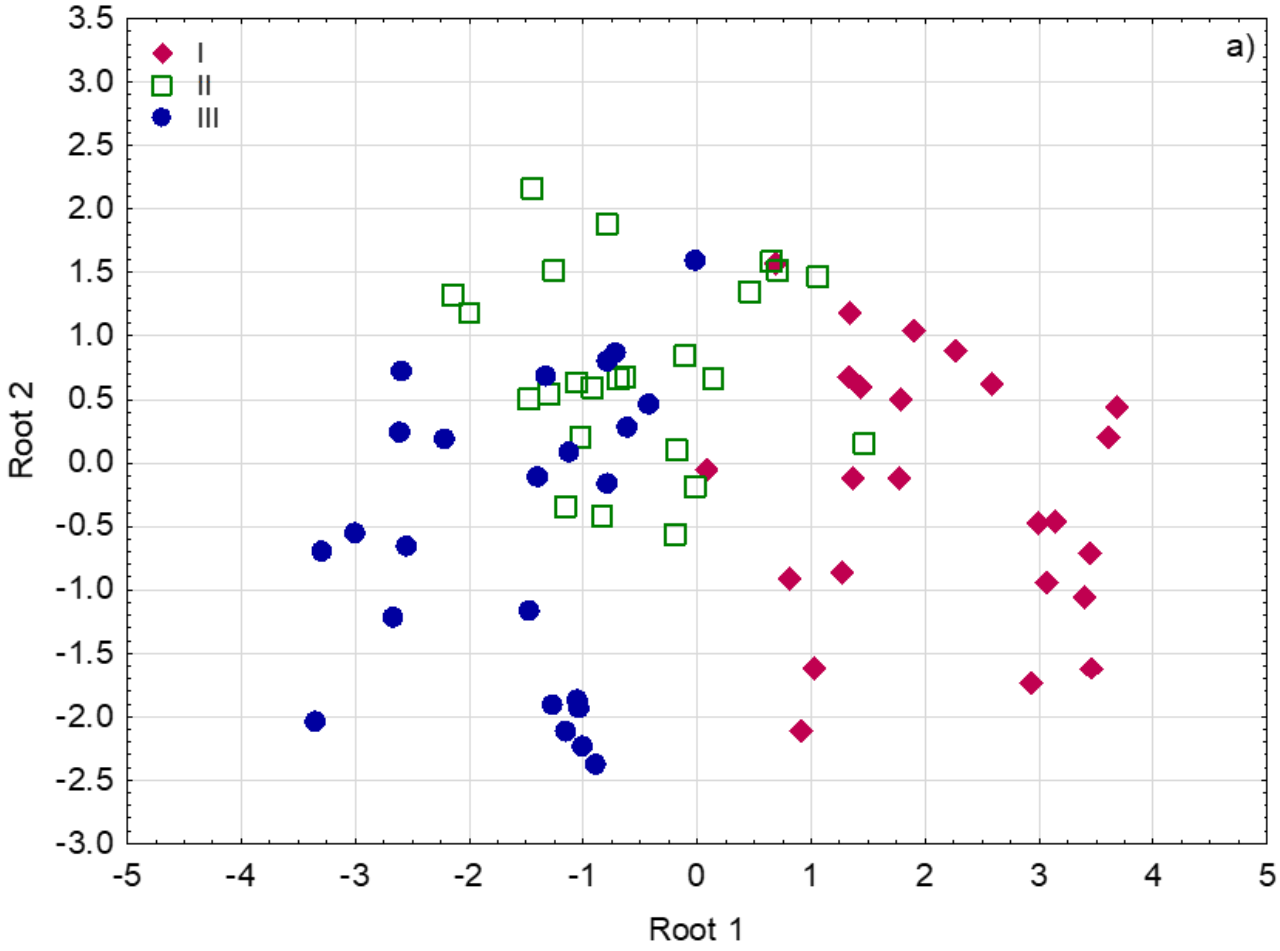
NOVE VARIJABLE:

→ % (C 24); % (C 23)

PCA

ALIFATSKI A. | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti





- 3/6 varijabli prepoznatih u svj. uljima

1. **C 25**
2. **% C 23**
3. **% C 28**
4. C 22
5. % C 24
6. % C25

LDA

- 83 % točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uzorka ulja; 14 varijabli)





UTJECAJ SORTE I STUPNJA ZRELOSTI MASLINA NA TRITERPENSKE ALKOHOLE U SVJEŽIM I SKLADIŠTENIM ULJIMA



Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije triterpenskih alkohola

- sporadične promjene, za većinu TTA bez pravila

↗ *c* δ-amirin obtusifoliol – ↗ *c* i %

Tretman	δ-amirin	obtusifoliol	β-amirin	butirospermol	gramisterol + cikloeukalenol	cikloartenol	24-metilen-cikloartenol	citrostadienol	UKUPNI 4-MONOMETIL STEROLI	UKUPNI-4,4-DITMETIL STEROLI	UKUPNI TRI-TERPENSKI ALKOHOLI
					mg/100 g						
Buža I											
Mlado ulje	1,47	6,06	3,14	5,86 a	2,34	27,66	40,37	16,60	25,01	78,51 a	103,52
sobna *T* / 1g	1,61	6,33	2,29	5,13 b	2,56	24,83	35,56	14,84	23,73	69,43 b	93,16
T hlađ. / 1g	1,40	6,30	3,25	6,08 a	2,37	28,74	41,88	17,40	26,08	81,36 a	107,44
T zamrzav. / 1g	1,38	7,37	3,19	5,67 ab	2,22	26,61	38,76	15,80	25,39	75,61 ab	101,00
Buža II											
Mlado ulje	1,60 c	7,02 c	3,68 c	6,68 b	2,71 b	31,75	60,06	15,91 b	25,63 b	103,76	129,38 b
sobna *T* / 1g	1,71 a	8,63 b	4,22 ab	7,45 a	3,05 a	34,93	66,27	17,88 a	29,56 a	114,58	144,14 a
T hlađ. / 1g	1,67 b	8,75 b	4,15 b	7,17 a	2,90 ab	34,38	64,80	17,25 a	28,90 a	112,17	141,07 a
T zamrzav. / 1g	1,71 a	10,13 a	4,43 a	7,08 ab	2,80 b	33,99	63,89	16,87 ab	29,80 a	111,10	140,90 a
Buža III											
Mlado ulje	2,18	7,51	5,89	9,06	3,46	53,97	107,76	15,49 ab	26,46	178,86	205,32
sobna *T* / 1g	1,95	6,88	5,42	7,87	3,35	49,47	94,91	13,67 bc	23,90	159,62	183,52
T hlađ. / 1g	2,18	7,64	6,01	9,34	3,53	57,19	110,00	16,19 a	27,36	184,72	212,08
T zamrzav. / 1g	1,96	7,91	5,58	8,25	2,91	50,14	95,69	12,39 c	23,21	161,62	184,82
Črna I											
Mlado ulje	2,07 a	8,94 b	3,93 b	12,02	3,70	37,17	49,43 b	22,88	35,52	104,61 b	140,13
sobna *T* / 1g	1,80 b	8,71 b	3,58 c	11,52	3,95	37,37	62,40 a	21,41	34,07	116,66 a	150,73
T hlađ. / 1g	1,95 a	8,62 b	3,96 b	12,49	3,64	38,43	50,82 b	23,40	35,65	107,66 b	143,31
T zamrzav. / 1g	2,03 a	10,59 a	4,26 a	12,26	3,60	37,70	49,72 b	22,54	36,73	105,96 b	142,69
Črna II											
Mlado ulje	1,96	8,42	3,52	11,51	3,90	37,15	62,39 a	21,54	33,86	116,52 ab	150,38 ab

↗

Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$). Ukupni 4-monometil steroli obuhvaćaju spojeve: obtusifoliol, gramisterol + cikloeukalenol, citrostadienol; Ukupni-4,4-ditmetil steroli obuhvaćaj spojeve: δ-amirin, β-amirin, butirospermol, cikloartenol, 24-metilen-cikloartenol

Utjecaj skladištenja maslinovog ulja na koncentracije sterola i triterpenskih diola

↗ *c* - δ-amirin obtusifoliol – ↗ *c* i %

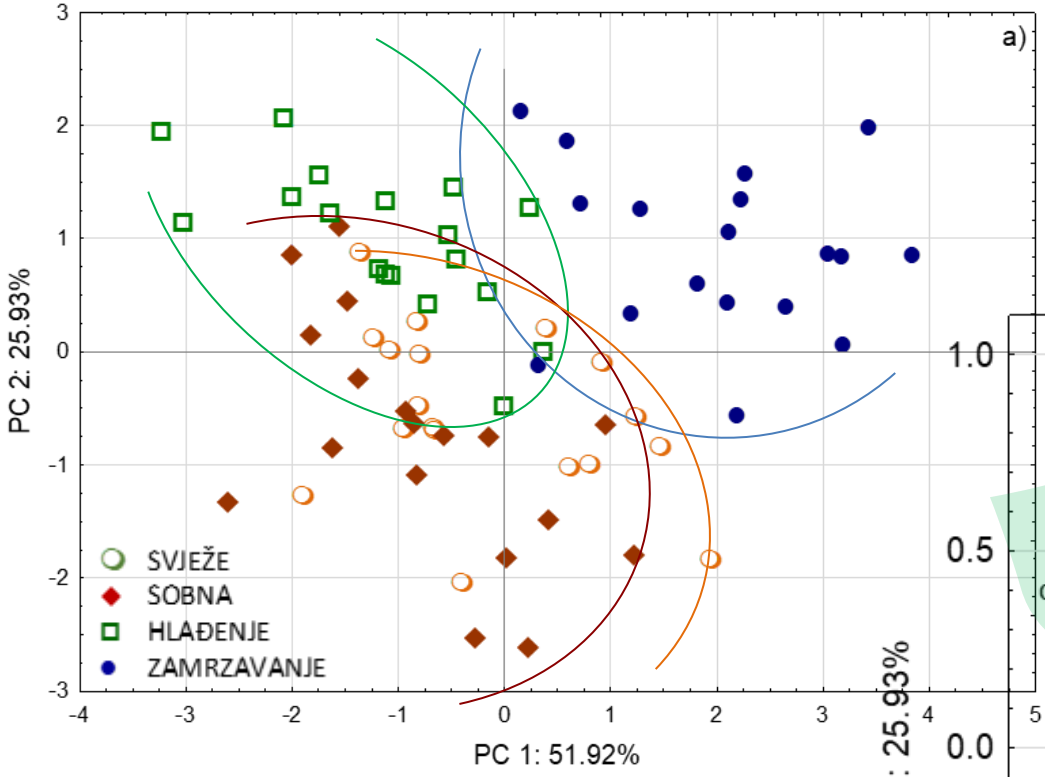
sobna *T* / 1g	2,05	8,74	3,90	11,60	3,84	36,80	48,95 b	22,24	34,82	103,30 c	138,12 b
T hlađ. / 1g	2,02	9,40	3,91	12,13	4,08	40,22	66,79 a	22,76	36,24	125,06 a	161,30 a
T zamrzav. / 1g	1,92	9,11	3,70	10,89	3,86	36,74	61,59 a	21,29	34,25	114,85 b	149,10 ab
Črna III											
Mlado ulje	1,80	8,33 c	3,45	10,77	3,82	39,85	82,63	16,89	29,04	138,50	167,55
sobna *T* / 1g	1,87	9,30 b	3,72	10,74	4,03	41,00	84,95	17,29	30,63	142,26	172,89
T hlađ. / 1g	1,88	9,88 b	3,86	11,69	3,89	43,18	89,47	17,87	31,63	150,08	181,71
T zamrzav. / 1g	1,80	10,94 a	3,81	10,31	3,60	38,72	80,22	16,18	30,72	134,87	165,59
Rosinjola I											
Mlado ulje	2,02 b	7,32 c	5,12 b	11,92 b	2,08 ab	42,83 b	20,59 b	20,63 b	30,04 b	82,47 b	112,51 b
sobna *T* / 1g	2,01 b	8,35 b	5,52 a	12,82 a	2,27 a	46,96 a	22,93 a	22,71 a	33,34 a	90,23 a	123,57 a
T hlađ. / 1g	2,16 a	9,56 a	5,76 a	13,01 a	2,30 a	47,77 a	22,95 a	23,08 a	34,93 a	91,65 a	126,58 a
T zamrzav. / 1g	1,85 c	8,30 b	4,88 b	10,95 c	1,89 b	40,30 b	19,07 b	19,73 b	29,93 b	77,05 b	106,98 b
Rosinjola II											
Mlado ulje	1,77 ab	9,66 b	6,40 b	9,43 ab	5,49 ab	49,62 b	71,82 b	25,26 b	40,42 b	139,05 b	179,46 b
sobna *T* / 1g	1,80 a	11,40 a	6,95 a	9,96 a	5,84 a	53,07 a	76,36 a	27,56 a	44,80 a	148,15 a	192,95 a
T hlađ. / 1g	1,73 b	10,14 b	6,54 b	9,37 b	5,25 b	48,84 b	69,28 b	24,15 b	39,54 b	135,76 b	175,30 b
T zamrzav. / 1g	1,52 c	8,85 c	5,53 c	8,10 c	4,43 c	42,77 c	60,42 c	20,42 c	33,71 c	118,35 c	152,06 c
Rosinjola III											
Mlado ulje	1,69 b	7,76 c	6,81 b	9,35 b	4,15	64,44 ab	75,23 b	25,13 b	37,04 b	157,53 a	194,57 b
sobna *T* / 1g	1,81 a	9,89 a	7,19 a	10,37 a	5,43	60,70 bc	80,25 a	27,74 a	43,07 a	160,33 a	203,40 ab
T hlađ. / 1g	1,73 ab	9,48 a	7,36 a	9,82 b	4,38	67,58 a	78,88 ab	26,03 b	39,88 b	165,37 a	205,25 a
T zamrzav. / 1g	1,52 c	8,43 b	6,26 c	8,58 c	1,94	59,03 c	68,42 c	17,79 c	28,16 c	143,80 b	171,96 c

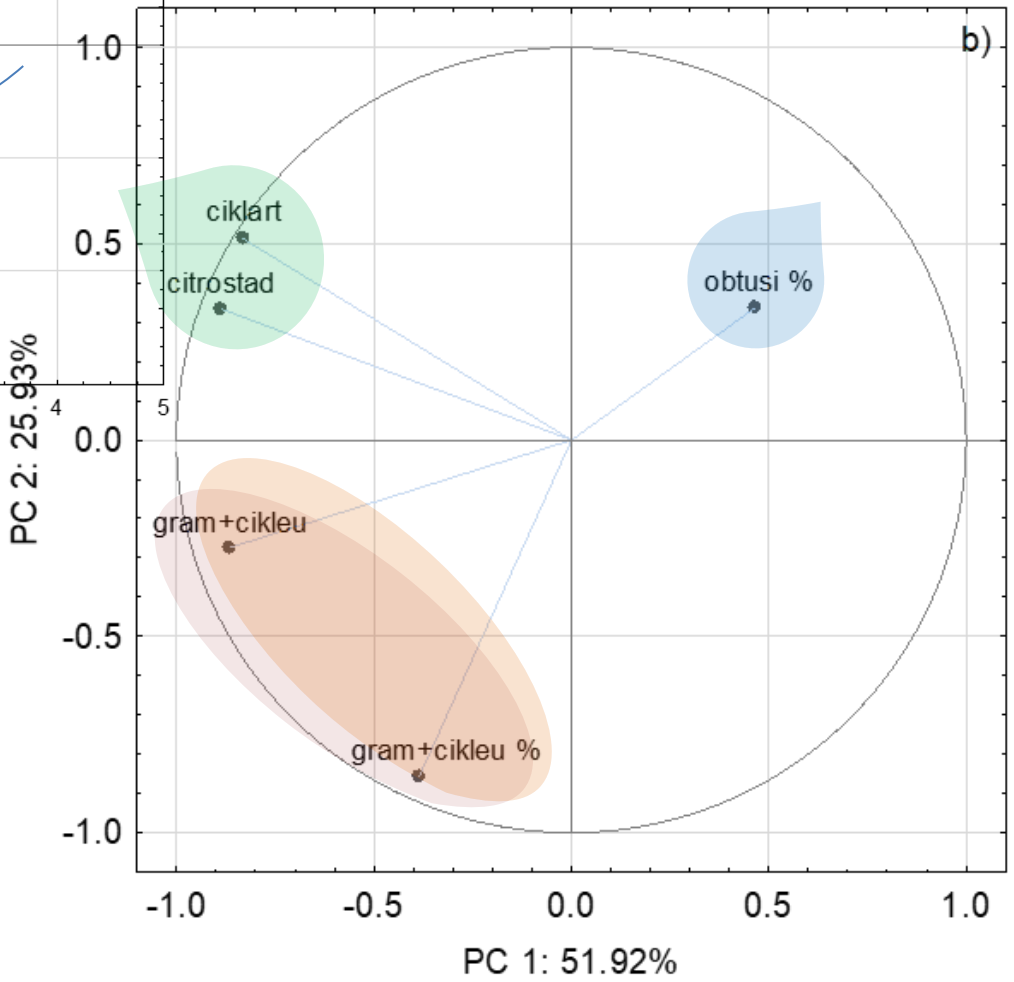
Statistički značajne razlike između različitih razina faktora skladištenje utvrđene su zasebno za svaki tretman sorta × stupanj zrelosti i obilježene su različitim slovima (LSD test, $p < 0,05$). Ukupni 4-monometil steroli obuhvaćaju spojeve: obtusifoliol, gramisterol + cikloeukalenol, citrostadienol; Ukupni-4,4-ditmetil steroli obuhvaćaj spojeve: δ-amirin, β-amirin, butirospermol, cikloartenol, 24-metilen-cikloartenol

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | skladištenje



- slabo razdvajanje (6 varijabli)
- tendencija grupiranja - skladištenje





PC1 + PC2 = 78 %

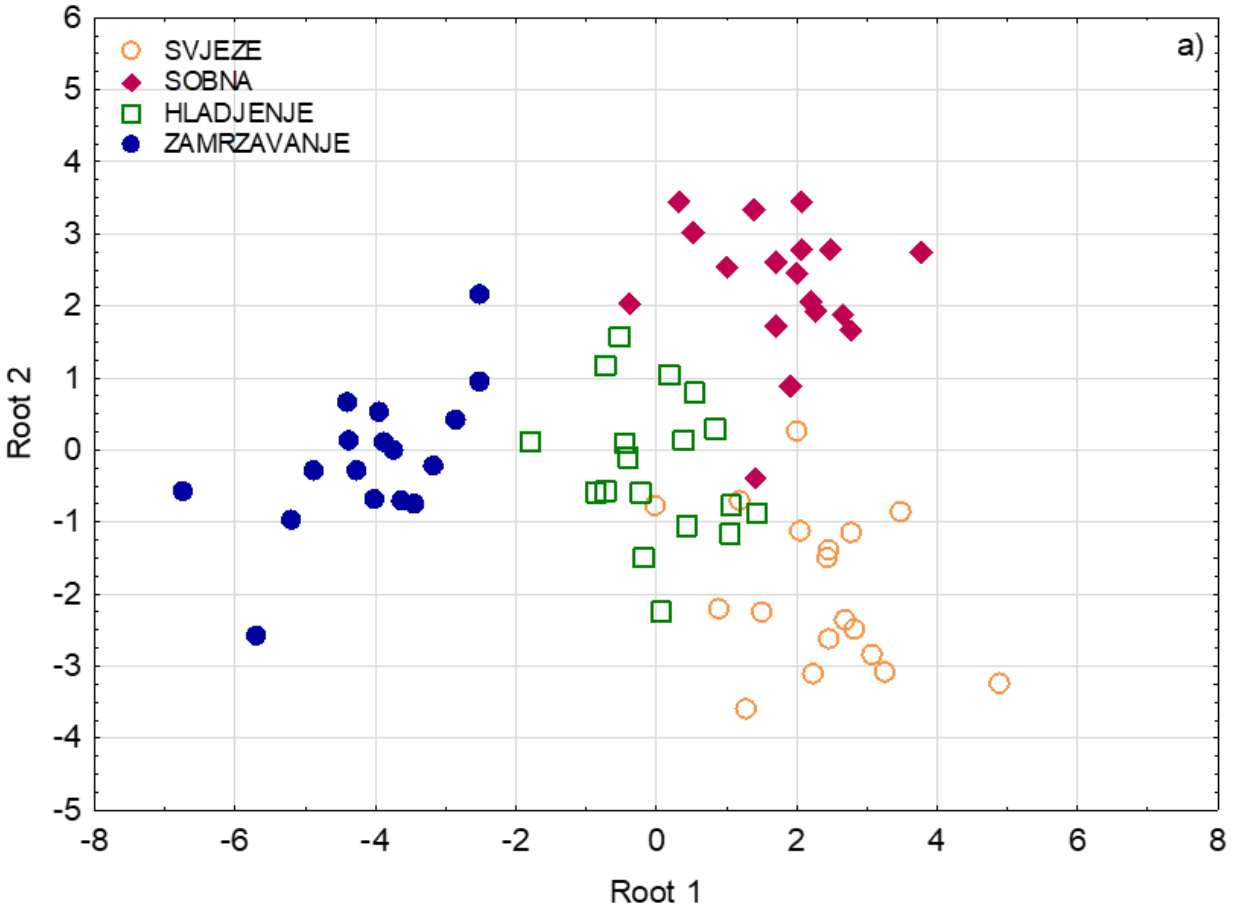
PCA

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | skladištenje



– relativno dobro međusobno razdvajanje sve 4 grupe, ne samo svježe ulje

- **% obtusifoliol** – pod utjecajem uvjeta skladištenja



1. **% obtusifoliol**
2. % gramisterola + cikloeukalenola
3. butirospermol
4. % δ-amirin
5. cikloartenol
6. δ-amirin
7. gramisterola + cikloeukalenola
8. obtusifoliol

   → 94 %

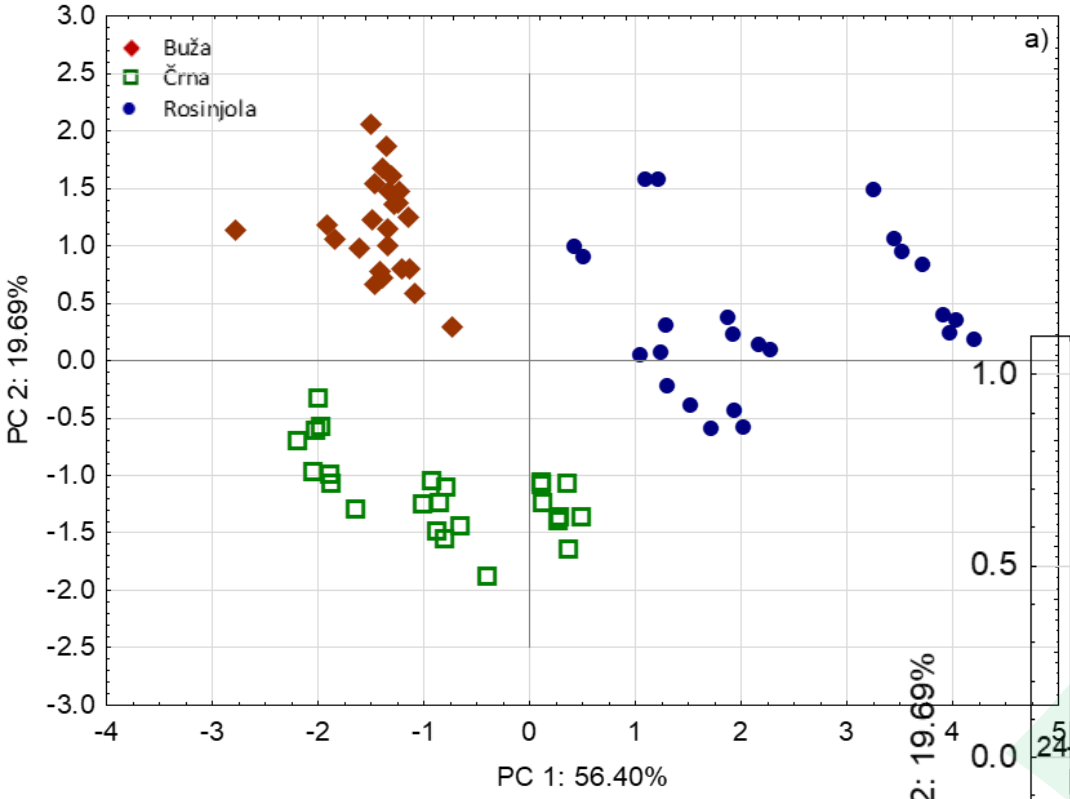
… 13.

LDA

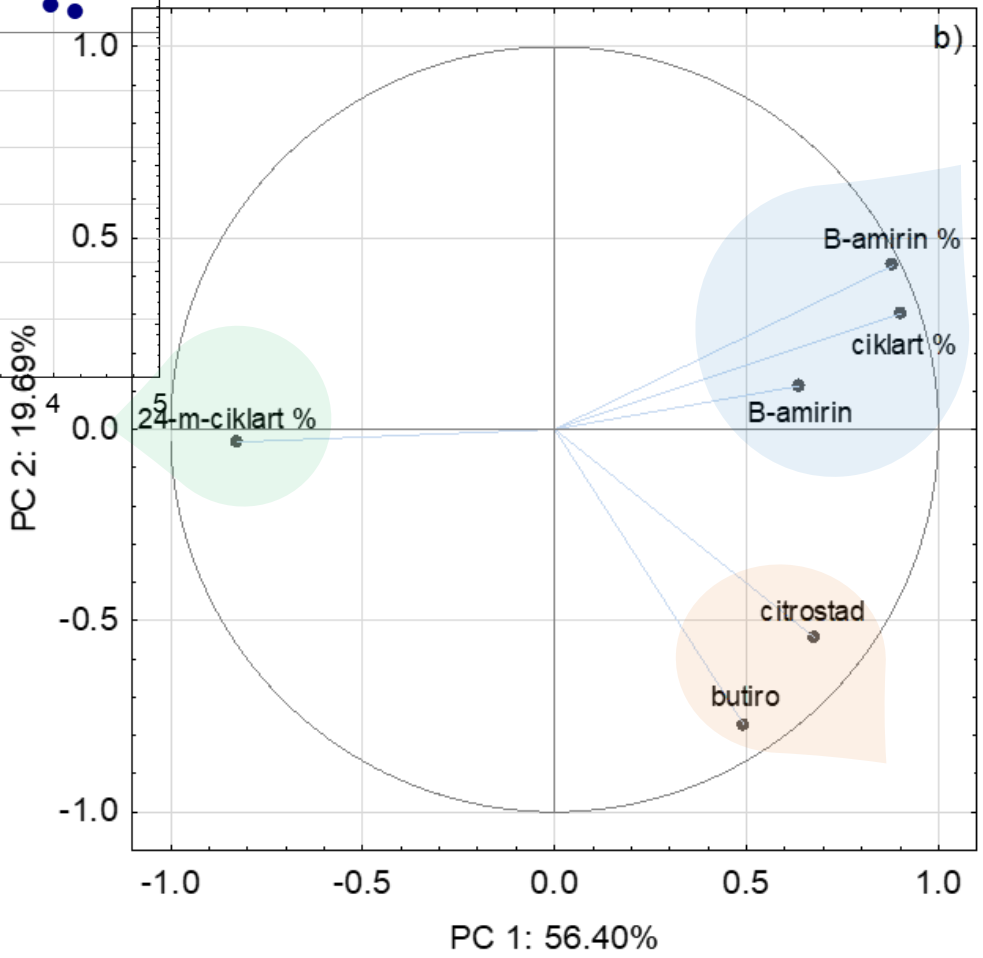
- **94 %** točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uzorka ulja; 16 varijabli)

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | sorta





- uspješno razdvajanje
(6 varijabli, 5 kao u svježim uz.)



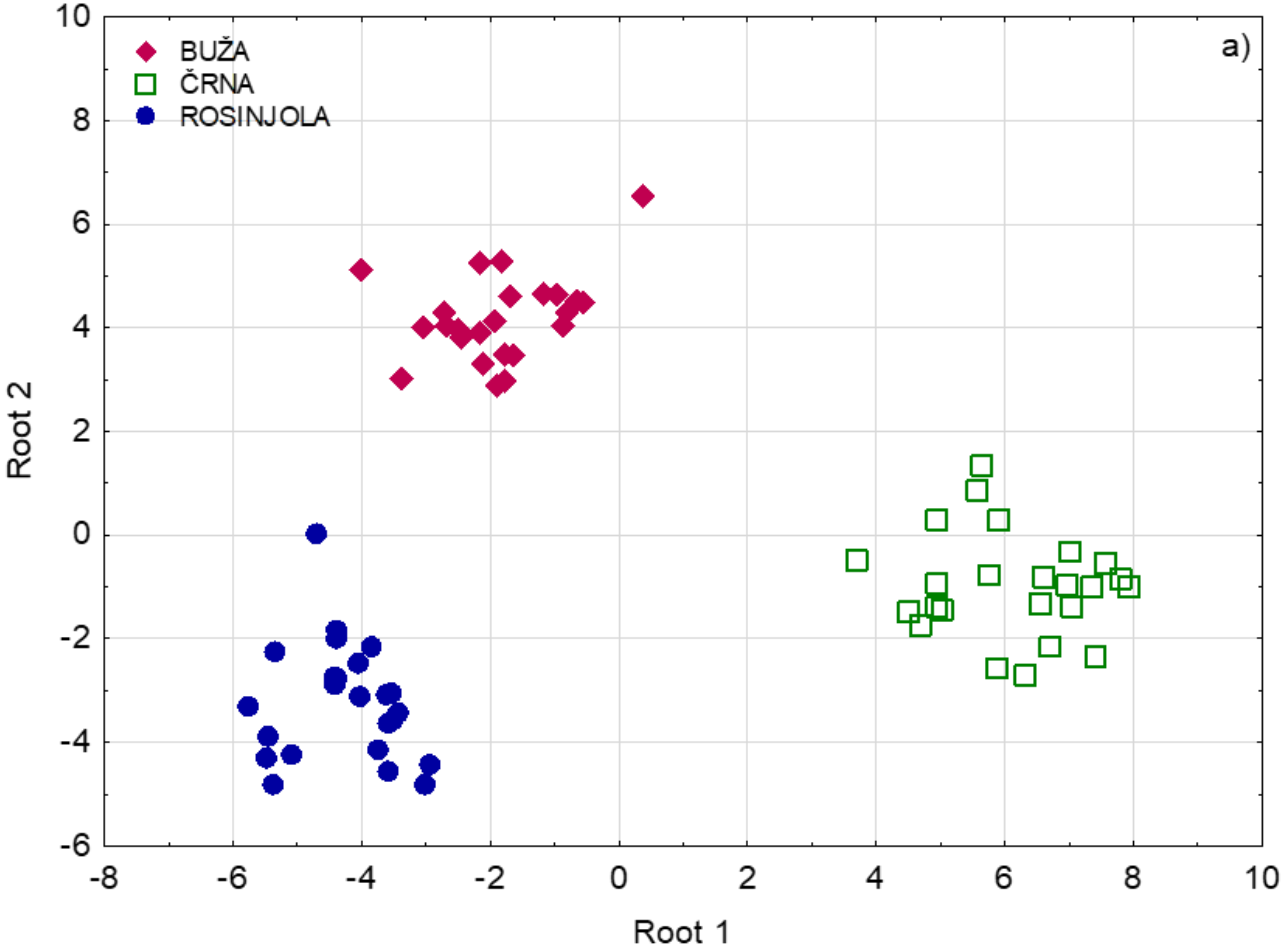
PC1 + PC2 = 76 %

- ulja pojedinih sorti – gotovo iste varijable kao u svježim uljima

PCA

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | sorta





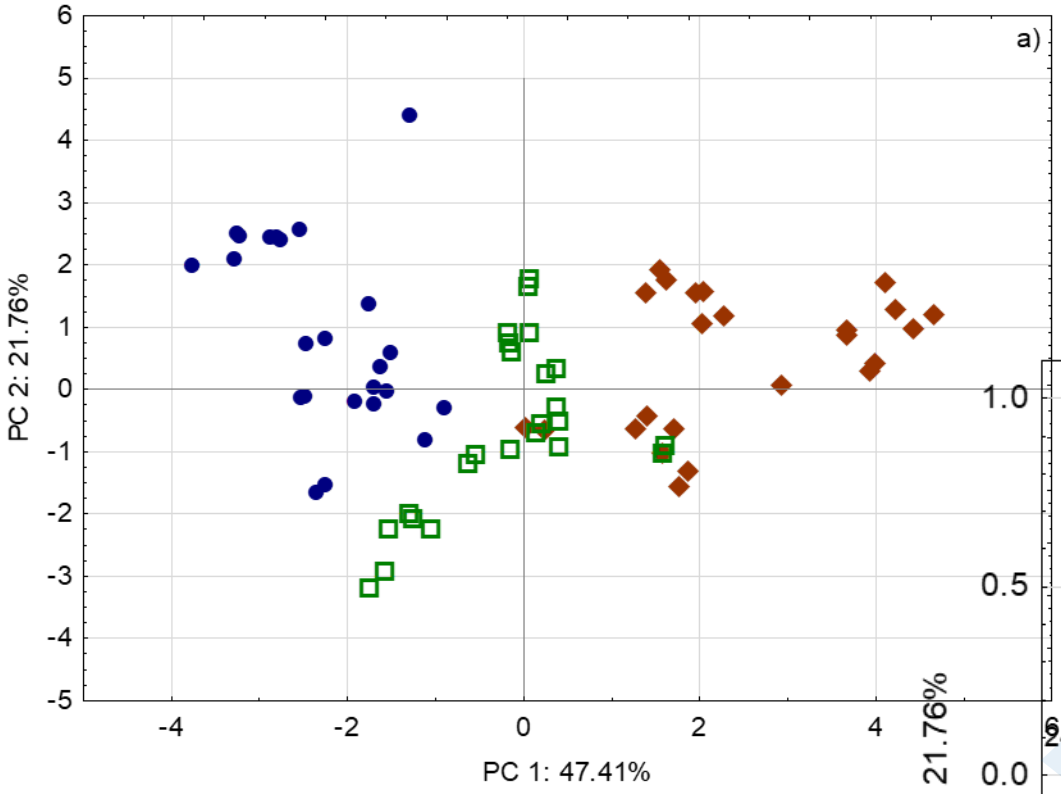
1. **% β-amirin**
   → 88% (100% R)
2. butirospermol
   → 99 % (100% Č)
3. cikloartenol
   → 100 %
4. δ-amirin
5. % gramisterol + cikloeukalenol
6. % cikloartenol

LDA

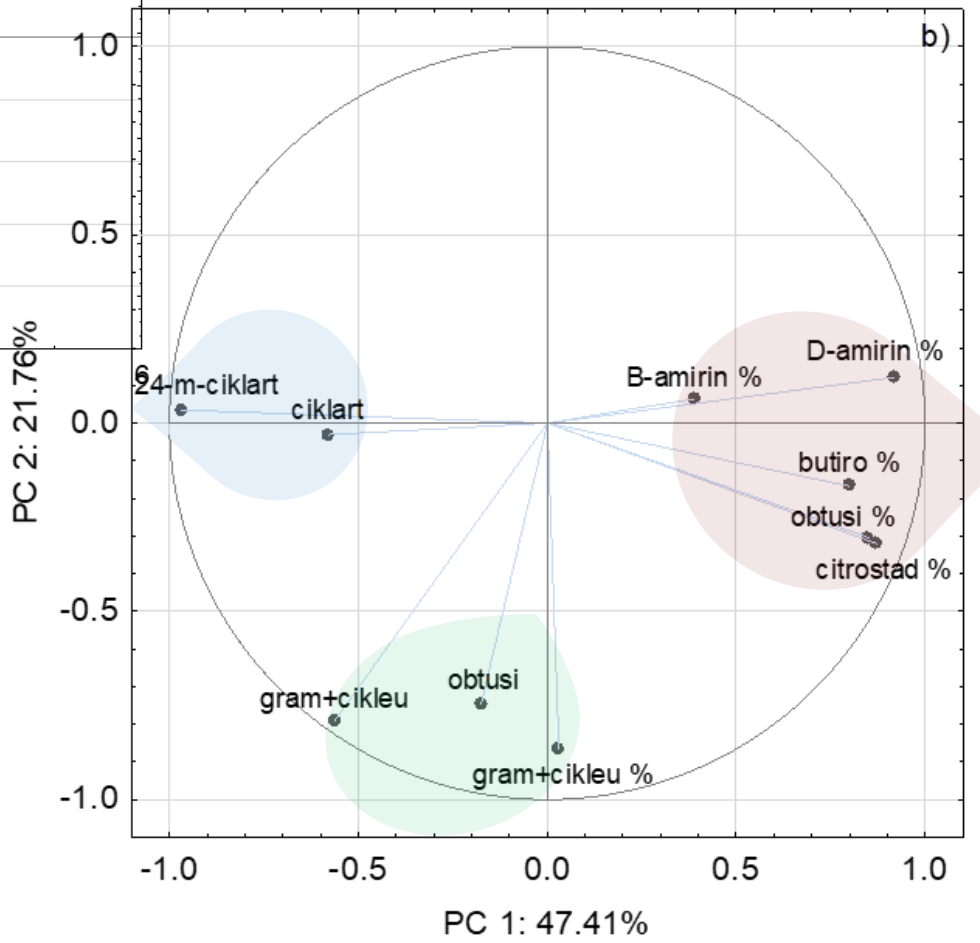
- **100 %** točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uzorka ulja; 16 varijabli)

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti





- relativno uspješno razdvajanje, rasap i preklapanje uzoraka



PC1 + PC2 = **69 %**

VARIJABLE IZ SETA SVJ. ULJA (5/10):

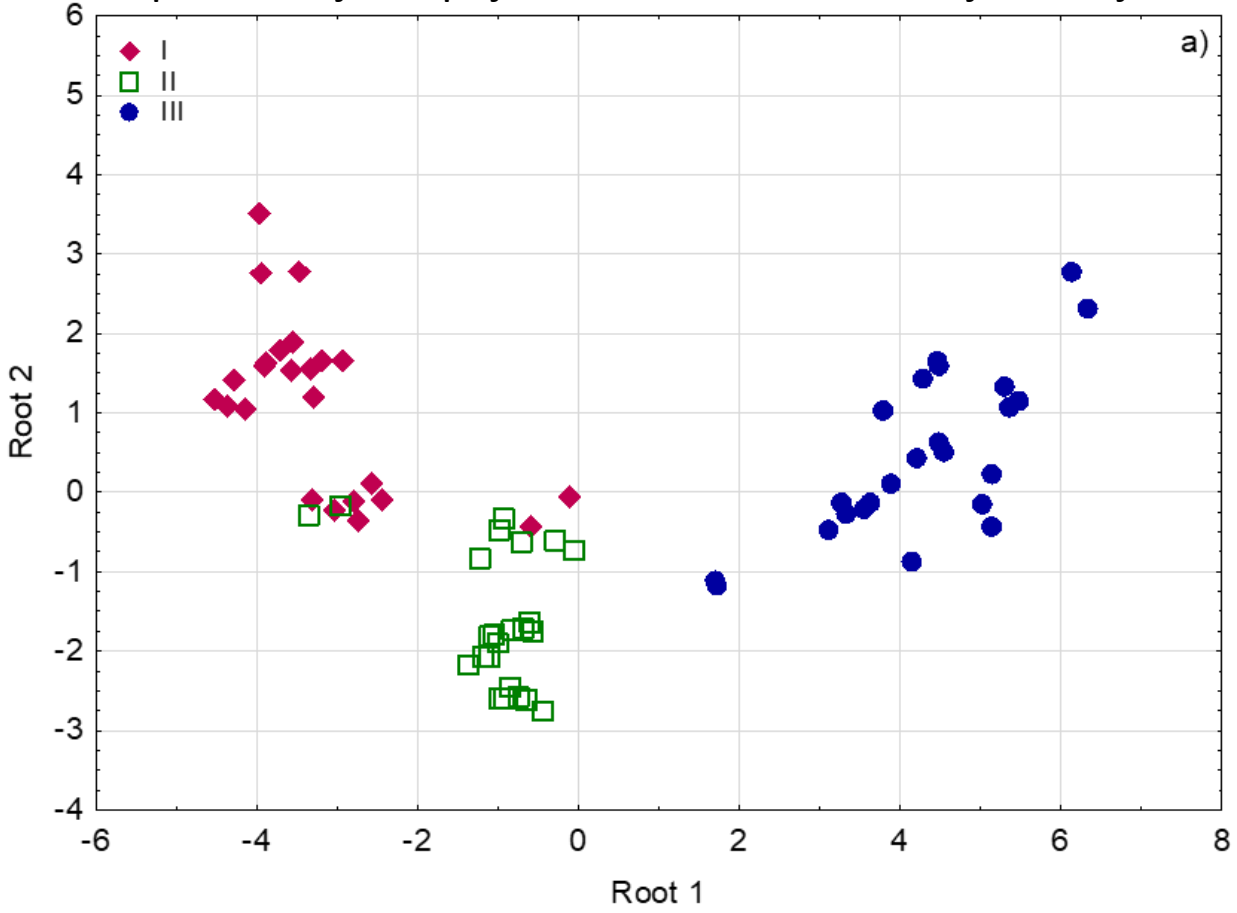
→ c (24-m-ciklart); c (ciklart); % (δ- i β-amirin); % (obtusifoliol), % (citrostadienol)

PCA

TRITERPENSKI A. | svježa i sklad. ulja | stupanj zrelosti



- Promjene nakon skladištenja – donekle utjecale na učinkovitost pokazatelja stupnja zrelosti utvrđenih u svježim uljima



1. 24-m-ciklart
2. % cikloartenol
3. β-amirin
4. **% δ-amirin**
5. **% obtusifoliol**
6. % citrostadienol
7. **citrostadienol**
8. cikloartenol

LDA

- **92 %** točna klasifikacija (18 svj.+ 54 sklad. = 72 uzorka ulja; 16 varijabli)

ZAKLJUČCI

Zaključci - 1/6

Sorta i stupanj zrelosti

1. značajno utječu na koncentracije i relativne udjele pojedinačnih i ukupnih sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola u maslinovim uljima hrvatskih sorti maslina, Buže, Črne i Rosinjole

2. značajna međuovisnost utjecaja ovih dvaju faktora

3. Multivarijatne metode statističke analize podataka:

   → uspješno razlikovanje i klasifikacija za oba faktora

   → pouzdani pokazatelji sortnog podrijetla, odnosno stupnja zrelosti, unatoč utjecaju drugog faktora

Zaključci - 2/6

Sortne karakteristike *(neovisno o stupnju zrelosti).*

4. B U Ž A

- maks. ***%*** (kolesterol, dokozanol, 24-metilen-kolesterol i ukupni 4,4-dimetil-steroli)
- min. ***c*** (kampesterol, klerosterol, β-sitosterol, Δ^5-avenasterol, $\Delta^{5,24}$-stigmastadienol, Δ^7-stigmastenol, ukupni β-sitosterol, ukupnih steroli i obtusifoliol)
- min. ***%*** (pentakozanol i citrostadienol)
- vrlo niske do niske koncentracije ukupnih sterola (117,8 – 145,0 mg/100 g)

5. Č R N A

- maks. c (24-metilen-kolesterol, klerosterol, β-sitosterol, Δ5-avenasterol, Δ5,24-stigmastadienol, ukupnog β -sitosterol i ukupni steroli)
- maks. % (β-sitosterol i pentakozanol)
- min. % (kampesterol i β-amirin)
- visoka do vrlo visoka koncentraciju ukupnih sterola (207,8 – 227,7 mg/100 g)

6. R O S I N J O L A

- maks. c (β-amirin, cikloartenol, heptakozanol i ukupni alifatski alkoholi)
- maks. % (kampesterol, stigmasterol, β-amirin i cikloartenol)
- min. % (ukupnog β-sitosterol i 24-metilen-kolesterol)
- niska do srednja koncentracija ukupnih sterola (148,3 – 181,3 mg/100 g)

➢ R II i R III: % (ukupni β-sitosterol) < 93 % (regulatorni minimum)

➢ R II : % (Δ7-stigmastenol) > 0,5 % (regulatorni maksimum)

Zaključci - 3/6

Karakteristike *stupnja zrelosti (neovisno o sorti):*

7. RANIJI STUPANJ ZRELOSTI

- min. ***c*** (24-metilen-kolesterol, stigmasterol, Δ^5-avenasterol, dokozanol, 24-metilencikloartenol, ukupnih 4,4-dimetil-sterol i ukupni triterpenski alkoholi)
- maks. ***%*** (δ-amirin, obtusifoliol, butirospermol, citrostadienol i ukupnih 4-monometil-steroli)
- min. ***%*** (24-metilen-kolesterol, stigmasterol, Δ^5-avenasterol, dokozanol, 24-metilencikloartenol i ukupni 4,4-dimetil-steroli)

8. SREDNJI STUPANJ ZRELOSTI

- maks. ***c*** (β-sitosterol, ukupnog β-sitosterol i ukupnih sterol)

9. KASNIJI STUPANJ ZRELOSTI

- maks. ***c*** (eritrodiol, 24-metilencikloartenol, ukupnih 4,4-dimetil-steroli i ukupni triterpenski alkoholi)
- maks. ***%*** (eritrodiol, tetrakozanol, cikloartenol i ukupni 4,4-dimetil-steroli)
- **niži *%*** (β-sitosterol, pentakozanol, heksakozanol i oktakozanol) **u odn. na st. zrelosti „II”**
- min. ***%*** (δ-amirin, obtusifoliol, butirospermol, citrostadienol i ukupni 4-monometil-steroli)

Zaključci - 4/6

10. Analitički pokazatelji sorte

- c_S (β-sitosterol i Δ^5-avenasterol)
- $\%_S$ (kampesterol)
- $\%_{TTA}$ (β-amirin)
- c_{AA} i $\%_{AA}$ (pentakozanol)

11. Analitički pokazatelji stupnja zrelosti

- c_S (24-metilen-kolesterol i eritrodiol)
- $\%_{TTD}$ (uvaol)
- sitostanol/uvaol
- $\%_{AA}$ (oktakozanol, trikozanol i dokozanol)
- $\%_{TTA}$ (obtusifoliol, δ-amirin i butirospermol)

Zaključci - 5/6

Vrijeme i temperatura skladištenja:

12. imaju utjecaj na c i % (S, AA, TTA), ali znatno slabije promjene u odnosu na sortu i/ili stupanj zrelosti

13. bez pravilnih promjena nakon skladištenja, ali utvrđene su tendencije:

- **↘ c (β-sitosterola, Δ5-avenasterola, uk. β-sitosterola i uk. sterola)**
- **↘ c, % ($\Delta^{5,24}$-stigmastadienola)**
- **↗ c, % ($\Delta^{5,23}$-stigmastadienola, Δ^{7}-stigmastenola i obtusifoliola)**

14. Pojedini S, AA, TTA - postojani pouzdani pokazatelji sortnog podrijetla ili stupnja zrelosti i nakon razdoblja skladištenja na različitim temperaturama

Zaključci - 6/6

Za donošenje zaključaka sa širom primjenom, istraživanja u budućnosti:

- **ostale hrvatske sorte → baze podataka**
- **više godina berbe, različiti klimatski uvjeti**
- **zemljopisna mikro lokacija, parametri uzgoja i proizvodnje**

Navedeno bi omogućilo:

- **očuvanje i valorizaciju bioraznolikosti autohtonog hrvatskog sortimenta maslina**
- **bolje upravljanje proizvodnjom vrhunskog sortnog maslinovog ulja**
- **priznavanje dodane vrijednosti proizvoda**
- **bolje gospodarenje sortama za koje sastav ne udovoljava zakonom propisanim granicama**

Hvala na pažnji!

Prehrambeno-tehnološki fakultet
Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

JAVNA OBRANA DOKTORSKE DISERTACIJE



Utjecaj sorte, stupnja zrelosti plodova masline i temperature čuvanja djevičanskog maslinovog ulja na sastav i koncentracije sterola te alifatskih i triterpenskih alkohola



Poslijediplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija i nutricionizam, smjer Prehrambena tehnologija

Pristupnica: **Marina Lukić**, dipl. ing. preh. tehn.

Mentor: **prof. dr. sc. Tihomir Moslavac**

Osijek, 7. srpnja 2022.