

# Endogeni enzimi ploda masline

Prof. dr. sc. Dubravka Škevin  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

## Kako definirati kvalitetu EDMU?

✓ nizak stupanj hidrolitičkog i oksidacijskog kvarenja

✓ povoljne senzorske karakteristike

✓ prisutnost spojeva koji imaju antioksidacijsko djelovanje

triacilgliceroli, masne kiseline, fenoli, tokoferoli, steroli, karotenoidi, klorofili,  
fosfolipidi...

Njihov udjel ovisi o:

sorti,

uvjetima uzgoja,

zrelosti i kvaliteti ploda,

**načinu prerade i**

trajanju i načinu čuvanja ulja

**MLJEVENJE** - oslobođeni **spojevi** iz vakuola i ostalih djelova stanice

**Početak kemijskih i biokemijskih reakcija!**

**MIJEŠENJE** – preraspodjela **spojeva** između vodene i uljne faze

## ENDOGENI ENZIMI PLODA MASLINE

A) doprinose formiranju poželjnih senzorskih svojstava

**Tijekom mljevenja:**

-acilhidrolaza: oslobađa LA i ALA MK iz triacilglicerola (TGA) u LOX putu

# ENDOGENI ENZIMI PLODA MASLINE

A) doprinose formiranju poželjnih senzorskih svojstava

## Tijekom miješenja:

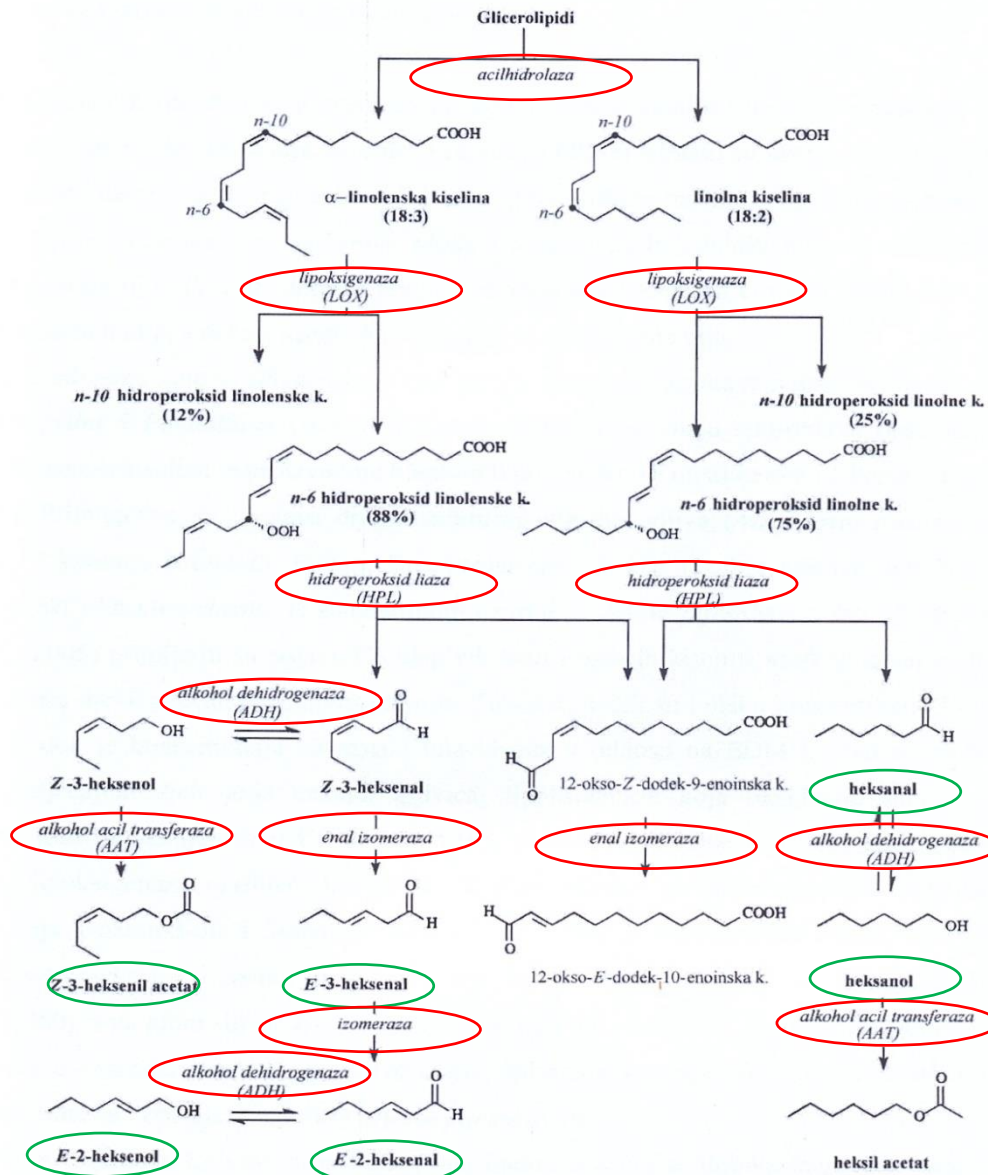
-lipaze- na TGA - oslobađaju SMK

-fosfolipaze i galaktolipaze- oslobađanje SMK i iz fosfolipida i galaktolipida

-lipoksigenaza i hidroperoksid liaza- ključni enzimi za nastajanje arome ulja

SMK -preduvjet za nastanak poželjnih tvari arome ulja

-pektolitički i hemicelulolitički enzimi: olakšano oslobađanje ulja i drugih tvari iz stanice - razgrađuju stanične stijenke i ovojnice vakuola



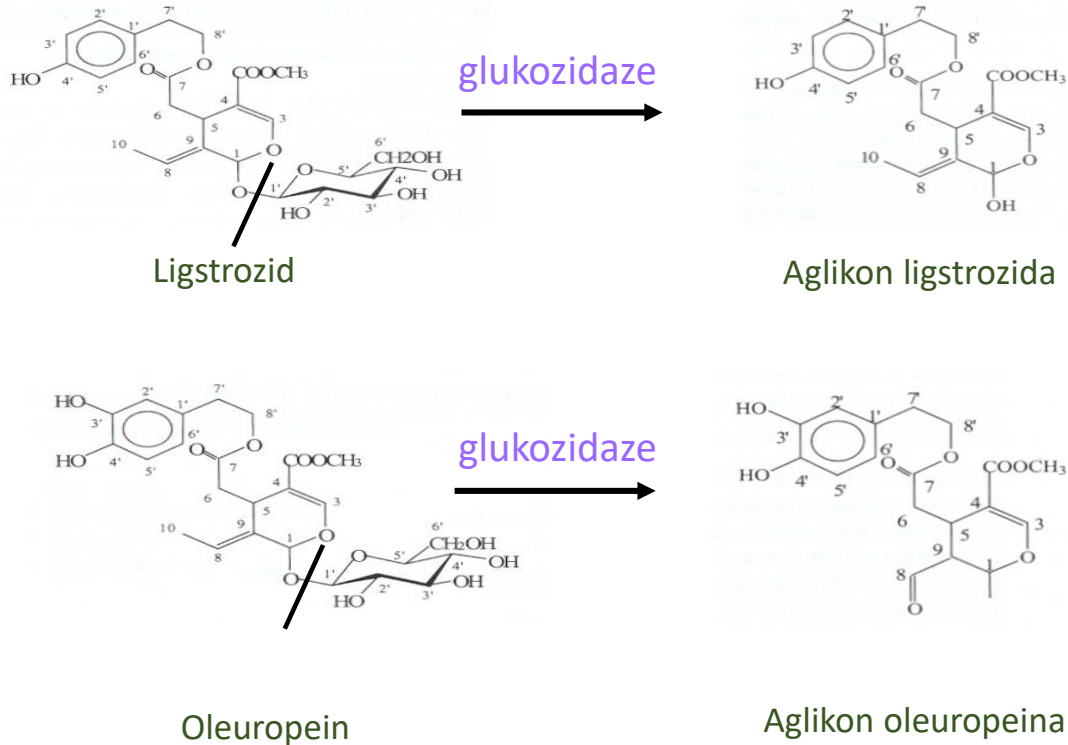
Slika 1. Lipoksigenazni (LOX) put nastanka tvari s poželjnim mirisnim svojstvima tijekom mljevenja i miješenja maslina (Koprivnjak, 2006)

## ENDOGENI ENZIMI PLODA MASLINE

B) prevode hidrofilne fenolne tvari u lipofilniji oblik

Tijekom miješenja:

😊 - **glukozidaze** - prevode fenolne glukozide u aglikone



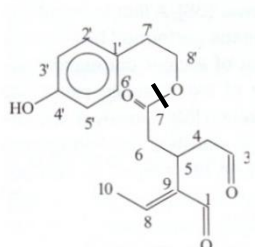
## ENDOGENI ENZIMI PLODA MASLINE

B) prevode hidrofilne fenolne tvari u lipofilniji oblik

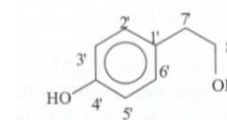
Tijekom miješenja:



- **esteraze** - razgradnja složenijih fenolnih tvari na jednostavne (fenolne kiseline i alkoholi)
- fenolne kiseline i fenolni alkoholi - lipofilni

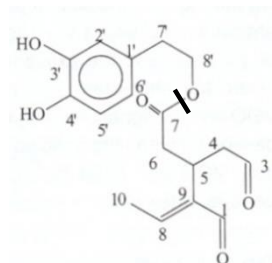


esteraze

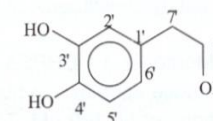


Dialdehidni oblik elenolne kiseline povezan sa *p*-HPEA  
(*p*-hidroksifeniletilalkohol)

*p*-HPEA  
(tirosol)



esteraze



Dialdehidni oblik elenolne kiseline povezan sa 3,4-DHPEA

3,4-DHPEA  
(hidroksitirosol)



## ENDOGENI ENZIMI PLODA MASLINE

C) potiču oksidaciju tvari

**Tijekom miješenja:**

- ☹️ -peroksidaza i polifenoloksidaza- uz kisik oksidiraju fenolne tvari koje degradiraju
- ☹️ -peroksidaze- kod produženog miješenja i povišenih temperatura, oksidacija PUFA, kvarenje ulja

**NUŽNO: optimirati parametre miješenja!!!!**

## Inovativne tehnologije u PI: u proizvodnji DMU

-zaključak dosadašnjih istraživanja: presudan utjecaj sorte!!

### Projekt HRZZ

IP-2020-02-7553 “Utjecaj inovativnih tehnologija na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva i oksidacijsku stabilnost djevičanskih maslinovih ulja iz hrvatskih autohtonih sorti maslina“ <http://cro-in-evoo.pbf.hr/>

1.1.2021. – 31.12.2024.

## Četiri istraživačke grupe na Projektu:

### Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Split

Mirella Žanetić

Maja Jukić Špika

### Medicinski fakultet, Rijeka

Olivera Koprivnjak

Valerija Majetić Germek

Urška Kosić

### Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Zoran Herceg

Mia Ivanov

Tomislava Vukušić Pavičić,

Višnja Stulić

Dubravka Škevin

Sandra Balbino

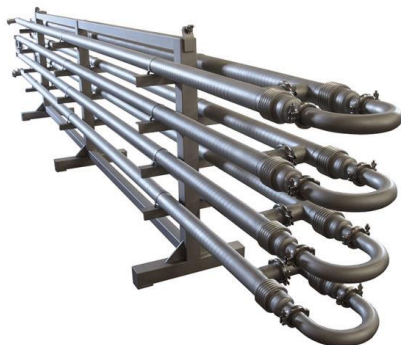
Klara Kraljić

Marko Obranović

Melisa Trputec

Katarina Filipan

# Inovativne tehnologije:



## Ultrazvuk

amplituda 40-100%  
vrijeme 3-17 min  
2022./2023.

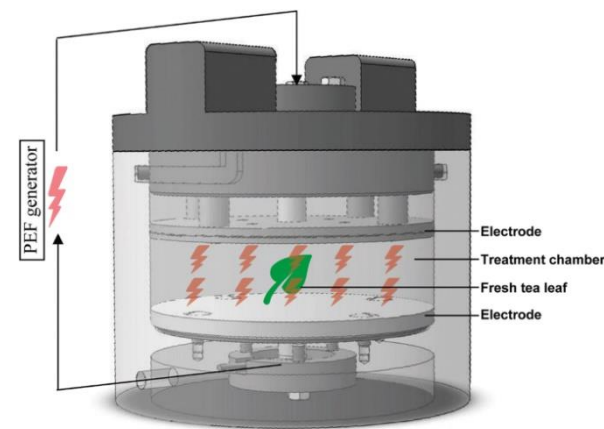
64 uzorka ulja

## Ubrzani toplinski tretman

6 temperature  
2021./2022.

87 uzoraka ulja +  
4 konvencionalna

Lipoksigenaza LOX 25 °C  
Hidroperoksid liaza 15 °C  
Polifenol oksidaza PPO 50 °C  
Peroksidaza POD 37 °C



## Pulsirajuće električno polje

jakost: 1-8 kV/cm  
napon 3-24 kV  
vrijeme 18-102 s  
2022./2023.

64 uzorka ulja +  
4 konvencionalna

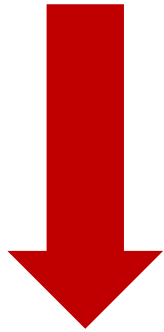
**Kombinacija**  
**2023./2024.**



## Proizvodnja ulja:

UTT, UZV, PEP

Split: Abencor



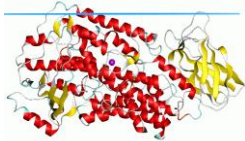
Zagreb: konvencionalni postupak

## Analize:

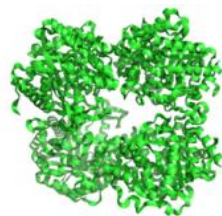
i) Model sustavi: LOX i  $\beta$  GLC sa supstratima podvrgnuti UTT, UZV, PEP

ii) Enzimi u realnim sustavima: LOX,  $\beta$  GLC, PPO, POD

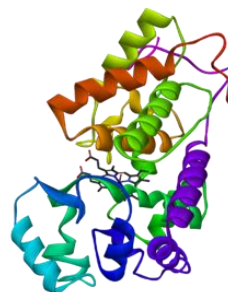
- enzimi pojedine sorte s obzirom na stupanj zrelosti
- aktivnost enzima nakon tretiranja tijesta



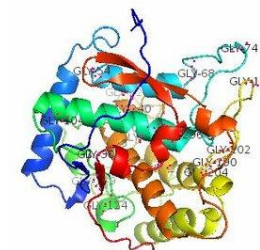
Lipoksigenaza LOX  
(Choi i sur., 2008)



$\beta$  glukoziđaza  $\beta$  GLC  
(Jeng i sur., 2011)



Peroxiđaza POD  
(Carlsson i sur., 2005)



*O. europaea* (AFS28695.1)

Polifenol oksiđaza PPO  
(Sevindik, 2019)

## Analize

Ulje: (x3)

### Nutritivna vrijednost

Polifenoli, tokoferoli, sastav MK

### Senzorska svojstva

Hlapljive komponente, senzorske analize

### Oksidacijska stabilnost

DSC - diferencijalna motridbena kalorimetrija

ESR - Elektronska spinska rezonancija ESR

### Iskorištenje postupka proizvodnje

OPK

Ekstraktabilnost





## ZAVRŠNI RADOVI

1. Fizikalne i kemijske metode u praćenju oksidacije maslinovog ulja\_Mihaela-Severac (2021.) [Download](#)

2. Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom\_Melita Petrić (2021.) [Download](#)

3. Utjecaj endogenih enzima ploda na kemijski sastav djevičanskog maslinovog ulja\_Karla Žanetić (2021.) [Download](#)

4. Primjena novih tehnologija u proizvodnji djevičanskog maslinovog ulja\_Ana Svirčević (2021.) [Download](#)

5. Optimiranje DSC metode za određivanje oksidacijske stabilnosti ulja\_Ivana Hojka (2022.) [Download](#)

6. Sastav masnih kiselina djevičanskih maslinovih ulja proizvedenih uz ubrzani toplinski tretman\_Ana Soldo (2022.) [Download](#)

7. Odabir analitičke metode određivanja aktivnosti lipoksigenaze\_Iva Budimir (2022.) [Download](#)

8. Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte oblica i levantinka\_Marija Topić (2022.) [Download](#)

9. Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana na oksidacijsku stabilnost djevičanskog maslinovog ulja iz sorte istarska bjelica i rosulja\_Luka Demo (2022.) [Download](#)

## DIPLOMSKI RADOVI

1. Endogeni enzimi ploda masline\_Angela Vujnović (2021.) [Download](#)

2. Utjecaj ubrzanog toplinskog tretmana i ultrazvuka na aktivnost enzima ploda masline\_Kristian Pavlić (2021.) [Download](#)

3. Utjecaj pulsirajućeg električnog polja na aktivnost enzima ploda masline u modelnim sustavima\_Niko Jakoliš (2022.) [Download](#)

4 ZR u obradi

4 DR u obradi

6 DR u izradi

## EUROFED LIPIDS (Oct 2021), Leipzig Germany

Poster:

Ultrasound-as-a-pretreatment-for-malaxation-effect-on-enzymatic-activity\_EUROFED2021 [Download](#)

Influence-of-initial-temperature-on-olive-enzyme-activity-during-malaxation-a-model-system-experiment\_EUROFED2021 [Download](#)

## 11th Central European Congress on Food and Nutrition, Čatež na Savi, SLOVENIA, 27th – 30th September 2022

Influence of flash thermal treatment on antioxidant activity of virgin olive oil [Download](#)

## 36th EFFoST International Conference, Dublin, Ireland, 7-9 November 2022

Effect of the pulsed electric field on olive enzyme activity –a model system experiment [Download](#)

## 10th International Congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Zagreb, Croatia 30th November – 2nd December 2022

Influence of cultivar and ripening stage of Croatian olives on endogenous enzyme activity [Download](#)

Optimization of the DSC method for determining the oxidative stability of virgin olive oil [Download](#)

## CILJEVI PROJEKTA

Utvrđivanje utjecaja ubrzanog toplinskog tretmana (UTT), ultrazvuka (UZV) i pulsirajućeg električnog polja (PEP) na nutritivnu vrijednost, senzorska svojstva, oksidacijsku stabilnost i iskorištenje u proizvodnji djevičanskih maslinovih ulja

Definiranje održivog postupka proizvodnje DMU dodane vrijednosti iz hrvatskih autohtonih sorti maslina primjenom inovativnih tehnologija

Definiranje preciznih modela procjene trajnosti DMU proizvedenih konvencionalnom i inovativnim tehnologijama

Karakterizacija i diferencijacija monosortnih djevičanskih maslinovih ulja iz odabranih autohtonih hrvatskih sorti maslina

## LITERATURA:

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

Servili, M., Montedoro, GF. (2002) Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**, 602-613.

Choi, J., Chon, J.K., Kim, S., Shin, W. (2008) "Conformational flexibility in mammalian 15S-lipoxygenase: Reinterpretation of the crystallographic data". *Proteins*. **70** (3): 1023–32. [doi:10.1002/prot.21590](https://doi.org/10.1002/prot.21590). [PMID 17847087](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17847087/). [S2CID 40013415](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/40013415).

Jeng, W.Y., Wang, N.C., Lin, M.H., Lin, C.T., Liaw, Y.C., Chang, W.J. (2011) "Structural and functional analysis of three  $\beta$ -glucosidases from bacterium *Clostridium cellulovorans*, fungus *Trichoderma reesei* and termite *Neotermes koshunensis*" (PDF). *Journal of Structural Biology*. **173** (1): 46–56. [doi:10.1016/j.jsb.2010.07.008](https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.07.008). [PMID 20682343](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20682343/).

Sevindik, E. (2019) In silico analysis of putative polyphenol oxidases in olive using bioinformatics tools. *Bangladesh Journal of Botany* **48** (1):17-24 DOI:[10.3329/bjb.v48i1.47405](https://doi.org/10.3329/bjb.v48i1.47405)

Carlsson, G.H., Nicholls, P., Svistunenko, D., Berglund, G.I., Hajdu, J. (2005) "Complexes of horseradish peroxidase with formate, acetate, and carbon monoxide". *Biochemistry*. **44** (2): 635 - 42. [doi:10.1021/bi0483211](https://doi.org/10.1021/bi0483211). [PMID 15641789](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15641789/)