

Sveučilište u Splitu
Kemijско – tehnološki fakultet

Zavod za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju

Skripta za vježbe iz kolegija

PRERADA MASLINA

Doc.dr.sc. Ivana Generalić Mekinić

Mia Grga, mag.ing.chem.ing.

Split, 2015. godina

Sadržaj

Uvod

Analiza ploda masline

Vježba 1. Određivanje udjela vode u plodu masline

Vježba 2. Određivanje indeksa zrelosti

Vježba 3. Određivanje randmana maslinova ulja iz ploda masline ekstrakcijom organskim otapalom

Analiza maslinovog ulja

Vježba 4. Određivanje slobodnih masnih kiselina u maslinovom ulju

Vježba 5. Određivanje peroksidnog broja

Vježba 6. Određivanje saponifikacijskog broja maslinovog ulja

Vježba 7. Određivanje esterskog broja i udjela glicerina u maslinovom ulju

Vježba 8. Određivanje jednog broja maslinovog ulja

Vježba 9. Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području (K – brojevi)

Vježba 10. Kries-ov – test

Postupci konzerviranja maslina i kemijske analize naljeva

Vježba 11. Postupci konzerviranja maslina

Vježba 11.1. Odgorčavanje maslina u vodi

Vježba 11.2. Odgorčavanje maslina otopinom soli

Vježba 11.3. Odgorčavanje maslina natrijevom lužinom

Vježba 11.4. odgorčavanje maslina soljenjem (suhi postupak)

Vježba 12. Priprema i analiza naljeva za odgorčavanje plodova maslina lužinom – Manzanillo postupak konzerviranja maslina

Vježba 12.1. Određivanje koncentracije lužine u naljevu za odgorčavanje plodova maslina

Vježba 12.2. Određivanje koncentracije soli u naljevu za odgorčavanje plodova maslina

Vježba 13. Analiza naljeva konzerviranih maslina

Vježba 13.1. Određivanje pH vrijednosti naljeva konzerviranih maslina pH metrom

Vježba 13.2. Određivanje ukupne kiselosti naljeva konzerviranih maslina

Vježba 13.3. Određivanje sadržaja soli u naljevu konzerviranih maslina

Vježba 13.4. Određivanje reducirajućih šećera u naljevu konzerviranih maslina

Vježba 14. Konzerviranje maslina sušenjem solju

Vježba 15. Proizvodnja sapuna

Vježba 16. Senzorska analiza maslinovog ulja

Vježba 1. Određivanje udjela vode u plodu masline

Plod masline je bobica duguljastog ili okruglastog oblika koja se sastoji od kože (epikarp), mesa (mezokarp) i koštice (endokarp). Veličina i oblik ploda, odnos koštice i mesa te količina ulja i drugih sastojaka prvenstveno su sortna svojstva, a ovise također i o utjecaju drugih čimbenika (Škarica i sur., 1996).

Prosječan kemijski sastav ploda masline je 50% vode, 22 % ulja, 19,1 % ugljikohidrata, 5,8 % celuloze, 1,6 % proteina, 1,5 % minerala (pepeo). Plod masline sadrži i do 70 % vode u obliku vegetabilne vode (Boskou, 1996). U vodi su otopljene organske kiseline, tanini, oleuropein i drugi vodotopivi spojevi sadržani u plodu. Udio vode u plodu ovisi o stupnju zrelosti, sorti, klimatskim prilikama, opskrbljenosti vodom, kondiciji biljke i dr. Plodovi s visokim udjelom ulja imaju manje vode i obratno (Ročak, 2005).

Oprema:

- Kuhinjski nožić, posudica za sušenje, pinceta, sušionik, analitička vaga, eksikator.

Postupak:

Uzorak plodova maslina potrebno je usitniti i homogenizirati. U suhu, čistu i prethodno izvaganu posudicu odvaži se oko 5 g prethodno pripravljene paste od masline. Posudica se stavi u sušionik prethodno zagrijan na temperaturu od 105°C te se uzorak suši otprilike 8 do 10 sati do konstantne mase. Nakon hlađenja u eksikatoru, uzorak se izvaže te se konačna masa osušenog uzorka uvrsti u jednadžbu.

Sadržaj vode izražen u postotcima izračuna se prema jednadžbi:

$$w(\text{H}_2\text{O} \%) = (a - b) / c \times 100$$

w- maseni udio vode u uzorku (%)

a- masa posude s uzorkom prije sušenja (g)

b- masa posude s uzorkom poslije sušenja (g)

c- masa odvagane količine uzorka (g)

Vježba 2. Određivanje indeksa zrelosti

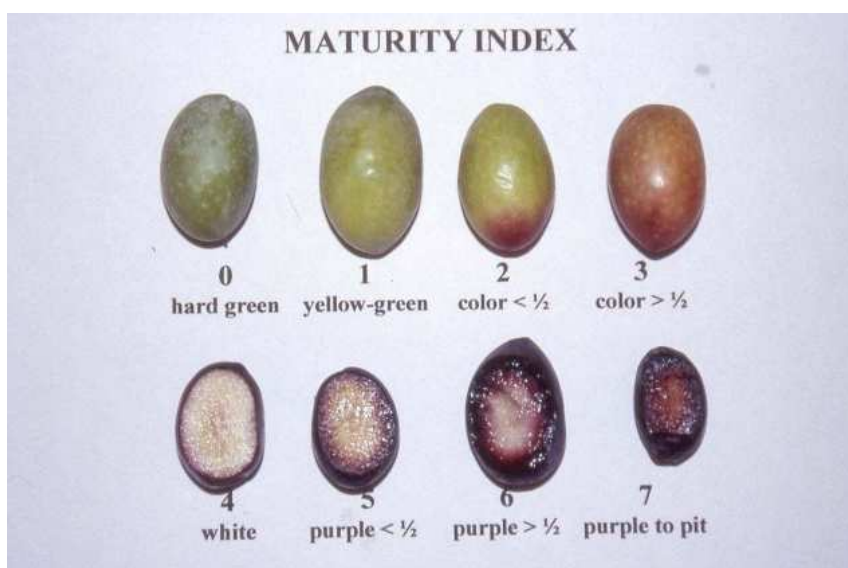
Plodovi masline u istom masliniku, čak i na istom stablu masline ne dozrijevaju niti mijenjaju boju u isto vrijeme. Stoga je određivanje indeksa zrelosti vrlo bitno proizvođačima kako bi kategorizirali nivo zrelosti plodova.

Indeks zrelosti je matematička mjera određivanja stupnja zrelosti ploda masline te optimalnog vremena berbe (Boskou, 1996). Iznos indeksa zrelosti omogućuje proizvođačima procjenu pojedinih sorti pod posebnim uvjetima uzgoja tijekom godine. To omogućuje procjenu pogodnog vremena berbe kako bi se dobilo ulje odgovarajuće kakvoće. U slučaju priprave ulja izvrsne kakvoće indeks zrelosti može omogućiti procjenu odgovarajućeg perioda berbe za sljedeće godine.

Postupak:

Nasumično ubrati plodove sa više stabala iste starosti, sa svih strana i svih položaja. Odabere se 100 plodova.

Plodovi se prepolove kako bi se dobio uvid u obojanost mesa te kako bi se olakšalo njihovo razdvajanje u 8 kategorija.



Slika 1. Kategorije zrelosti ploda masline (Anonimus 1)

Kategorije zrelosti ploda masline:

- 0** – Boja kože je u potpunosti zelena -> plod je tvrd
- 1** – Boja je žuto – zelena -> plod je blago omekšan
- 2** – Manje od polovice ploda mijenja boju u crvenu, ružičastu ili crnu točkastu pigmentaciju
- 3** – Više od polovice ploda mijenja boju u crvenu, ružičastu ili crnu točkastu pigmentaciju
- 4** – Kožica je cijela ružičasta ili crna s potpuno bijelim ili zelenim mesom
- 5** - Kožica je cijela ružičasta ili crna s manje od polovice mesa bijelog / zelenog
- 6** - Kožica je cijela ružičasta ili crna s više od polovice mesa bijelog / zelenog
- 7** – Kožica je cijela ružičasta ili crna s potpuno obojanim mesom (do koštice)

Zbroje se plodovi u pojedinim kategorijama te se indeks zrelosti (IZ) računa prema izrazu:

$$IZ = [(A \times 0) + (B \times 1) + (C \times 2) + (D \times 3) + (E \times 4) + (F \times 5) + (G \times 6) + (H \times 7)] / 100$$

A – H = broj plodova u pojedinoj kategoriji

0 – 7 = kategorije zrelosti ploda masline

Vježba 3: Određivanje sadržaja maslinovog ulja iz ploda masline ekstrakcijom organskim otapalom

Ekstrakcija otapalom omogućuje potpunu izolaciju ulja iz uzoraka. Ovo je određivanje ulja u suhim plodovima masline kako bi se uklonio utjecaj različitog sadržaja vode u plodovima koji ovisi o sezoni branja, te kako bi se odredio trend u akumulaciji ulja (Mailer i sur., 2005).

Reagensi:

- Petroleter

Oprema:

- Mlinac za usitnjavanje, sušionik, ekstraktor, analitička vaga.

Postupak:

Otpriblike 100 g otkošćenih plodova masline usitni se i oko 50 g paste stavi se na sušenje na 80°C / 24 sata. Osušeni materijal usitni se i homogenizira u mlinu. Homogeniziranoj smjesi doda se 200 mL petroletera i ekstrahira se 3 sata uz miješanje. Masa ulja odredi se gravimetrijski nakon otparavanja otapala, a rezultati se izražavaju kao postotak na masu ploda.

Vježba 4. Određivanje slobodnih masnih kiselina u maslinovom ulju

Prema Pravilniku o uljima od ploda i komine maslina (NN 7/09) maslinova ulja se razvrstavaju u sljedeće kategorije: djevičanska maslinova ulja, rafinirana maslinova ulja, maslinova ulja sastavljena od rafiniranih maslinovih ulja i djevičanskih maslinovih ulja, sirova ulja komine maslina, rafinirana ulja komine maslina te ulja komine maslina.

Djevičanska maslinova ulja dijele se dalje u kategorije pod nazivima: ekstra djevičansko maslinovo ulje, djevičansko maslinovo ulje i maslinovo ulje lampante koje ima neprihvatljiva senzorska svojstva. Sva navedena ulja iz kategorije djevičanskih maslinovih ulja dobivaju se izravno iz ploda masline isključivo mehaničkim postupcima te se međusobno razlikuju prema udjelu slobodnih masnih kiselina (SMK) izraženih kao oleinska kiselina na 100 g ulja. Razlike u dozvoljenom sadržaju

slobodnih masnih kiselina u djevičanskim maslinovim uljima prikazane su u Tablici 1 (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina NN 7/09).

Tablica 1. *Dozvoljene količine slobodnih masnih kiselina (SMK) u uljima iz kategorije djevičanskih maslinovih ulja*

Kategorija djevičanskih maslinovih ulja	Maksimalno dozvoljen udio SMK (g/100 g ulja)
Ekstra djevičansko maslinovo ulje	$\leq 0,8$
Djevičansko maslinovo ulje	$\leq 2,0$
Maslinovo ulje lampante	$\geq 2,0$

Princip određivanja:

Slobodne masne kiseline u maslinovom ulju određuju se titracijom sa otopinom kalij hidroksida.

Reagensi:

- **otopina kalij hidroksida ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ili $0,5 \text{ mol L}^{-1}$):** za pripravu $0,1 \text{ M}$ otopine odvaži se $2,81 \text{ g}$ kalij hidroksida i otopi u 500 mL etanola, dok se za pripravu $0,5 \text{ M}$ otopine, odvaži se pet puta veća količina soli, odnosno $14,03 \text{ g}$. Nakon pripreme otopina i pretakanja u boce od tamnog stakla, otopine trebaju odstajati prije upotrebe, a u konačnici moraju biti bezbojne ili blijedo žućkaste.
- **otopina fenolftaleina:** otopina se pripremi otapanjem 50 mg fenolftaleina u 5 mL etanola.
- **smjesa dietiletera i etanola ($1:1, \text{ V/V}$):** otopina se priprema miješanjem jednakih volumena otapala, 250 mL 95% etanola i 250 mL dietil etera. Pripravljenu mješavinu je neposredno prije upotrebe potrebno neutralizirati sa otopinom kalij hidroksida uz dodatak $0,3 \text{ mL}$ otopine fenolftaleina na 100 mL mješavine.

Napomena: u radu s dietil eterom potrebno je biti izuzetno oprezan jer je ovo otapalo izuzetno zapaljivo i može stvarati eksplozivne peroksidge.

Oprema:

- Analitička vaga
- Erlenmayerova tikvica sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Bireta od 10 mL

Postupak:

Količina uzorka potrebna za analizu ovisi o pretpostavljenom udjelu slobodnih masnih kiselina u istom (Tablica 2). Odabrana količina uzorka se odvaže u tikvicu volumena 250 mL te se istoj doda 50 mL prethodno neutralizirane smjese dietil etera i etanola te otopina fenolftaleina. Pripravljena smjesa se titrira 0,1 M otopinom kalij hidroksida uz miješanje. Titracija se smatra završenom kada dođe do promjene boje indikatora odnosno pojave blijedo-ružičastog obojenja koje treba biti postojano nekoliko sekunda. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina NN 7/09).

Tablica 2. Količine ulja za analizu ovisno o očekivanom udjelu slobodnih masnih kiselina (SMK)

Očekivani % SMK	Količina uzorka (g)	Točnost odvage (g)
< 1	20	0,05
1 – 4	10	0,02
4 – 15	2,5	0,01
15 – 75	0,5	0,001
> 75	0,1	0,0002

Napomena: Ukoliko je utrošak otopine kalij hidroksida kod titracije veći od 10 mL, potrebno je koristiti 0,5 M otopinu kalij hidroksida. Ako se otopina uzorka za vrijeme titracije zamuti, dodatkom dvostruke količine mješavine otapala ona će se izbistriti.

Izražavanje rezultata:

Udio slobodnih masnih kiselina (SMK) u maslinovom ulju izračunava se kao postotak oleinske kiseline prema izrazu:

$$\text{Slobodne masne kiseline (SMK) (\%)} = (V \times C \times M) / (10 \times m)$$

gdje je:

V- utrošak otopine kalij hidroksida za titraciju (mL)

C - koncentracija otopine kalij hidroksida (mol L^{-1})

M - molekulska masa oleinske kiseline (282 g mol^{-1})

m - težina analiziranog ulja (g)

Vježba 5. Određivanje peroksidnog broja

Oksidacijsko kvarenje ulja započinje već prilikom mljevenja uslijed oštećenja stanične strukture ploda djelovanjem endogenih enzima (peroksidaza i lipoksigenaza). Ipak, intenzitet oksidacijskog kvarenja ulja je zanemariv u odnosu na kvarenje koje je posljedica neadekvatnog čuvanja ulja (izloženost svjetlu, kisiku, toplini i sl.). Sastojci ulja koji su iznimno podložni oksidaciji su nezasićene masne kiseline, uglavnom dominantna jednostruko nezasićena oleinska kiselina te dvostruko nezasićena linolna kiselina. Produkti oksidacijskih reakcija, uslijed autooksidacije ili pak fotooksidacije, su hidroperoksidi te se kao mjerilo kemijske kakvoće ulja njihova količina određuje kemijskim analizama (Koprivnjak, 2006; Škarica i sur., 1996).

Peroksidni broj je po definiciji količina tvari u uzorku koje oksidiraju kalij jodid u opisanim uvjetima, izražena u miliekvivalentima aktivnog kisika po kg ulja. Može se izraziti i u miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina NN 7/09).

Ulja kod kojih se peroksidni broj kreće od 1 do 3 mmol O₂/kg smatraju se svježima i kvalitetnima, dok se prikladnima za ljudsku konzumaciju smatraju ulja kod kojih vrijednost peroksidnog broja ne prelazi 10 mmol O₂/kg. Ipak, peroksidni broj se smatra indikatorom početne faze oksidacije ulja jer su nastali hidroperoksidi iznimno nestabilni te se vrlo brzo razgrađuju u tzv. sekundarne produkte oksidacije (nezasićene ketone, aldehide, kiseline, epoksidi i dr.) (Koprivnjak, 2006).

Tablica 3. *Dozvoljene vrijednosti peroksidnog broja (P) u uljima iz kategorije djevičanskih maslinovih ulja*

Kategorija djevičanskih maslinovih ulja	Maksimalno dozvoljena vrijednost peroksidnog broja (mmol O ₂ /kg)
Ekstra djevičansko maslinovo ulje	≤ 10,0
Djevičansko maslinovo ulje	≤ 10,0
Maslinovo ulje lampante	–

Princip:

Uzorak ulja se otapa u mješavini octene kiseline i kloroforma/izooktana uz dodatak otopine kalij jodida. Oslobođeni jod titrira se standardiziranom otopinom natrij tiosulfata uz škrob kao indikator (Škarica i sur., 1996; Pravilnik o temeljnim zahtjevima za ulja od ploda i komine maslina, NN 63/06).

Reagensi:

- **Kloroform.**
- **Ledena octena kiselina.**
- **Zasićena vodena otopina kalij jodida**, svježe pripremljena i bez prisutnog joda i jodata
- **Otopina natrij tiosulfata koncentracije 0,01 mol/L.** Za pripravu 500 mL otopine potrebno je odvagati 1,2409 g natrij tiosulfata.
- **Otopina škroba koncentracije 10 g/L.** Odvage se 2 g škroba i pomiješa sa malo destilirane vode. Zatim se smjesi doda još 200 mL kipuće vode i 250 mg salicilne kiseline (kao konzervans) te se otopina prokuha. Ohlađena otopina postojana tijekom 2-3 tjedna, a potrebno ju je čuvati u hladnjaku).

Oprema:

- Erlenmayerova tikvica sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Bireta od 25 ili 50 mL

Postupak:

U tikvicu se odvage količina uzorka prema pretpostavljenom peroksidnom broju s točnošću od 0,001 g (Tablica 2). Uzorku se doda 10 mL kloroforma, 15 mL octene kiseline te 0,5 mL otopine kalij jodida. Tikvica se potom začepi, dobro protrese i ostavi točno 5 minuta u tami, nakon čega se doda 75 mL destilirane vode. Oslobođeni jod se uz miješanje titrira otopinom natrij tiosulfata, uz škrob kao indikator, sve do nestanka plave boje.

Uz analizu uzorka potrebno je provesti i slijepu probu. Ukoliko utrošak otopine natrij tiosulfata premaši 0,05 mL potrebno je zamijeniti onečišćena otapala (Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina NN 7/09). Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija.

Tablica 4. Količine ulja za analizu ovisno o očekivanom peroksidnom broju (P)

Očekivani peroksidni broj (mmol O ₂ /kg)	Količina uzorka (g)
0 – 6	5,0 – 2,0
6 – 10	2,0 – 1,2
10 – 15	1,2 – 0,8
15 – 25	0,8 – 0,5
25 – 45	0,5 – 0,3

Izražavanje rezultata:

Peroksidni broj (P) se može izraziti u milimolima aktivnog kisika po kilogramu (1), ili pak u miliekvivalentima aktivnog kisika po kilogramu (2), a računa prema izrazima:

$$(1) \quad \text{Peroksidni broj (P) (mmol O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / 2m$$

$$(2) \quad \text{Peroksidni broj (P) (mekv O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / m$$

gdje je:

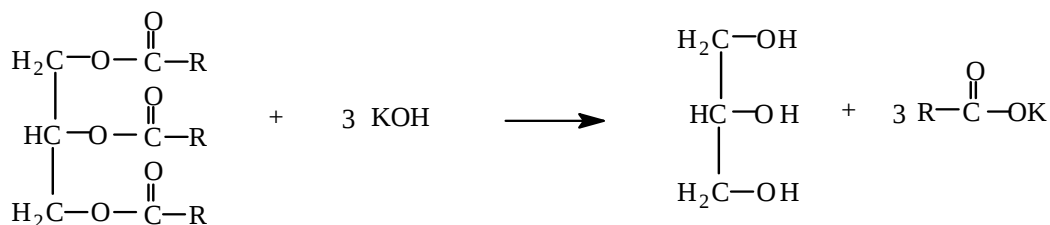
V- utrošak otopine natrij tiosulfata za titraciju (mL) korigiran s obzirom na slijepu probu

T - normalitet otopine natrij tiosulfata (0,01)

m - težina analiziranog ulja (g)

Vježba 6: Određivanje saponifikacijskog broja maslinovog ulja

Saponifikacija je proces razgradnje neutralnih masnoća na glicerol i masne kiseline djelovanjem lužine, dok je saponifikacijski broj mjera prosječne molekulske mase triacilglicerola u uzorku. Što je vrijednost saponifikacijskog broja niža to je viša prosječna molekulska težina triacilglicerola u uzorku. Saponifikacijski broj je obrnuto proporcionalan prosječnoj molekulskoj masi masnih kiselina ili duljini njihovog lanca.



Cilj:

Cilj metode je odrediti saponifikacijski broj maslinovog ulja.

Princip određivanja:

Saponifikacijski broj je definiran kao količina kalijevog hidroksida (u miligramima) potrebna da se neutraliziraju slobodne kiseline i saponificiraju esteri prisutni u 1 g uzorka maslinovog ulja.

Reagensi:

- **otopina kalij hidroksida ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$):** za pripravu $0,5 \text{ M}$ otopine odvaži se 30 g kalij hidroksida i otopi u 10 mL vode, nakon čega se otopina razrijedi 95%-tnim etanolom do volumena od 500 mL. Nakon pripreme otopina treba odstajati prije upotrebe 24 sata nakon čega se dekantira i filtrira u tamnu bocu.
- **otopina fenolftaleina:** otopina se pripremi otapanjem 50 mg fenolftaleina u 5 mL etanola.
- **otopina klorovodične kiseline ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$):** otpipetira se 21,14 mL 36,5% klorovodične kiseline u odmjernu tikvicu od 500 mL te se nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Oprema:

- Analitička vaga
- Tikvica po Erlenmayeru sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Vodena kupelj ili kuhalo sa azbestnom mrežicom
- Povratno hladilo
- Bireta

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu se odvaži oko 2 g maslinovog ulja te se uzorku doda 25 mL alkoholne otopine kalijeva hidroksida. Tikvica se postavi u vodenu kupelj te se na nju postavi povratno hladilo. Postupak saponifikacije se odvija uz lagano ključanje reakcijske smjese tijekom 30 minuta uz povremeno protresanje. Po završetku saponifikacije smjesa je u potpunosti bistra. Pripravljenoj smjesi se doda par kapi fenolftaleina i dok je još vruća se titrira sa otopinom klorovodične kiseline. Isti postupak se radi i za slijepu probu (bez uzorka ulja) kako bi se odredila količina klorovodične kiseline potrebna za neutralizaciju 25 mL alkoholne otopine lužine. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija.

Izražavanje rezultata:

Saponifikacijski broj (SB) izračunava se prema izrazu:

$$\text{Saponifikacijski broj (SB) (mg KOH/1g)} = (a - b) \times f \times 28,052 / m$$

gdje je:

a- utrošak otopine klorovodične kiseline za titraciju slijepe probe (mL)

b - utrošak otopine klorovodične kiseline za titraciju uzorka (mL)

f - faktor klorovodične kiseline

m - odvaga ulja (g)

28,052- mg KOH koje sadrži 1 mL otopine lužine, $c(\text{KOH})=0,5 \text{ mol L}^{-1}$

Vježba 7: Određivanje esterskog broja i udjela glicerina u maslinovom ulju

Esterski broj je definiran kao količina kalijevog hidroksida (u miligramima) potrebna da reagira sa glicerinom (glicerolom) nakon saponifikacije 1 g uzorka maslinovog ulja.

Esterski broj se računa iz razlike saponifikacijskog i kiselinskog broja prema izrazu:

$$\text{Esterski broj (EB)} = \text{Saponifikacijski broj (SB)} - \text{Kiselinski broj (KB)}$$

Kiselinski broj (mg KOH/1 g) se izračuna iz izraza:

$$\text{Kiselinski broj (KB)} = \text{Slobodne masne kiseline (SMK) (\%)} / 0,503$$

Udio glicerina (%) se izračuna prema izrazu:

$$\text{Glicerin (\%)} = \text{Esterski broj (EB)} \times 0,054664$$

Vježba 8. Određivanje jodnog broja maslinovog ulja

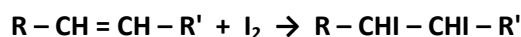
Jodni broj maslinovog ulja je mjera koja izražava količinu joda koju to ulje ili masna kiselina može vezati adicijom, odnosno može se smatrati mjerom njegova stupnja nezasićenosti. Prema definiciji, jodni broj izražava se kao grami joda koje apsorbira 100 g uzorka ulja. Broj atoma halogena koje neka nezasićena masna kiselina može adirati ovisi o broju prisutnih dvostrukih veza, pri čemu veći jodni broj ukazuje na veći broj dvostrukih veza u uzorku. Adicijom nastaju halogenidi dotičnih masnih kiselina, a brzina njihova nastanka, između ostalog ovisi i o konstituciji nezasićenih masnih kiselina. Zasićene masne kiseline ne mogu adirati halogene.

Cilj:

Cilj metode je odrediti jodni broj maslinovog ulja. Povišena vrijednost jednog broja maslinovog ulja ukazuje na njegovu osjetljivost prema oksidativnom kvarenju uslijed većeg stupnja nezasićenosti (iznad 75-95).

Princip:

Metoda za određivanje jednog broja maslinovog ulja temelji se na tretiranju uzorka ulja otopinom halogena u suvišku, pri čemu se u konačnici neadmirana količina halogena odredi titracijom s otopinom natrijevog tiosulfata uz škrob kao indikator.



Reagensi:

- Otopina natrijevog tiosulfata koncentracije 0,1 mol/L.
- Otopina joda.
- Otopina kalijevog jodida 10%.
- Otopina škroba 1%.

Oprema:

- Tikvica po Erlenmayeru sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Analitička vaga
- Trbušaste pipete volumena 15, 30 i 100 mL
- Bireta
- Propipeta

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu se odvaže 0,20-0,30 g maslinovog ulja pri čemu se odvagana masa uzorka zabilježi. Uzorku se doda 15 mL kloroforma te 30 mL otopine joda. Ukoliko se otopina nakon miješanja obezboji, potrebno je dodati još otopine joda. Količina dodanog joda mora biti tolika da je i nakon 2 sata uzorak intenzivno smeđe obojen. Pripravljena smjesa se ostavi 2 sata pri sobnoj temperaturi u tami da odstoji, što se smatra dovoljnim periodom da se reakcija adicije završi.

Uzorku se potom doda 15 ml otopine kalijevog jodida i 100 mL destilirane vode, nakon čega se izlučeni jod titrira otopinom natrijevog tiosulfata uz škrob kao indikator.

Paralelno s analizom uzorka radi se i slijepa proba (ponovljeni postupak bez dodatka uzorka ulja).

Iz razlike utroška otopine natrijevog tiosulfata za slijepu probu i utroška za uzorak ulja izračuna se količina adiranog joda na odvaganu količinu ulja.

Izražavanje rezultata:

Jodni broj maslinovog ulja računa se preko izraza:

$$\text{Jodni broj (g I}_2\text{/100 g ulja)} = [(a - b) / m] \times 1,269$$

gdje su:

a - utrošak otopine natrijevog tiosulfata za titraciju slijepa probe (mL)

b - utrošak otopine natrijevog tiosulfata za titraciju uzorka (mL)

m - odvaga ulja (g)

Vježba 9. Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području (K - brojevi)

Spektrofotometrijsko ispitivanje u ultraljubičastom području daje informaciju o kakvoći, stanju očuvanosti te o promjenama u uljima uzrokovanim tehnološkim postupcima.

U slučaju fotooksidacije, vezanje kisika na lanac višestruko nezasićene (polinezasićene) masne kiseline izaziva premještanje dvostruke veze iz izoliranog u konjugirani položaj. Konjugirane dvostruke veze apsorbiraju energiju ultraljubičastog zračenja, što omogućuje procjenu stupnja oksidiranosti ulja putem K – vrijednosti.

Najzastupljenije polinezasićene masne kiseline u maslinovom ulju su linolna i linolenska kiselina. Iz linolne kiseline (dvostruko nezasićena, 18:2) nastaju konjugirani dieni, čiji je maksimum apsorpcije pri 232 nm. Iz linolenske kiseline (trostruko nezasićena, 18:3) nastaju konjugirani trieni, s maksimumom apsorpcije kod 270 nm (Koprivnjak, 2006). Vrijednosti tih apsorbancija izražene su kao specifična ekstinkcija E 1% 1 cm (ekstinkcija 1% - tne otopine ulja u predviđenom otapalu s duljinom puta od 1 cm) i dogovoreno se označavaju sa K (koeficijent ekstinkcije).

Ulja dobre kvalitete, svježe proizvodnje ili dobro očuvana, uglavnom imaju vrijednosti $K_{232} < 1,80$, dok se vrijednosti $K_{232} > 2,20$ javljaju kod starih ili loše očuvanih ulja (Koprivnjak, 2006).

Pribor:

- Spektrofotometar s mogućnošću mjerenja apsorbancije u području od 220 do 360 nm
- Kvarcne kivete s poklopcem i duljinom prolaza zrake 1 cm. Kivete napunjene vodom ili drugim prikladnim otapalom ne smiju dati razlike u ekstinkciji veće od 0,01 jedinice.
- Odmjerne tikvice od 25 ml
- Staklena kromatografska kolona duljine 45 cm i promjera 3,5 cm sa izlaznom cijevi promjera oko 1 cm
- Rotirajući vakuum uparivač

Reagensi:

- **Izooktan (2,2,4 - trimetilpentan)**, spektrofotometrijske čistoće, koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 60% pri 220 nm te najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu ili:
- **Cikloheksan**, spektrofotometrijske čistoće, koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 40% pri 220 nm te najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu
- **Bazični aluminij oksid** za kromatografiju na koloni pripremljen na sljedeći način:
Bazični aluminij oksid osuši se u peći pri temperaturi 380 – 400°C / 3 sata. Nakon hlađenja u eksikatoru, aluminij oksid se prebaci u tikvicu, izvaže, doda mu se 5 ml destilirane vode na 100 g i odmah hermetički zatvori. Sadržaj se sa tikvicom miješa oko 15 minuta te ostavi mirovati najmanje 12 sati prije upotrebe.
- **n-heksan**, za kromatografiju

Postupak:

Uzorak treba biti u potpunosti homogen i bez nečistoća u suspenziji. U slučaju potrebe, ulja treba filtrirati preko filter papira pri temperaturi od oko 30°C.

Od pripremljenog uzorka točno se odvaže oko 0,25 g u odmjernu tikvicu od 25 ml te se nadopuni do oznake sa otapalom (izooktan ili cikloheksan) i dobro izmučka. Dobivena otopina treba biti savršeno bistra. U slučaju da se uoči opalescencija ili mutnoća, potrebno je otopinu brzo filtrirati preko filter papira.

S pripremljenom otopinom napuni se kvarcna kiveta, te se mjere apsorbancije pri određenim valnim duljinama između 232 i 276 nm. Očitane vrijednosti apsorbancija trebaju se nalaziti unutar intervala od 0,1 do 0,8. u suprotnom treba ponoviti mjerenja radeći prema potrebi sa koncentriranijim ili razrijeđenijim otopinama.

Rezultati:

Koeficijenti ekstinkcije pri raznim valnim duljinama računaju se prema slijedećem izrazu:

$$K_{\lambda} = E_{\lambda} / (c \times s)$$

K_{λ} – specifična apsorbancija pri valnoj duljini λ

E_{λ} – izmjerena apsorbancija pri valnoj duljini λ

c – koncentracija otopine u g/100 ml

s – duljina puta zrake u cm

Spektrofotometrijsko ispitivanje maslinova ulja prema službenoj metodi EEC propisuje određivanje ekstinkcije otopine ulja u izooktanu pri 232 i 270 nm. Izračunavanje vrijednosti ΔK provodi se prema slijedećem izrazu:

$$\Delta K = K_m - [(K_{m-4} + K_{m+4}) / 2]$$

K_m – specifična apsorbancija maksimuma pri valnoj duljini od oko 270 nm (najčešće se uzima raspon od +/- 2 nm).

NAPOMENA:

Prema važećoj regulativi Međunarodnog komiteta za maslinovo ulje (IOOC) ovisno o vrsti otapala koje se koristi trebali bi se izražavati maksimumi pri 268 nm kada se koristi izooktan, odnosno pri 270 nm kada se koristi cikloheksan (COI/T20/Doc. no. 19/Rev. 3).

Vježba 10. Kries-ov test

Kries test koristi se kako bi se utvrdio stupanj užglosti maslinovog ulja.

Reagensi:

- 0,1 % otopina floroglucinola u dietil eteru
- koncentrirana klorovodična kiselina

Postupak:

Pomiješa se 5 ml uzorka ulja s 5 ml 0,1% otopine floroglucinola u dietil eteru i doda 5 ml koncentrirane klorovodične kiseline. Pojava ružičaste boje ukazuje na pojavu užglosti kod ulja.

Vježba 11. Postupci konzerviranja maslina

11.1. Odgorčavanje maslina u vodi

Odgorčavanje maslina tretiranjem s vodom jedan je od najčešćih tradicionalnih načina. Postupak se sastoji u čestim izmjenama vode u kojima se masline potope tijekom 10-14 dana dok se ne odgorče. Gorki glikozid oleuropein se ovim postupkom izvlači iz maslina u vodu koja se redovno izmjenjuje. Općenito ovim načinom prerade ne dolazi do fermentacije.

Odgorčenim maslinama se doda 10% w/v otopina soli (NaCl). Tijekom vremena kada se koncentracija soli izjednači u vodi i maslini koncentracija soli u naljevu padne na otprilike 6-7 % w/v. Ova metoda je pogodna za kućno odgorčavanje, ali nije za industrijsku primjenu.

Nedostaci ove metode su velike količine vode i rizik od mikrobiološkog kvarenja.

11.2. Odgorčavanje maslina otopinom soli

Vrijeme odgorčavanja maslina ovim postupkom ovisi o sorti, stadiju zrelosti, veličini plodova i omjeru meso:koštica.

Za odgorčavanje zelenih maslina potrebno je čak do 1 godine, dok se prirodno crne masline odgorčavaju 3 mjeseca. Difuzija supstrata je brža kada su masline prethodno tretirane s lužinom ili blanširane 1-2 minute. Do odgorčavanja dolazi uslijed izdvajanja oleuropeina u naljev i njegovom degradacijom i hidrolizom u manje gorke produkte. Uslijed hidrolize oleuropeina, u naljev se otpuštaju i male količine šećera što također pogoduje fermentaciji.

CRNE MASLINE "GREEK STYLE"

Postupak:

Oprane masline se stavljaju u 8 – 10% w/v otopinu soli nakon čega se osiguraju anaerobni uvjeti. Tijekom vremena plodovi primaju sol i kreće spontana fermentacija.

Sol u naljevu izvlači iz plodova vodotopive komponente, šećere, organske kiseline i minerale. Ove tvari su supstrat i nutrijenti potrebni za fermentaciju bakterijama i kvascima. Tijekom fermentacije šećeri se pretvaraju u mliječnu i octenu kiselinu, alkohol i ostale tvari koje doprinose okusu maslina.

Tijekom prerade ovom metodom pH naljeva pada s neutralnog (pH=7) na pH 4-5 ovisno o količini i tipu kiselina koje nastaju fermentacijom.

Potrebno je 6 – 8 tjedana da se izjednači udio soli u plodu i naljevu (6-7% w/v).

11.3. Odgorčavanje maslina natrijevom lužinom

ZELENE MASLINE "SPANISH STYLE"

Postupak:

Oprane masline se postavljaju u tank napunjen otopinom lužine NaOH (1,3-2,6% w/v) tijekom 5-7 sati ili više da se odgorče. Primjenom viših temperatura brzina prodiranja lužine u plodove je brža.

Tretiranje lužinom se radi tako da ona proдре kroz $\frac{3}{4}$ mesa ostavljajući netaknutim mali dio mesa uz košticu. Ovaj netaknuti dio mesa sadrži potrebne šećere za fermentaciju i osigurava blago gorak okus

maslinama. Lužina djeluje na oleuropein prevođenjem te tvari u manje gorke komponente kao što su hidroksitirosol i elenolna kiselina. Hidroksitirosol brže izlazi iz mesa masline u naljev i njegova koncentracija ostaje nepromijenjena tijekom fermentacije.

Tretiranje lužinom povećava propusnost pokožice ploda masline omogućavajući dvostranu izmjenu topljivih tvari, osobito fermentabilnih.



Kada se masline tretiraju lužinom, razina prodiranja se može pratiti križanjem maslina i promjenom boje mesa. Također se može vizualizirati kapanjem nekoliko kapi fenolftaleina kada dolazi do pojave crvenog obojenja.

Niske koncentracije lužine daju maslinama tamno zelenu boju dok veće koncentracije izvlače vodotopive fermentabilne tvari i omekšavaju plodove zbog promjena u teksturi mesa.

Tretiranje lužinom završava ispiranjem vodom (prvo ispiranje 2 sata, drugo ispiranje 10-20 sati).

Nakon ispiranja nadolijeva se naljev (10-12% w/v soli).

Zakiselji se kiselinom (mliječna, octena, HCl) do pH 6,2-6,5.

11.4. Odgorčavanje maslina soljenjem (suhi postupak)

Na ovaj način pripremaju se prirodno crne masline. plodovi se slažu u plitke posude u više redova između kojih se posipa sol i to u omjeru 10 – 20 % w/w težine maslina. Posude bi trebale omogućavati otjecanje vegetabilne vode koja se nakuplja na dnu uslijed djelovanja soli na plodove. Potrebno je od 4 do 6 tjedana kako bi se proces konzerviranja u potpunosti završio.

Vježba 12. Priprema i analiza naljeva za odgorčavanje plodova maslina lužinom

- Manzanillo postupak konzerviranja maslina

Postupak odgorčavanja plodova maslina tretiranjem sa otopinom lužine jedna je od najpopularnijih i najkorištenijih metoda prilikom njihova konzerviranja. Postupci koji se kod ove metode koriste znatno se razlikuju u pojedinim zemljama (Grčka, Italija, Turska, Cipar, itd.), postoje i razlike u jačini korištene otopine lužine, vremenu tretiranja plodova, postupcima koji prethode samom odgorčavanju (potapanje plodova u vodi), kao i različitim zahtjevima za gorčinom finalnih plodova. Vrijeme tretiranja plodova masline lužinom ovisi o sorti, stupnju zrelosti plodova, njihovoj veličini, te omjeru mesa i koštice ploda. Za odgorčavanje se obično koriste otopine lužine jakosti od 1,3-2,6% w/v.

Proces odgorčavanja maslina temelji se na difuziji spoja koji je zaslužan za gorak okus plodova, *oleuropeina*, iz ploda (mesa) masline u otopinu lužine i njegovoj hidrolizi u spojeve koji su manje gorkog okusa, kao što su hidroksitirozol i elaginska kiselina. Nivo penetracije otopine lužine u plod masline može se pratiti dokapavanjem fenoftaleina na plod pri čemu se javlja ljubičasto obojenje. Provjera difuzije lužine u plod vrši se otprilike svakih 30 minuta do 1 sata, a obično se odgorčavanje vrši sve dok lužina ne prodre u 2/3 mesa ploda ostavljajući netaknutom dio mesa uz košticu. Navedeni neodgorčeni dio mesa sadrži šećere potrebne za fermentaciju i osigurava blago gorak okus maslinama.

Napomena:

Prilikom otapanja lužine dolazi do egzotermne reakcije te je zbog sigurnosti postupka **odvaganu lužinu potrebno dodati u vodu**, a nikako ne obrnuto! Prilikom pripreve ove otopine potrebno je nositi **zaštitne naočale i rukavice**.

Pribor:

- analitička vaga, pipete od 1 i 5 mL, bireta, staklena čaša od 500 mL, Erlenmayer tikvica od 250 mL, kapaljka

Reagensi:

- ☐ Otopina natrijevog hidroksida.
- ☐ Otopina natrijevog klorida.
- ☐ Otopina klorovodične kiseline
- ☐ Otopina srebrovog nitrata, $c = 0,1 \text{ mol/L}$
- ☐ Otopina kalijevog kromata, 5%
- ☐ Otopina nitratne kiseline, 10%
- ☐ Otopina fenolftaleina, 1%.

Postupak:

Za odgorčavanje plodova masline potrebno je pripremiti 500 mL otopine koja sadržava 1,3-2,6% lužine te 0,97-1,03% soli (g/100 mL).

Zadatak:

Izračunati masu lužine i soli koju je potrebno odvagati za pripremu 500 mL otopine najniže odnosno najviše propisane koncentracije.

Provjera točnog sadržaja lužine i soli u naljevu određuje se titrimetrijskim metodama, pošto se sadržaj soli u pripremljenoj otopini ne može odrediti refraktomjerom zbog prisustva lužine.

Vježba 12.1. Određivanje koncentracije lužine u naljevu za odgorčavanje plodova maslina**Postupak:**

U Erlenmayer tikvicu se otpipetira 5 mL pripremljene otopine te se doda otprilike 50 mL destilirane vode. Pripremljenoj otopini se doda nekoliko kapi fenolftaleina te se ista titrira 0,1 M otopinom klorovodične kiseline. Završna točka titracije je postignuta kada otopina poprimi blijedo-ljubičastu boju. Utrošak otopine klorovodične kiseline se zapravo volumen otopine koja je potrebna da se neutralizira lužina prisutna u 5 mL uzorka.

Izračun:

1 mL 0,1 M otopine klorovodične kiseline ekvivalentan je sa 0,004 g natrijeve lužine.

Postotak natrijeve lužine u naljevu se određuje prema izrazu:

$$\text{Udio NaOH (\%)} = V \times 0,08$$

V- volumen utrošene otopine klorovodične kiseline za titraciju (mL)

**Vježba 12.2. Određivanje koncentracije soli u naljevu za odgorčavanje plodova
maslina**

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu se otpipetira 1 mL pripremljenog naljeva, 50 mL destilirane vode i doda se par kapi fenolftaleina pri čemu će otopina poprimiti ljubičastu boju uslijed prisustva hidroksida. Otopini se dodaje kap po kap otopina nitratne kiseline sve dok ljubičasto obojenje ne nestane.

Neutraliziranoj otopini se doda 1 mL otopine kalijevog kromata te se ista titrira otopinom srebrovog nitrata sve do pojave prvih tragova crvenog obojenja.

Izračun:

Udio natrijevog klorida u naljevu se određuje prema izrazu:

$$\text{Udio NaCl (\%)} = V \times 0,5845$$

V- volumen utrošene otopine srebrovog nitrata za titraciju (mL)

Korekcija pripremljene otopine:

Ukoliko rezultati analize naljeva (udio lužine i soli) nisu u predviđenim granicama, potrebno je izvršiti korekciju istih i ponovno prekontrolirati navedene parametre.

Vježba 13. Analiza naljeva konzerviranih maslina

13.1. Određivanje pH vrijednosti naljeva konzerviranih maslina pH metrom

pH vrijednost otopine je određena koncentracijom vodikovih iona koje ista sadrži. pH vrijednost je zapravo mjera razlike potencijala dviju elektroda, od kojih je potencijal jedne elektrode u funkciji pH vrijednosti otopine, dok druga elektroda ima stalan i poznat potencijal i predstavlja referentnu elektrodu.

Reagensi:

- standardne puferske otopine za baždarenje pH-metra

Oprema:

- laboratorijski pH-metar sa kombiniranom staklenom elektrodom
- čaša od 100 ml
- boca štrcaljka
- papirnati ubrusi

Baždarenje i postupak rada s pH-metrom:

Elektroda pH-metra se čuva u otopini kalijevog klorida, $c(\text{KCl})=3 \text{ mol L}^{-1}$, kako bi se spriječilo njeno sušenje, uslijed čega bi elektroda postala troma (tj. potencijal elektrode bi se sporo stabilizirao). Prije korištenja elektrodu je potrebno isprati destiliranom vodom i pažljivo obrisati. Baždarenje elektrode pH-metra se izvodi prema uputama za rad s laboratorijskim pH-metrom. Nakon završenog baždarenja elektrodu je potrebno još jednom isprati destiliranom vodom nakon čega je spremna za analizu uzorka.

Postupak:

Elektrodu uroniti u uzorak naljeva temperature između 20 i 25°C. Kada se pH vrijednost ustali, direktno se pročita s displeja. Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija.

13.2. Određivanje ukupne kiselosti naljeva konzerviranih maslina

Cilj:

Cilj metode je odrediti ukupni sadržaj svih titribilnih kiselina (izraženu u g/100 mL) u uzorku naljeva konzerviranih maslina.

Princip:

Sadržaj ukupnih kiselina u naljevu određuje se titracijom uzorka otopinom natrij hidroksida, uz fenolftalein kao indikator.

Reagensi:

- **Otopina natrij hidroksida koncentracije 0,2 mol/L.** Za pripravu 500 mL otopine potrebno je otopiti 3,9997 g natrij hidroksida.
- **Otopina fenolftaleina 1%.** Otopina se pripremi otapanjem 50 mg fenolftaleina u 5 mL etanola.

Oprema:

- Erlenmayer tikvica sa brušenim grlom i čepom od 250 mL
- Bireta
- Trbušasta pipeta volumena 10 mL

Postupak:

U tikvicu se otpipetira 10 mL uzorka naljeva i doda se otprilike 1 mL otopine indikatora (fenolftaleina). Pripravljena smjesa se titrira 0,2 M otopinom natrij hidroksida uz miješanje. Na završetak titracije ukazuje pojava blijedo – ružičastog obojenja koje treba biti postojano nekoliko sekunda.¹ Za svaki uzorak potrebno je provesti dva određivanja, a rezultat se prikazuje kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Izražavanje rezultata:

Udio ukupnih titribilnih kiselina u naljevu, izražava se u g/100 mL, a izračunava se prema izrazu¹:

$$\text{Ukupne kiseline (g/100 mL)} = 0,9 \times V \times M$$

gdje je:

V – utrošak otopine natrij hidroksida (mL)

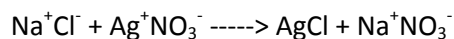
M – molarna koncentracija otopine natrij hidroksida (0,2)

13.3. Određivanje sadržaja soli u naljevu konzerviranih maslina

Princip konzerviranja maslina u naljevu temelji se na stvaranju nepovoljnih uvjeta (visoka koncentracija soli) za rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama te sprječavaju aktivnost pojedinih enzima. Uobičajeno se za konzerviranje koristi naljev sa sadržajem soli od 8-10% (w/v).¹

Volhard metodom se titracijom standardnom otopinom srebro nitrata, uz kalij kromat kao indikator, određuje količina soli (natrij klorida) u naljevu. Kao indikator završetka titracije, boja otopine uzorka se mijenja iz žute u blijedo-crvenu.^{1,2}

Reakcija navedene promjene može se prikazati jednadžbom¹:



Cilj:

Cilj metode je odrediti koncentraciju soli, natrij klorida (izraženu u g/100 ml) u uzorku naljeva konzerviranih maslina.

Princip:

Za određivanje koncentracije soli u naljevu, uzorak se titrira otopinom srebro nitrata, uz kalij kromat kao indikator, sve do pojave prvih tragova crvenog obojenja.

Reagensi:

- **Otopina srebro nitrata koncentracije 0,1 mol/L.** Za pripravu 500 ml otopine potrebno je odvagati 8,4937 g srebro nitrata.
- **Otopina kalij kromata 5%.** Odvaže se 0,2598 g kalij kromata te se otopi dodatkom 5 ml destilirane vode.

Oprema:

- Erlenmayer tikvica sa brušenim grlom i čepom od 250 ml
- Bireta
- Trbušasta pipeta volumena 1 ml

Postupak:

U tikvicu se otpipetira 1 ml uzorka naljeva, doda se 50 ml destilirane vode te se sadržaj tikvice dobro promiješa. Pripravljenoj smjesi se potom doda 1 ml otopine kalij kromata čime otopina ostaje bistra i obojana blijedo žuto. Uzorak se uz miješanje titrira otopinom srebrnog nitrata sve do pojave prvih tragova crvenog obojenja, a titracijom dolazi do nastanka bijelog taloga srebrnog klorida.^{1,2}

Istraživanje rezultata:

Koncentracija soli u naljevu, izražena u g/100 ml (w/v), računa se temeljem utroška otopine srebrnog nitrata, prilikom titracije 1 ml uzorka naljeva, prema izrazu^{1,2}:

$$\text{Koncentracija soli (g/100 ml)} = V \times 0,5845$$

gdje je:

V – utrošak otopine srebrnog nitrata (ml)

13.4. Određivanje reducirajućih šećera u naljevu konzerviranih maslina

Reducirajući šećeri (glukoza i fruktoza) prisutni u mesu ploda masline izvor su ugljika za bakterije mliječne kiseline i ostale fermentirajuće mikroorganizme. Kontrola razine šećera uobičajeno se provodi tijekom procesa fermentacije i skladištenja maslina. Nakon potpunog završetka procesa fermentacije plodova masline koncentracija reducirajućih šećera je vrlo niska ili na nuli. Kod slabe ili nedovršene fermentacije reducirajući šećeri mogu se detektirati u lužini kojom je provedena fermentacija.¹

Princip:

Koristi se polukvantitativna metoda analize reducirajućih šećera s Clinitest tabletama koje se koriste za određivanje razine reducirajućih šećera u urinu osoba s dijabetesom. Svaka tableta sadrži spojeve koji reagiraju s reducirajućim šećerima kao i natrijev hidroksid koji stvara toplinu, što utječe na brzinu same reakcije, u kontaktu s vodenom otopinom..

Ovaj test temelji se na reakciji između reducirajućih šećera i bakrovih soli kojom dolazi do stvaranja narančasto obojenog bakrovog kompleksa. Što je više nastalog bakrovog kompleksa to je i veća razina prisutnih reducirajućih šećera.¹

Oprema:

- graduirana pipeta, 1 mL
- staklene epruvete

Reagensi:

- Clinitest tablete s tablicom boja za određivanje razine reducirajućih šećera

Postupak:

Volumetrijski se izmjeri 0,5 mL lužine i prebaci u staklenu epruvetu. Uzorku se zbog razvoja topline oprezno doda jedna tableta Clinitest. Nakon što reakcija završi uzorak s epruvetom se lagano promiješa te se izvrši usporedba boje otopine u epruveti s tablicom boja Clinitesta.²

OPREZ! Tablete Clinitest sadrže natrij hidroksid te je potrebno nositi zaštitnu odjeću pri rukovanju i izbjegavati kontakt s kožom.

Vježba 14. Konzerviranje maslina sušenjem solju

Masline konzervirane sušenjem solju pripremaju se pakiranjem prirodno crnih maslina u slojevima između kojih se nasipa sol (ekvivalent 10 – 20% w/w mase plodova maslina). Masline se skladište u otvorenim posudama kako bi mogla ispariti vegetabilna voda. Rezultat ovog načina konzerviranja su masline smežuranog izgleda i slanog gorko – slatkog okusa. U ovom procesu sol služi kao konzervans. Vrijeme obrade je od 4 do 6 tjedana.¹

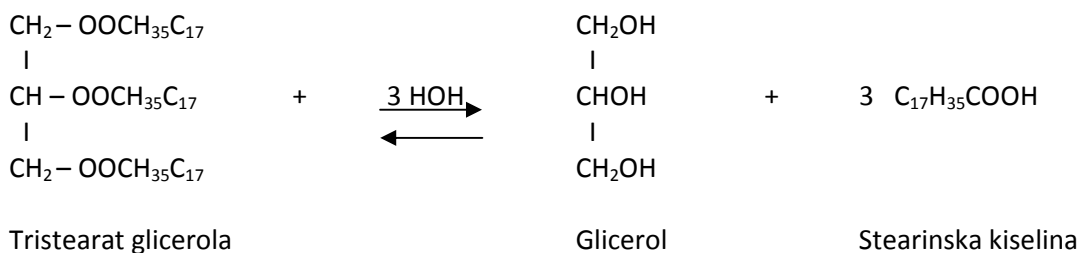
Postupak:

U ovom procesu koriste se potpuno crne masline. Cijeli plodovi se prije obrade dobro operu i sortiraju po veličini te se mogu zarezati kako bi se ubrzao sam proces konzerviranja. Masline se ostave dva dana na hladnom mjestu kako bi izgubile dio vode procesom transpiracije.

Masline se pakiraju u slojevima između kojih se stavlja sol (10 – 20% mase maslina). Ako je potrebno masline se mogu promiješati svakih nekoliko dana kako bi se osigurao ravnomjeran kontakt sa soli. Izdvojenu crnu vegetabilnu vodu potrebno je odlijevati kako se ne bi usporio proces odgorčavanja maslina. Ako je potrebno može se dodati još soli. Proces je gotov nakon jednog do dva mjeseca. Ovako pripremljene masline mogu se pakirati vakumiranjem u plastičnu ambalažu s kalijevim sorbatom kao konzervansom ili u 10% salamuri.¹

Vježba 15. Proizvodnja sapuna

U prisustvu vode masti se hidroliziraju, tj. „cijepaju“ na slobodne masne kiseline i glicerol. Reakciju kataliziraju kiseline, baze, enzimi, povišena temperatura i pritisak vodene pare. Bez katalizatora reakcija se odvija vrlo polagano. Za hidrolizu svih organskih estera, pa tako i triglicerida, češće se koristi izraz saponifikacija.



Saponifikacijom triglicerida uz lužine kao katalizatore dobiju se soli masnih kiselina i glicerol.

Za saponifikaciju uglavnom se koriste natrijev hidroksid (NaOH) i natrijev karbonat (Na₂CO₃). Za dobivanje mekih i tekućih sapuna koristi se kalijev hidroksid (KOH). Kao sirovine se upotrebljavaju slobodne masne kiseline ili prirodna ulja i masti. Izbor masnoća i masnih kiselina ovisi o vrsti i kakvoći sapuna koji se proizvodi. Ulja s većim sadržajem nezasićenih masnih kiselina upotrebljavaju se za proizvodnju mekih sapuna.

Izračun količine lužine:

Za saponifikaciju se najčešće koristi 30% - tna NaOH. Količina potrebne lužine računa se prema saponifikacijskom broju masnoće.

Saponifikacijski broj masnoće = 200 mg KOH/1g

Molekulska masa KOH = 56,1 g mol⁻¹

Molekulska masa NaOH = 40 g mol⁻¹

Čistog NaOH potrebno je :

$$(40 \times 200) / 56 = 142 \text{ mg} / 1 \text{ g masnoće ili } 0,142 \text{ g} / 1 \text{ g masnoće}$$

ili 30%-tne NaOH:

$$0,142 / 0,30 = 0,467 \text{ g} / 1 \text{ g masnoće}$$

Postupak:

U 165 g destilirane vode doda se 66,30 g natrijevog hidroksida prilikom čega dolazi do razvijanja topline. Smjesu miješamo dok se natrijev hidroksid u potpunosti ne otopi.

Odvaže se 500 g maslinovog ulja te se lagano zagrije kako bi se njegova temperatura ujednačila s temperaturom vodene otopine natrijeve lužine. Kada se temperature ujednače ulije se otopina natrijevog hidroksida u ulje te se polako miješa štapnim mikserom. Kada se prilikom miješanja počne pojavljivati trag proces je gotov te u smjesu tada možemo dodati mirise, boje, suhe biljke i dr.

Smjesa se izlijeva u pripremljeni kalup i ostavlja na toplom mjestu nekoliko dana nakon čega se sapuni skladište na prozračno i suho mjesto 3 – 6 tjedana kako bi se završio proces saponifikacije, tj. kako bi sapun „sazrio“.

Vježba 16. Senzorska analiza maslinovog ulja

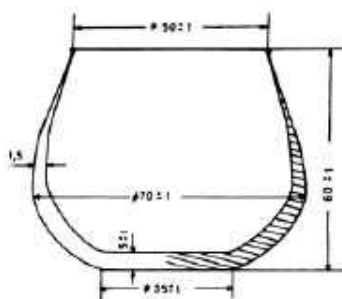
Metoda ocjene organoleptičkih svojstava može se primjenjivati samo za klasificiranje i označavanje djevičanskih maslinovih ulja na temelju intenziteta utvrđenih negativnih svojstava, intenziteta voćnog mirisa i okusa te ostalih pozitivnih svojstava, što obavlja skupina odabranih, uvježbanih i provjerenih ocjenjivača, koji sačinjavaju panel.

Provjeru senzorskih svojstava ulja provodi tijelo nadležno za provođenje službene kontrole, posredstvom grupa odabranih i osposobljenih ocjenjivača senzorskih svojstava djevičanskih maslinovih ulja (paneli) koje su ovlaštene od strane Ministarstva poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Za svaku analizu potrebno je 8 do 12 ocjenjivača, iako je poželjno da panel broji više članova kako bi se uvijek raspolagalo s dovoljnim brojem izvježbanih ocjenjivača.

Čaša koja se koristi za senzorsku analizu djevičanskih maslinovih ulja mora udovoljavati sljedećim zahtjevima:

- Oblik čaše treba osigurati maksimalnu stabilnost kako bi se spriječilo nagnjanje i izlijevanje ulja.
- Dno čaše mora biti prilagođeno obliku grijaće ploče kako bi se omogućilo ravnomjerno grijanje dna čaše.
- Grlo čaše treba biti suženo radi koncentriranja mirisa pri vrhu i njihovog lakšeg prepoznavanja.
- Čaša mora biti izrađena od stakla tamne boje kako bi se onemogućilo da ocjenjivač doživi boju ulja čime se eliminiraju predrasude i sprečava eventualno stvaranje sklonosti ili pristranosti koje bi mogle djelovati na objektivnost ocjenjivanja.

Svaka čaša mora biti opremljena satnim staklom promjera 10 mm većeg od grla čaše. Ovo satno staklo koristi se kao poklopac radi sprečavanja gubitka arome i ulaska prašine.



Slika 1. Čaša za senzorsku analizu ulja

Pozitivna svojstva:

Voćno: ukupnost mirisnih svojstava karakterističnih za ulje od zdravih i svježih plodova, bilo zelenih ili zrelih.

Svojstvo voćno - zeleno - ako mirisna svojstva podsjećaju na zelene plodove tj. karakteristična su za ulje dobiveno od zelenih plodova.

Svojstvo voćno – zrelo - ako mirisna svojstva podsjećaju na zrele plodove, tj. karakteristična su za ulje dobiveno od zelenih i zrelih plodova.

Gorko: karakterističan okus ulja dobivenog od zelenih ili djelomično obojenih maslina.

Pikantno: taktilni osjet peckanja svojstven uljima proizvedenim na početku sezone, uglavnom od još nedozrelih maslina.

Negativna svojstva

Upaljen plod/uljni talog: prepoznatljiv okus i miris ulja dobivenog od sabijenih maslina kod kojih je došlo do visokog stupnja anaerobne fermentacije ili ulja koje je ostalo u dodiru s uljnim talogom koji je fermentirao u anaerobnim uvjetima.

Pljesnivo/vlažno: prepoznatljiv okus i miris ulja od maslina na kojima je došlo do značajnog razvoja plijesni i kvasaca kao posljedica čuvanja u vlažnim uvjetima više dana.

Vinski-octikavo/kiselo: prepoznatljiv okus i miris nekih ulja koji podsjeća na vino ili ocat. Uzrokovan je prvenstveno aerobnom fermentacijom maslina ili ostataka maslinovog tijesta na neodgovarajuće očišćenim slojnicama, što dovodi do stvaranja octene kiseline, etil acetata i etanola.

Metalno: okus i miris koji podsjeća na metal. Svojstven je uljima koja su duže vrijeme bila u dodiru sa metalnim površinama tijekom mljevenja, miješenja, prešanja ili skladištenja.

Užeglo: prepoznatljiv okus i miris ulja koja su bila izložena intenzivnim oksidacijskim procesima.

Kuhano ili prekuhano: prepoznatljiv okus i miris uzrokovan pretjeranim i/ili predugim zagrijavanjem tijekom prerade, a osobito miješenjem maslinovog tijesta u termički nepovoljnim uvjetima.

Sijeno/drvo: prepoznatljiv okus i miris nekih ulja koja potječu od sasušenih plodova maslina.

Teško (grubo): osjećaj gustoće i pastoznosti u ustima koji daju pojedina stara ulja.

Sredstvo za podmazivanje: okus i miris ulja koji podsjeća na naftu, odnosno na mineralno ulje ili mast za podmazivanje.

Biljna voda: okus i miris koji poprimaju ulja koja su bila u dužem dodiru s fermentiranom biljnom vodom.

Salamura: okus i miris ulja dobivenog od maslina koje su prije prerade čuvane u otopini soli.

Slojnice: okus i miris karakterističan za ulja dobivena od maslina prešanih na novim slojnicama od biljnih vlakana, a različit je ovisno o tome jesu li slojnice sačinjene od zelenih ili suhih vlakana.

Zemlja: okus i miris ulja dobivenog od maslina sakupljenih sa zemljom ili blatnjavih i neopranih maslina.

Crvljivo: okus i miris ulja dobivenog od maslina jako napadnutih ličinkama maslinove mušice (*Bactrocera oleae*).

Krastavac: okus i miris karakterističan za ulja predugo čuvana u hermetički zatvorenim posudama, osobito limenim, a potječe od stvaranja 2,6-nonadienala.

Vlažno drvo: okus i miris karakterističan za ulja dobivena od maslina koje su bile smrznute na stablu.

Literatura:

1. Branko Škarica, Italo Žužić, Mario Bonifačić. (1996) Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj.
2. Dimitrios Boskou. (1996) Olive oil: chemistry and technology.
3. Tina Ročak. (2005) Osnovne kemijske analize kakvoće Istarskih maslinovih ulja, diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
4. Olive Maturity Index. UC Cooperative Extension, Sonoma County, October 2006.
(<http://cesonoma.ucdavis.edu/files/27240.pdf>)
5. Rodney Mailer, Damian Conlan, Jamie Ayton. (2005) Olive Harvest – Harvest timing for optimal olive oil quality, Publication No. 05/2013, Project No. DAN – 197A, Rural Industries Research and Development Corporation.
6. Pravilnik o uljima od ploda i komine maslina NN 7/09.
7. Olivera Koprivnjak. (2006) Djevičansko maslinovo ulje: od masline do stola, Tiskara Siga, Poreč.
8. Pravilnik o temeljnim zahtjevima za ulja od ploda i komine maslina, NN 63/06.
9. Analytical methods to measure the constants of fats and oils.
(<http://repository.uobabylon.edu.iq/>)
10. Manual of Methods of Analysis of Foods: Oils and Fats, Food Safety and Standards Authority of India, Ministry of Health and Family welfare, Government of India, New Delhi, 2012.
11. Anonimus: Vježba 5. Masti i ulja
http://chem.grf.unizg.hr/media/download_gallery/Vje%C5%BEba%205..pdf
12. Pearson Composition and Analysis of Foods 9th edn, page 642/Manual Methods of Analysis for Adulterants and Contaminants I.C.M.R. (1990).
13. Stan Kailis, David Harris. (2007) Producing Table Olives, CSIRO Publishing.
14. James Smyth. (2012) Table Olive Production Manual: a practical guide for all table olive producers, RIRDC Publication No.12/100, Australian Government: Rural Industries Research and Development Corporation.

15. Pravilnik o ovlašćivanju panela za senzorsku analizu djevičanskih maslinovih ulja (NN 22/10).
16. International olive council: Method of analysis: Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. COI/T20/Doc. no. 19/Rev. 3.