

# Analiza tehničko-tehnoloških parametara sjemena, ulja i pogače konoplje sa hrvatskog tržišta

---

Žgela, Marina

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:691024>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-12**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Marina Žgela**

6719/PT

**ANALIZA TEHNIČKO-TEHNOLOŠKIH PARAMETARA  
SJEMENA, ULJA I POGAČE KONOPLJE SA HRVATSKOG  
TRŽIŠTA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Kemija i tehnologija ulja i masti**

**Mentor: Prof.dr.sc. *Dubravka Škevin***

**Zagreb, 2017.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### ANALIZA TEHNIČKO-TEHNOLOŠKIH PARAMETARA SJEMENA, ULJA I POGAČE KONOPLJE SA HRVATSKOG TRŽIŠTA

*Marina Žgela, 0058203123*

U posljednjih nekoliko godina na hrvatskom tržištu ponovno oživljava uzgoj i proizvodnja ulja industrijske konoplje koje odskače od drugih sličnih proizvoda po specifičnom sastavu masnih kiselina. Cilj ovog rada bio je odrediti tehničko-tehnološka svojstva sjemena i sastav masnih kiselina različitih uzoraka konoplje. Analize su provedene na sjemenu, pogači te ulju konoplje proizvedenom hladnim prešanjem iz sjemena uzgojenog 2016. godine na području Republike Hrvatske od domaćih proizvođača. Prema dobivenim podacima u analiziranim uzorcima konoplje najzastupljenije su linolna (56,1 – 56,3 %), oleinska (13,7 - 16,0 %) te  $\alpha$ -linolenska masna kiselina (13,3 - 16,3 %), a udio ulja u analiziranom sjemenu kretao se od 31,7 do 35,3 %. Udio ulja koji je zaostao u analiziranoj pogači iznosio je 14,3 %. Analize su pokazale da je udio slobodnih masnih kiselina za analizirane uzorke ulja bio u skladu sa Pravilnikom (2012b), dok je vrijednost peroksidnog broja za jedan uzorak ulja bila viša od vrijednosti propisane Pravilnikom (2012b).

**Ključne riječi:** pogača konoplje, sjeme konoplje, ulje konoplje, sastav masnih kiselina

**Rad sadrži:** 27 stranica, 3 slike, 6 tablica, 31 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Prof.dr.sc. *Dubravka Škevin*

**Pomoć pri izradi:** Dr.sc. *Marko Obranović* (viši asistent)

**Datum obrane:** 19. rujna 2017.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**  
**Department of Food Engineering**  
**Laboratory for Oil and Fat Technology**  
**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Food Technology**

### **ANALYSIS OF TECHNICO-TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEEDS, OIL AND CAKE HEMPS FROM THE CROATIAN MARKET**

***Marina Žgela, 0058203123***

Over the last few years, the Croatian market has resumed cultivation and production of industrial hemp oil, which differs from other similar products with the specific composition of fatty acids. The aim of this paper was to determine the quality parameters of seeds and fatty acid composition of different hemp oils. Analysis were conducted on seeds, cake and cold-pressed hemp oil from seed produced in 2016 in the Croatia from domestic producers. According to the data obtained in the analyzed samples the most common are linoleic (56,1 - 56,3 %), oleic (13,7 - 16,0 %) and  $\alpha$ -linolenic fatty acid (13,3 - 16,3 %) and the yield of oil in the analyzed seed ranged from 31,7 to 35,3 %. The percentage of residual oil in cake was 14,3 %. The analysis showed that the proportion of free fatty acids for analyzed oil samples was in accordance with the Protocol (2012b), while the peroxide value for one oil sample was higher than the values prescribed by the Protocol (2012b).

**Keywords:** fatty acids, hemp cake, hemp oil, hemp seed

**Thesis contains:** 27 pages, 3 figures, 6 tables, 31 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD. *Dubravka Škevin*, Professor

**Technical support and assistance:** PhD. *Marko Obranović*, Assistant

**Defence date:** September 19<sup>th</sup> 2017

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. Industrijska konoplja .....	2
2.2. Sjemenka industrijske konoplje .....	3
2.3. Ulje industrijske konoplje .....	4
2.3.1. Sastav masnih kiselina .....	4
2.3.2. Negliceridni sastav .....	7
2.4. Proizvodnja ulja iz sjemenki konoplje .....	8
2.4.1. Priprema sjemenke konoplje za preradu .....	8
2.4.2. Proizvodnja ulja .....	9
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	10
3.1. MATERIJALI .....	10
3.1.1. Sjeme konoplje .....	10
3.1.2. Reagensi .....	10
3.2. METODE RADA .....	12
3.2.1. Analiza sjemena .....	12
3.2.1.1. Određivanje mase 1000 sjemenki .....	12
3.2.1.2. Određivanje nečistoća .....	12
3.2.1.3. Određivanje udjela vode u sjemenu .....	13
3.2.1.4. Određivanje udjela ulja u sjemenu metodom po Soxhletu .....	13
3.2.2. Analiza ulja .....	14
3.2.2.1. Određivanje sastava masnih kiselina .....	14
3.2.2.1.1. Priprema metilnih estera masnih kiselina .....	14
3.2.2.1.2. Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom .....	15
3.2.2.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina .....	15
3.2.2.3. Određivanje peroksidnog broja .....	16
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	17
4.1. Analiza sjemena .....	17
4.1.1. Tehničko-tehnološka svojstva sjemena .....	17
4.1.2. Kakvoća sjemena .....	17
4.2. Analiza ulja .....	19
4.2.1. Sastav masnih kiselina .....	20
4.2.2. Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja konoplje .....	22
5. ZAKLJUČAK .....	24
6. LITERATURA .....	25

# 1. UVOD

Mnogobrojni znanstveni radovi ističu važnost ulja i masti u ljudskoj prehrani. Osim energetske – kalorijske vrijednosti, oni su izvor esencijalnih nutrijenata poput polinezasićenih  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 masnih kiselina te brojnih bioaktivnih komponenata.

U posljednjih nekoliko godina na svjetskom i hrvatskom tržištu pojavio se sve veći interes za sjeme i ulje dobiveno iz sjemena industrijske konoplje. Sjemenke industrijske konoplje smatraju se nutritivno izuzetno vrijednom sirovinom. Osim relativno visokog udjela ulja, izvor su proteina, ugljikohidrata, vlakana, fitosterola, vitamina B skupine te minerala poput fosfora, kalija, magnezija, sumpora, kalcija, željeza i cinka. Ulje konoplje se odlikuje specifičnim sastavom masnih kiselina, točnije visokim udjelom  $\alpha$ -linolenske masne kiseline, prisustvom rijetke  $\gamma$ -linolenske kiseline i povoljnim omjerom linolne/linolenske masne kiseline. Zbog visokog udjela nezasićenih masnih kiselina proizvodi se isključivo postupkom hladnog prešanja, a obzirom da sjeme konoplje sadrži 28 – 35 % ulja, ekonomski najpovoljniji proces proizvodnje je postupak prešanja na pužnim prešama.

Cilj ovog rada bio je odrediti tehničko-tehnološke parametre (masa 1000 zrna) i parametre kvalitete sjemena (udio ulja, vode i nečistoća), parametre kvalitete ulja industrijske konoplje (udio slobodnih masnih kiselina i peroksidni broj) te sastav masnih kiselina sjemena, ulja i pogače konoplje od domaćih uzgajivača sa hrvatskog tržišta.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Industrijska konoplja

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka koja se stoljećima uzgaja za proizvodnju vlakana i ulja. Botanički pripada porodici *Cannabaceae* i rodu *Cannabis*, a potječe iz srednje Azije. Podjela konoplje unutar roda na niže systemske jedinice nije jedinstvena zbog izuzetne varijabilnosti vrste. Neki smatraju da rod *Cannabis* uključuje tri vrste: *Cannabis sativa* L., *Cannabis indica* LAM. i *Cannabis ruderalis* JANISCH (Anwar i sur., 2006), no prihvaćena je i klasifikacija *Cannabis sativa* kao monotipične vrste sa tri podvrste: *Cannabis sativa subsp. Sativa* (industrijska konoplja), *Cannabis sativa subsp. Indica* (indijska konoplja) i *Cannabis sativa subsp. Ruderalis* (divlja konoplja).

Osim vlakana i ulja, konoplja je također izvor  $\Delta^9$ -trans-tetrahidrokanabinola tj. THC-a (Matthäus i Brühl, 2008). To je najzastupljeniji i glavni psihoaktivni fitokanabinoid koji utječe na raspoloženje, emociju i percepciju te zbog kojeg se konoplja našla na popisu opojnih droga. Obzirom na udio THC-a razlikujemo konoplju s visokim udjelom ili indijsku konoplju (2 – 6 % THC-a), konoplju s manjim udjelom THC-a (<1 %) ili industrijsku konoplju (lat. sativaili „korisna“) te konoplju za uzgoj vlakana (>0,25 % THC-a).

Proizvodnja i upotreba industrijske konoplje (*Cannabis sativa* L.) u Hrvatskoj započnje krajem 19. i početkom 20. stoljeća najvećim dijelom u istočnoj Slavoniji. Uzgoj konoplje bio je zabranjen u europskim zemljama do 1996. godine, a danas je prema zakonima Europske unije dozvoljeno uzgajati isključivo one sorte koje imaju manje od 0,2 % THC-a u suhoj tvari biljke (Kriese i sur., 2004). U Republici Hrvatskoj, blagodati ove visokovrijedne biljke još uvijek nisu dovoljno prepoznate zbog zakonske regulative koja strogo propisuje kontrolu uzgoja industrijske konoplje isključivo za proizvodnju sjemenki i proizvoda od industrijske konoplje (ulje i pogača). Proizvodnja je regulirana Zakonom o suzbijanju zlouporabe opojnih droga (NN 107/01, 87/02, 163/03, 141/04, 40/07, 149/09) i Pravilnikom o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje i promet opojnih droga u veterinarstvu (NN 18/12), a dozvoljeno je uzgajati industrijsku konoplju (*Cannabis sativa* L.) isključivo u svrhu proizvodnje hrane i hrane za životinje.

Industrijska konoplja ima široku primjenu u svim industrijskim granama te postoji podatak da se od cijele biljke može izraditi više od 25 000 različitih proizvoda (Small i Marcus, 2002). Naime, moguće je proizvesti nekoliko tisuća proizvoda od stabljike (građevinski

materijal, papir, industrijski i potrošački tekstil, vlakno), listova (kompost, čaj, lijekovi) i sjemenka (ulje, proteini, brašno, hrana za životinje). Sjeme se uglavnom upotrebljava za proizvodnju konopljinog ulja koje se koristi u prehrani, industrijskim proizvodima, proizvodima za osobnu higijenu, te kao hrana za ljude i ptice, dok pogače koje se dobivaju pri proizvodnji ulja služe kao hrana za životinje.

## 2.2. Sjemenka industrijske konoplje

Sjemenka industrijske konoplje nutritivno je izuzetno vrijedna sirovina (Kiralan i sur., 2010), a osim toga pokazuje pozitivan zdravstveni učinak u snižavanju razine kolesterola i visokog krvnog tlaka (Oomah i sur., 2002). U punoj zrelosti sjemenka posjeduje relativno tvrdu ovojnicu, a oblikom varira od kuglastog prema izduženom. Osim toga, varira i veličinom, a najčešće je veličine glave šibice (Small i Marcus, 2002). Sadržaj ulja u sjemenkama konoplje varira od 28 do 35 % ovisno o sorti, klimatskim uvjetima, geografskom području te godini uzgoja (Matthäus i Brühl, 2008). Osim ulja, sjemenke konoplje sadrže 20 – 25 % proteina, 20 – 30 % ugljikohidrata te 10 – 15 % netopljivih vlakana što ih čini izrazito nutritivno vrijednom hranom. Također sadrže vitamine A ( $\beta$ -karoten), fitosterole, fosfolipide, vitamine B skupine (B1, B2, B3, B6), vitamine D i E (prirodni antioksidansi) u probavljivom obliku te bogati udio minerala uključujući fosfor, kalij, magnezij, sumpor, kalcij, željezo i cink (Anwar i sur., 2006; Kiralan i sur., 2010).



**Slika 1.** Usporedba sjemenke konoplje s glavom šibice (Small i Marcus, 2002)



## 2.3. Ulje industrijske konoplje

Proizvodnja ulja iz sjemenki konoplje započela je prije 3 tisućljeća. Ulje sjemenki industrijske konoplje ubraja se u sušiva ulja, a nekada se upotrebljavalo u proizvodnji boja, lakova te sapuna. Koristi se i u ljudskoj prehrani, a pojedine komponente ulja imaju povoljan utjecaj na ljudsko zdravlje (Kriese i sur., 2004). Ulje odlikuje specifičan sastav masnih kiselina od kojih su najznačajnije esencijalne masne kiseline ( $\alpha$ -linolenska i linolna). Brojne kliničke studije pokazale su da ima pozitivno djelovanje na imunološki sustav i opće zdravstveno stanje organizma, da je učinkovito u zacjeljivanju rana te da povoljno djeluje na dermatitis (Škevin i sur., 2011). Osim u prehrani, koristi se i u kozmetici jer djeluje antimikrobno, antiupalno, antioksidacijski, sprječava starenje kože, te uravnotežuje pH i vlažnost kože (Anwar i sur., 2006).



**Slika 2.** Ulje iz sjemenki konoplje (Anonymous, 2013)

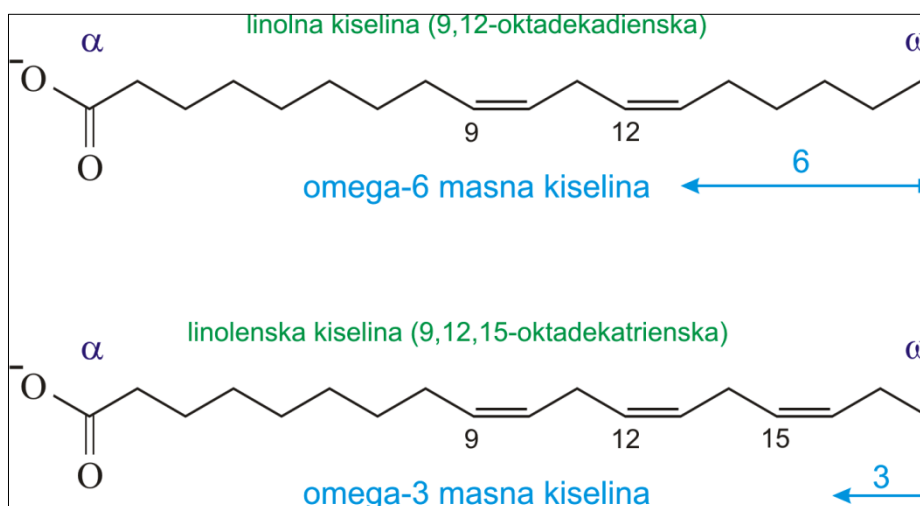
### 2.3.1. Sastav masnih kiselina

Kvaliteta ulja konoplje, kao i ostalih biljnih ulja, određena je sastavom masnih kiselina. Sastav masnih kiselina ulja konoplje je specifičan jer sadrži masne kiseline koje se rijetko nalaze u ostalim biljnim uljima, a brojna istraživanja su pokazala da imaju povoljan učinak na ljudsko zdravlje. Odlikuje ga visoki udio  $\alpha$ -linolenske masne kiseline, prisustvo rijetke  $\gamma$ -linolenske masne kiseline i optimalan omjer linolne/linolenske masne kiseline (Da Porto i sur., 2012).

Masne kiseline čine gliceridnu frakciju ulja i masti, a o građi i kemijsko-fizikalnim svojstvima zastupljenih masnih kiselina ovise kemijska svojstva samog ulja. Dijele se na zasićene (bez dvostrukih veza), mononezasićene (jedna dvostruka veza) i polinezasićene (dvije

i više dvostrukih veza). Polinezasićene masne kiseline,  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6, strukturno se razlikuju prema položaju prve dvostruke veze od metilnog kraja molekule masne kiseline. Kod  $\omega$ -3 masnih kiselina, prva dvostruka veza se nalazi između 3. i 4. ugljikovog atoma, a kod  $\omega$ -6 između 6. i 7. ugljikovog atoma.

To su esencijalne masne kiseline koje ljudski organizam ne može sintetizirati već ih je potrebno u organizam unijeti putem hrane. Esencijalna  $\omega$ -3 masna kiselina je  $\alpha$ -linolenska kiselina (ALA, C18:3) i nalazi se u kloroplastima zelenog lisnatog povrća te sjemenkama lana, soje, repice i konoplje dok je esencijalna  $\omega$ -6 masna kiselina linolna (LA, C18:2), a nalazi se u sjemenkama većine biljaka. Obje masne kiseline se u organizmu metaboliziraju u dugolančane masne kiseline pri čemu se  $\alpha$ -linolenska metabolizira u eikosapentaeinsku (EPA, C20:5) i dokosaheksaensku (DHA, C22:6), a linolna u arahidonsku kiselinu (C20:4) (Simopoulos, 2009).



**Slika 3.** Strukturne formule  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 masnih kiselina (Anonymous, 2017)

Omega-3 masne kiseline imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje, točnije reduciraju upalu, pomažu pri prevenciji srčanih bolesti, raznih vrsta tumora te artritisa. Osim toga, sudjeluju u razvoju kognitivnih funkcija i funkcija ponašanja, što je osobito važno kod dječjeg rasta i razvoja. S druge strane, prehrana bogata omega-6 masnim kiselinama izaziva neka neželjena stanja organizma od kojih se najčešće spominje proupalni efekt. Stoga je vrlo važno voditi računa o omjeru omega-6 i omega-3 masnih kiselina u prehrani. Taj bi omjer trebao biti 2-4:1 odnosno 2 – 4 više omega-6 u odnosu na omega-3 masne kiseline u prehrani što će povoljno utjecati na prevenciju i tretman krvožilnih bolesti, raznih tumora, artritisa te različitih upalnih i imunoloških poremećaja (Simopoulos, 2009). Ulje konoplje ima upravo gotovo idealan i uravnotežen omjer linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline u iznosu 3:1. Osim linolne,  $\alpha$ -linolenske i  $\gamma$ -

linolenske (C18:3) masne kiseline, ulje sjemenki konoplje sadrži i stearidonsku (C18:4) masnu kiselinu koja je od sve većeg značaja u farmaceutskoj industriji (Kiralan i sur., 2010).

**Tablica 1.** Sastav masnih kiselina u ulju konoplje prema nekim autorima

Masne kiseline	Ulje konoplje ( % od ukupnih)				
	Oomah i sur. (2002)	Kriese i sur. (2004)	Anwar i sur. (2006)	Callaway i Pate (2009)	Da Porto i sur. (2012)
<b>Palmitinska</b> (C16:0)	6,60	5,37	8,27	5,00	5,19
<b>Stearinska</b> (C18:0)	2,70	3,35	2,19	2,00	1,57
<b>Oleinska</b> (C18:1)	10,10	n.p.*	14,03	9,00	10,99
<b>Linolna</b> (C18: 2 $\omega$ 6)	54,30	54,90	56,50	56,00	59,77
<b><math>\alpha</math>-linolenska</b> (C18:3 $\omega$ 3)	19,10	20,84	18,85	22,00	18,15
<b><math>\gamma</math>-linolenska</b> (C18:3 $\omega$ 6)	3,60	2,12	1,65	4,00	3,42
<b>Stearidonska</b> (C18:4 $\omega$ 3)	-	0,94	n.d.**	2,00	-
<b>Arahinska</b> (C20:0)	0,90	n.p.*	-	-	-
<b>Eikosenoinska</b> (C20:1)	-	n.p.*	-	-	0,78
<b>Behenska</b> (C22:0)	0,40	n.p.*	-	-	0,13
<b>Omjer <math>\omega</math>3/<math>\omega</math>6</b>	n.p.*	n.p.*	n.p.*	2,50	3,29

\* - nije prikazano, \*\* - nije detektirano/nije određivano

Na sastav masnih kiselina kao i na udio ulja veliki utjecaj ima podrijetlo sjemenca (Kiralan i sur., 2010). Prema literaturnim navodima ulje sjemenki konoplje sadrži oko 80 % višestrukonezasićenih masnih kiselina, od kojih je najzastupljenija esencijalna linolna ( $\omega$ -6) kiselina s udjelom do 60 %, a zatim  $\alpha$ -linolenska ( $\omega$ -3) kiselina sa udjelom do 20 %. Osim toga ulje sadrži od 0,50 do 4,50 %  $\gamma$ -linolenske ( $\omega$ -6) kiseline i od 0,30 do 1,60 % stearidonske kiseline koje nisu sadržane u biljnim uljima koja se uobičajeno koriste u prehrani (Oomah i sur., 2002; Matthäus i Brühl, 2008; Kiralan i sur., 2010; Da Porto i sur., 2012).  $\alpha$ -linolenska i stearidonska masna kiselina ubrajaju se u omega-3 masne kiseline koje odlikuje protuupalna aktivnost i značajna uloga u prevenciji kroničnih bolesti.  $\gamma$ -linolenska kiselina također je važna za zdravlje jer djeluje kao prekursor prostaglandina te pomaže u regulaciji metaboličkih

funkcija. Iako se ne ubraja u esencijalne masne kiseline, organizam  $\gamma$ -linolensku kiselinu često zbog nedovoljne učinkovitosti enzima delta-6-desaturaze ne može sintetizirati konverzijom iz linolenske kiseline, pa ju je potrebno unositi hranom (Callaway i Pate, 2009; Simopolous, 2009). Prisutnost  $\gamma$ -linolenske kiseline u ulju konoplje svrstava ga među kozmetička laka ulja zbog svojstva lakog upijanja u kožu (Da Porto i sur., 2012; Oomah i sur., 2002). Najzastupljenija jednostrukonezasićena masna kiselina sa parnim brojem ugljikovih atoma u ulju konoplje je oleinska kiselina (C18:1) koja ima visoku biološku i prehrambenu vrijednost te je lako probavljiva. Od zasićenih masnih kiselina u ulju konoplje dominiraju palmitinska (C16:0) i stearinska (C18:0) kiselina. Nasuprot visokom udjelu nezasićenih masnih kiselina, udio zasićenih kiselina jednak je najmanjem udjelu u najčešće konzumiranim biljnim uljima (ispod 10%) (Deferne i Pate, 1996).

Brojni radovi povezuju povoljno djelovanje ulja konoplje na zdravlje sa specifičnim sastavom masnih kiselina. Međutim, ulje bogato višestruko nezasićenim masnim kiselinama vrlo je nestabilno jer je vrlo podložno oksidacijskom kvarenju što posljedično može dovesti do povećanog rizika od ateroskleroze ili razvoja tumora. Zbog toga treba paziti na uvjete skladištenja, odnosno spriječiti kontakt ulja sa kisikom, svjetlom i povišenom temperaturom (punjenje u struji inertnog plina, čuvanje u bocama od tamnog stakla manjeg volumena). Na taj način se oksidacijsko kvarenje može značajno usporiti. Primarni i sekundarni produkti oksidacije višestrukonezasićenih masnih kiselina mogu nepovoljno djelovati na zdravlje pa bi trebalo ovo ulje koristiti umjereno (Matthäus i Brühl, 2008) i to kao salatno ulje koje nikako nije predviđeno za zagrijavanje i kuhanje.

### **2.3.2. Negliceridni sastav**

Osim povoljnog sastava masnih kiselina, ulje konoplje je odličan izvor bioaktivnih komponenata poput tokoferola, tokotrienola i plastokromanola-8 (PC-8). Tokoferoli i tokotrienoli, derivati tokola, su lipofilni antioksidansi poznati pod nazivom vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol). Oni sprječavaju oksidaciju nezasićenih masnih kiselina te tako inhibiraju proces oksidacijskog kvarenja ulja. Prosječni udio tokoferola u ulju konoplje iznosi 800 mg kg<sup>-1</sup> pri čemu dominira  $\gamma$ -tokoferol i čini oko 90 % ukupnog udjela tokoferola, a slijedi ga  $\alpha$ -tokoferol te  $\beta$ - i  $\delta$ - tokoferol.  $\alpha$ - i  $\delta$ - tokoferoli čine do 5 %, a  $\beta$ -tokoferol oko 1 % ukupnog udjela tokoferola u ulju (Oomah i sur., 2002; Mätthaus i Brühl, 2008). Osim tokoferola, u ulju konoplje prisutan je i derivat tokotrienola, odnosno plastokromanola-8 (PC-8) strukturno sličan  $\gamma$ -tokoferolu.

Steroli su visokomolekularni ciklički alkoholi s ciklofenantrenskom skupinom (tetraciklički prsten; 3 prstena cikloheksana i 1 prsten ciklopentana). Prema provedenim istraživanjima udio fitosterola u ulju konoplje kreće se između 3,6 i 6,7 g kg ulja<sup>-1</sup>. Među ukupnim fitosterolima dominira  $\beta$ -sitosterol koji čini oko 70 % ukupnog udjela fitosterola u ulju konoplje. Osim  $\beta$ -sitosterola, u ulju konoplje prisutni su kampesterol,  $\Delta$ 5-avenasterol te stigmasterol. U odnosu na ostala ulja bogata linolenskom kiselinom poput suncokretovog ulja, ulje konoplje ne sadrži značajne količine  $\Delta$ 7-fitosterola,  $\Delta$ 7-kampesterola,  $\Delta$ 7-stigmastenola te  $\Delta$ 7-avenasterola koji čine samo 2 % ukupnog udjela fitosterola (Mätthaus i Brühl, 2008).

Ulje konoplje ima dobre senzorske karakteristike, a najznačajniji pigmenti su klorofil *a* i *b* koji mu daju prepoznatljivu tamnozelenu boju (Cert i Pérez-Camino, 2000). Hladno prešano ulje konoplje je svijetlozelene do tamnozelene boje i ugodnog orašastog okusa. Tamnija boja ulja pokazatelj je prisutnosti veće količine klorofila, a takvo ulje ima okus koji podsjeća na okus zelene trave.

## **2.4. Proizvodnja ulja iz sjemenki konoplje**

Tehnološki proces proizvodnje jestivih hladno prešanih i nerafiniranih ulja uključuje postupak pripreme sirovine za izdvajanje ulja i sam proces proizvodnje ulja.

### **2.4.1. Priprema sjemenke konoplje za preradu**

Da bi se iz sirovine moglo proizvesti ulje ključna je priprema same sirovine. Nakon prijema, istovara i vaganja slijedi postupak čišćenja (odvajanje kruto-krutog). Čišćenje podrazumijeva uklanjanje svih nečistoća (stranih sjemenki, grudica zemlje, kamenčića, prašine) koje bi mogle štetno djelovati na uskladišteno sjeme te tako utjecati na smanjenje kvalitete proizvedenog ulja ili pogače. Nečistoće treba odstraniti jer ne sadrže ulje, vežu vodu i postaju centri kvarenja te oštećuju strojeve. Očišćeno sjeme potom ide na mljevenje. Mljevenje je usitnjavanje sjemenki čiji je cilj razoriti stanice biljnog tkiva da bi se postiglo bolje izdvajanje ulja kod prešanja i veće iskorištenje procesa. Mora biti jednoliko radi održavanja konstantnog režima daljnje prerade. Nakon usitnjavanja, slijedi sušenje (odvajanje kruto-tekućeg) gdje se prolaskom kroz sušaru smanjuje udio vlage na oko 10 % (sušenje u struji zraka do temperature od 70 °C) i skladištenje kroz 12 sati radi izjednačavanja vlage difuzijom kroz cjelokupnu masu sjemenaka.

## 2.4.2. Proizvodnja ulja

Pri proizvodnji ulja najvažnije je postići što bolji prinos i kvalitetu ulja. Iz većine uljarskih sirovina ulje se izdvaja na dva načina: mehaničkom ekstrakcijom odnosno prešanjem te ekstrakcijom organskim otapalima. Koji postupak će se koristiti ponajprije ovisi o udjelu ulja u sirovini. Kao što je već spomenuto, sjeme konoplje sadrži 28 – 35 % ulja pa je ekonomski najpovoljniji proces proizvodnje ulja postupkom prešanja na pužnim prešama. Na taj način je moguće iz sjemena izdvojiti 60 – 80 % ulja, što je izuzetno dobro iskorištenje (Matthäus i Brühl, 2008).

Prešanje je najstariji način proizvodnje ulja, a podrazumijeva tehnološki proces kojim se iz pripremljene sirovine, mehaničkim putem i primjenom tlaka, izdvaja ulje. Provodi se na pužnim i hidrauličkim prešama te razlikujemo dva procesa proizvodnje iz kojih se dobivaju toplo i hladno prešano biljno ulje. Ulje iz sjemenki konoplje zbog izuzetno visokog udjela nezasićenih masnih kiselina isključivo se proizvodi postupkom hladnog prešanja. Kod proizvodnje hladno prešanog ulja važno je obratiti pažnju na temperaturu sirovog ulja na izlazu iz preše koja ne smije prijeći 50 °C pa se prešanje provodi u blažim uvjetima, odnosno pri nižem tlaku. Posljedično količina zaostalog ulja u pogači kod hladnog prešanja je znatno veća, a dobiveno ulje intenzivnijeg okusa, mirisa i boje. Danas se za proizvodnju hladno prešanih ulja uglavnom koriste kontinuirane pužne preše. Princip rada ovih preša je snažna pužnica koja gura sjemenje iz većeg slobodnog zatvorenog prostora u manji. Uslijed smanjenja prostora dolazi do sabijanja materijala, raste tlak i izdvaja se ulje. Produkti prešanja su sirovo ulje konoplje te pogača kao nusprodukt prešanja u kojoj zaostaje određena količina ulja. Ulje se cijedi kroz otvor cilindra i hvata u odgovarajuću posudu, a pogača nakon prvog prešanja se usitnjava i ponovno preša kako bi se postiglo bolje iskorištenje. Sedimentacijom (taloženjem), filtracijom ili centrifugalnim separatorom se iz sirovog ulja uklanjaju krute čestice, te se dobiva kao finalni proizvod hladno prešano ulje konoplje koje ide u spremnike od inox materijala ili se puni u staklene boce tamnog materijala kako bi se ulje zaštitilo od utjecaja svjetla koje ubrzava oksidacijsko kvarenje.

Brojne su prednosti proizvodnje ulja prešanjem na pužnim prešama, poput dobivanja ulja visoke kvalitete, nema korištenja kemijskih sredstava, niska cijena opreme, niska potrošnja energije i nema zahtjeva za visokostručnu obuku radnika. Međutim postoji i nedostatak s gledišta niskog prinosa ulja jer određeni dio ulja zaostaje u pogači.

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. Sjeme konoplje

Materijali korišteni za izradu ovog rada su sjeme, ulje i pogača konoplje. Sjeme industrijske konoplje je uzgojeno na području Varaždina i u dolini rijeke Une (obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo ili OPG Janković) u Republici Hrvatskoj u 2016. godini. U radu je analizirano 5 uzoraka sjemena konoplje. Ekstrakcijom po Soxhletu je u laboratoriju iz svakog od 5 uzoraka sjemena te uzorka pogače ekstrahirano sirovo ulje na kojem su se napravile analize sastava masnih kiselina. U Tablici 2. su prikazani uzorci konoplje.

**Tablica 2.** Uzorci konoplje

Broj uzorka	Oznaka uzorka	Karakteristika
1	S1	sjeme, Varaždin 1
2	S2	sjeme, Varaždin 2
3	S3	sjeme, Varaždin 3
4	S4	sjeme, Varaždin 4
5	S5	sjeme, Janković
6	P	pogača, Janković
7	U1	ulje, Janković
8	U2	ulje, Varaždin

#### 3.1.2. Reagensi

- silika-gel
- smjesa dietileter/etanol
- indikator fenolftalein
- natrij-hidroksid,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$
- petroleter
- smjesa izooktan/octena kiselina (40:60)

- zasićena otopina kalij-jodid
- destilirana voda
- indikator škrob
- natrij-tiosulfat,  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0,01 \text{ mol/L}$
- metanolna otopina KOH
- natrij-hidrogensulfat monohidrat



## 3.2. METODE RADA

### 3.2.1. Analiza sjemena

#### 3.2.1.1. Određivanje mase 1000 sjemenki

Određivanje mase 1000 sjemenki koristi se za grubu procjenu kakvoće sjemena, a ona ovisi o veličini i punoći sjemena. Brojanje sjemenki može biti ručno ili fotoelektričnim brojačem. U ovom radu masa 1000 sjemenki je određena ručno prema modificiranoj metodi HRN EN ISO 502:2012. Prilikom određivanja izbroji se 500 zrna od prosječnog uzorka, bez odabiranja, koja su potom izvagana, a masa 1000 zrna je izračunata prema sljedećoj formuli:

$$\text{masa 1000 sjemenki} = \frac{m \times 1000}{n} (g) \quad [1]$$

gdje je:

$m$  – masa izbrojanih sjemenki (g),

$n$  – broj sjemenki.

#### 3.2.1.2. Određivanje nečistoća

Nečistoće u uljarskoj sirovini su sve strane organske i anorganske primjese. Organske nečistoće potječu od same biljke (dijelovi stabljike, lišće, prazne ljuske i drugi ne uljni dijelovi). Ne sadrže ulje, a obično sadrže više vode od samog sjemena, pa će sjeme koje nije dobro očišćeno trošiti više energije za sušenje. Anorganske nečistoće potječu od zemljišta na kojem je biljka uzgajana, prašine, kamenčića, komadića metala i sl. Budući da ne sadrže ulje, vežu vodu i postaju centri kvarenja te oštećuju strojeve (osobito anorganske) potrebno ih je ukloniti.

Za određivanje nečistoća odvagano sjeme je rasprostro na bijeli papir te su pomoću pincete izdvojene nečistoće iz sjemena. Potom su izvagane kako bi se odredio maseni udio (%) ukupnih nečistoća ( $N$ ) u sjemenu prema sljedećoj formuli:

$$N = \frac{M_1 \times 100}{m_0} \quad [2]$$

gdje je:

$M_1$  – masa ukupnih nečistoća (g),

$m_0$  – masa odvagane sjemena (g).

### 3.2.1.3. Određivanje udjela vode u sjemenu

Za određivanje udjela vode u sjemenu konoplje korištena je standardna metoda (HRN EN ISO 665:2004) sušenja do konstantne mase u sušioniku pri temperaturi od 103 °C. Metoda se temelji na isparavanju vode i hlapljivih komponenata iz ulja tijekom zagrijavanja pri unaprijed definiranim uvjetima. Uzorak za analizu se samelje u prethodno očišćenom mlinu. Analiza započinje vaganjem 5 g samljevenog sjemena (pogače) s točnošću 0,001 g. Potom se izvagani uzorak prebaci u osušenu i izvaganu metalnu posudicu. Posudice s podignutim poklopcem stavljaju se u sušionik, koji je prethodno zagrijan na  $103 \pm 2$  °C. Nakon dvosatnog sušenja posudice se u sušioniku zatvaraju poklopcem i stavljaju u eksikator na hlađenje. Ohlađeni uzorak ponovno se važe i vraća u sušionik na jednosatno sušenje, nakon čega se ponovno hladi te važe. Postupak sušenja ponavlja se po 1 sat dok razlika između dva uzastopna mjerenja ne bude najviše 0,005 g. Za svaki uzorak provode se dva paralelna određivanja, među kojima razlika ne smije biti veća od 0,5 %. Rezultat se izražava kao srednja vrijednost dva paralelna mjerenja.

Udio vode određuje se u postocima prema sljedećoj formuli:

$$\% \text{ vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad [3]$$

gdje je:

$m_0$  – masa prazne posudice (g),

$m_1$  – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g),

$m_2$  – masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g).

### 3.2.1.4. Određivanje udjela ulja u sjemenu metodom po Soxhletu

Udio ulja u sirovini najbolji je pokazatelj kvalitete sirovine. Za određivanje udjela ulja u sjemenu i pogači korištena je standardna HRN EN ISO659:2010 metoda ekstrakcije po Soxhletu. Aparatura za ekstrakciju sastoji se od tikvice, ekstraktora i hladila. Za analizu je korišteno sjeme nakon izdvajanja nečistoća. U čahuru za ekstrakciju izvagano je 10 g samljevenog sjemena (pogače) s točnošću 0,001 g. Izvagani uzorak je u čahuri zatvoren vatom. Čahura je stavljena u aparaturu za ekstrakciju te je dodan potreban volumen petroletera, koji je korišten kao otapalo, a ekstrakt se sakupljao u prethodno izvaganu tikvicu u koju su bile stavljene 1-2 staklene kuglice za vrenje. Ekstrakcija se provodila 8 sati u aparatu

po Soxhletu. Nakon završene ekstrakcije otapalo je otpareno, a zaostalo ulje je sušeno pri 103 °C do konstantne mase. Za svaki uzorak pripremljena su dva paralelna mjerenja, a udio ulja je određen prema sljedećoj formuli:

$$ulje(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad [4]$$

gdje je:

$m_1$  – ukupna masa ekstrahiranog ulja (g),

$m_0$  – masa uzorka sjemena (g).

## **3.2.2. Analiza ulja**

### **3.2.2.1. Određivanje sastava masnih kiselina**

Poznavanje kvantitativnog i kvalitativnog sastava masnih kiselina od velike je važnosti. Sastav masnih kiselina ulja utječe na fizikalna svojstva, oksidacijsku stabilnost te nutritivnu vrijednost ulja. Iako se sastav masnih kiselina može određivati različitim tehnikama, najčešće korištena tehnika je plinska kromatografija. Za određivanje sastava masnih kiselina u uzorcima ulja plinskom kromatografijom potrebno je prevesti masne kiseline u njihove metilne estere. U tu svrhu korištena je standardna metoda transmetilacije (HRN EN ISO 5009:2004) pomoću metanolne otopine KOH nakon čega se sastav metilnih estera analizirao metodom plinske kromatografije.

#### **3.2.2.1.1. Priprema metilnih estera masnih kiselina**

Oko 60 mg uzorka ulja otopljeno je u 4 mL izooktana u epruveti sa čepom. Zatim je u epruvetu dodano 200 µL metanolne otopine uz snažno miješanje (vortex) oko 30 sekundi. Smjesa je ostavljena par minuta na sobnoj temperaturi da reagira. Nakon što se reakcijska smjesa izbistrila i odvojio se glicerolni sloj na dnu epruvete, u nju je dodan 1 g natrij-hidrogensulfata monohidrata kako bi se smjesa neutralizirala. Bistra otopina (gornji sloj) je prebačena u vijalicu koja se potom koristila za analizu plinskim kromatografom.

### 3.2.2.1.2. Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom

Metilni esteri masnih kiselina analizirani su plinskom kromatografijom prema metodi HRN EN ISO 5508:1999.

Pripremljeni uzorci analizirani su na plinskom kromatografu ATI Unicam 610 opremljenom s plameno-ionizacijskim detektorom (FID) koji je preko kanala spojen na računalo. Računalu su zadani uvjeti analize: temperatura injektora, kolone i detektora, količina injektiranog uzorka i protok plina.

Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je usporedbom vremena zadržavanja metilnih estera pojedine masne kiseline iz pripremljenog uzorka s vremenima zadržavanja metilnih estera standardne smjese F.A.M.E. C4-C24 (smjesa metilnih estera 18 masnih kiselina poznatog sastava).

### 3.2.2.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina

Slobodne masne kiseline (kiselost ulja) određene su standardnom metodom (HRN EN ISO 660:2010) titracije s otopinom natrij-hidroksida koncentracije 0,1 mol/L. Kiselost se izražava kao udio (%) slobodnih masnih kiselina (SMK) i računa se kao oleinska kiselina prema sljedećoj jednadžbi:

$$SMK(\% \text{ oleinske}) = \frac{V \times c \times M}{10 \times m} \quad [5]$$

gdje je:

$V$  – utrošak otopine natrij-hidroksida za titraciju uzorka (mL),

$c$  – koncentracija otopine natrij-hidroksida za titraciju,  $c$  (NaOH) = 0,1 mol/L,

$M$  – molekulska masa oleinske kiseline,  $M$  = 282 g/mol,

$m$  – masa uzorka ulja (g).

U Erlenmayerovu tikvicu izvagano je 10 g ulja s točnošću 0,001 g. Potom je ulje otopljeno u 50 mL prethodno neutralizirane smjese dietileter/etanol omjera 1:1 kojoj je dodan indikator fenolftalein. Reakcijska smjesa je titrirana otopinom natrij-hidroksida koncentracije 0,1 mol/L do promjene boje indikatora (žuto-zelena u ružičastu). Za svaki uzorak provodila su

se dva određivanja, a udio slobodnih masnih kiselina je izračunat prema gore navedenoj formuli.

### 3.2.2.3. Određivanje peroksidnog broja

Za određivanje peroksidnog broja korištena je standardna jodometrijska metoda (HRN EN ISO 3960:2010) po kojoj se određuje količina joda koji nastaje oksidacijom kalij- jodida u prisustvu peroksida (primarni produkti oksidacije) sadržanih u ulju. Izražava se u milimolima aktivnog kisika po 1 kg ulja ( $\text{mmol O}_2/\text{kg}$ ).

Oko 2 g ulja odvagano je u Erlenmayerovu tikvicu. Uzorak je otopljen u 50 mL smjese izooktan/octena kiselina. Potom je dodano 0,5 mL zasićene otopine kalij-jodida. Smjesa je miješana u poklopljenoj Erlenmayerovoj tikvici 1 min, razrijeđena sa 30 mL destilirane vode (reakcija se zaustavlja), te je pomoću žličice dodan škrob kao indikator. Otopina je odmah titrirana s otopinom natrij-tiosulfata koncentracije 0,01 mol/L.

Peroksidni broj se računa prema sljedećoj jednadžbi:

$$PB(\text{mmolO}_2\text{kg}^{-1}) = \frac{(V_1 - V_0)}{m} \times 5 \quad [6]$$

gdje je:

$V_1$  – volumen (mL) otopine natrij-tiosulfata utrošen za titraciju uzorka,  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol/L}$ ,

$V_0$  – volumen (mL) otopine natrij-tiosulfata utrošen za titraciju slijepe probe,

$m$  – masa uzorka (g).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Analiza sjemena

#### 4.1.1. Tehničko-tehnološka svojstva sjemena

Kako bi se bolje i preciznije vodile pojedine faze tehnološkog procesa proizvodnje, najprije je potrebno odrediti tehničko-tehnološka svojstva sjemena. Tehnološke karakteristike sjemena su važne iz više razloga, prvenstveno zbog čuvanja i prerade sjemena, kao i zbog kvalitete i ekonomičnosti tehnoloških procesa i zdvajanja ulja (B. Rabrenović i sur., 2012). U okviru ovog istraživanja određena je masa 1000 zrna, a dobiveni rezultati su prikazani u Tablici 3.

**Tablica 3.** Tehničko-tehnološki parametri sjemena

Tehničko-tehnološki parametar	S1	S2	S3	S4	S5
Masa 1000 zrna / g	18,74	20,92	17,88	17,98	15,86

U Tablici 3. prikazani su rezultati analize tehničko-tehnološkog parametra (masa 1000 zrna) sjemena konoplje za svih 5 kultivara. Masa 1000 zrna služi za grublju procjenu kvalitete sjemena. Što je veća, sjeme je kvalitetnije jer je prazno sjeme puno lakše. Raspon mase 1000 sjemenki ispitivanog sjemena konoplje iznosi 15,86 – 20,92 g. Uspoređujući dobivene rezultate iz tablice možemo zaključiti da je uzorak S2 najbolje kakvoće s masom 1000 zrna od 20,92 g. U literaturi se navodi da se masa 1000 zrna konoplje kreće od 9 do 26 g (Gagro, 1998). Iako ovaj način daje grubu procjenu, uspoređujući rezultate dobivene ovim istraživanjem sa podacima iz literature, možemo zaključiti da su dobiveni podaci u skladu sa literaturnim podatkom.

#### 4.1.2. Kakvoća sjemena

Za procjenu kakvoće uljarske sirovine određuje se udio ulja, udio vode, udio nečistoća i sastav masnih kiselina koji su određeni i u okviru ovog istraživanja. Parametri kvalitete sjemena, osim što značajno utječu na kvalitetu konačnog proizvoda, važni su pri otkupu i formiranju cijene sjemena. Na kvalitetu konačnog proizvoda uvelike utječe kvaliteta sirovine

koja mora biti zdrava, suha i pročišćena. Prema Pravilniku o stavljanju na tržište sjemena uljarica i predivog bilja (2007) da bi sirovina postigla zadovoljavajuću cijenu otkupa mora sadržavati najviše 4 % nečistoća, minimalno 40 % ulja, te maksimalno 10 % vlage. U suprotnom se cijena proporcionalno povećava ili smanjuje za svaki dodatni postotak. Dobiveni rezultati za gore navedene parametre nalaze se u Tablici 4.

**Tablica 4.** Osnovni parametri kvalitete sjemena i pogače

<b>Parametar kvalitete sjemena</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>P</b>
<b>Udio nečistoća (%)</b>	0,38	0,28	0,50	0,47	-	-
<b>Udio vode (%)</b>	5,4	5,3	5,3	5,4	7,7	8,7
<b>Udio ulja (%)</b>	32,4	33,4	32,8	32,9	29,3	13,1
<b>Udio ulja na suhu tvar (%)</b>	34,2	35,3	34,7	34,7	31,7	14,3

Udio nečistoća u ispitivanom sjemenu kretao se od 0,28 do 0,50 %. Uzorku S5 nije određivan udio nečistoća zbog relativno čistog uzorka. Naime, sjeme dobiveno za analizu je bilo skladišteno te je već prethodno očišćeno. Uzorku P nije određivan udio nečistoća jer je riječ o pogači ili krutom ostatku nakon prešanja.

Udio vode predstavlja količinu slobodne i vezane vode u sjemenu. Ovisi o vremenskim prilikama tijekom sazrijevanja i žetve, stupnju zrelosti sjemena, a kod uskladištenog sjemena i o relativnoj vlažnosti zraka. Povećana vlažnost sjemena izaziva biokemijske promjene u sjemenu koje dovode do razgradnje, klijanja, razvoja plijesni i drugih mikroorganizama, čime se umanjuje kakvoća sjemena i povećavaju troškovi obrade. Kako bi se spriječilo kvarenje sjemena i dobilo kvalitetno ulje, važno je pravilno skladištiti sirovinu i smanjiti udio vode u sjemenu ispod kritične vrijednosti. Udio vode u ispitivanim uzorcima sjemena odnosno pogače iznosi 5,3 do 8,7 % što ukazuje na to da je sjeme bilo dobro osušeno, tj. da je sadržaj vlage odgovarao sadržaju skladišne vlage. U prethodnim istraživanjima iz 2004. (Callaway) i 2006. godine (Anwar i sur.) dobiveni su slični rezultati udjela vode u ispitivanom sjemenu konoplje (6,5 % odnosno 5,6 – 8,5 %) što ukazuje na dobre mogućnosti za skladištenje kroz duži vremenski period.

Najvažniji podatak za ispitivanje kvalitete sjemena uljarica je udio ulja, koji se u ispitivanim uzorcima kretao od 31,7 do 35,3 %, izračunato na suhu tvar. U prethodnim

istraživanjima udio ulja je iznosio 27,5 do 37,5 % (Kriese i sur., 2004), raspon vrijednosti za 2006. godinu je 26,9 do 31,5 % (Anwar i sur.), dok je raspon vrijednosti za 2010. iznosio 30,8 do 36,5 % (Kiralán i sur.). Prema literaturnim navodima prosječni udio ulja u sjemenu konoplje iznosi 28 do 35 % (Matthäus i Brühl, 2008). Na udio ulja utječu klimatski uvjeti (posebice, temperatura koja negativno korelira sa sadržajem ulja, i kiša, koja pozitivno korelira sa sadržajem ulja), geografsko područje, sorta, godina uzgoja te vlažnost i temperatura tijekom skladištenja. Obzirom na prethodna istraživanja i podatke iz literature, možemo zaključiti da su dobiveni podaci za svih 5 uzoraka sjemena konoplje u skladu sa navedenim podacima.

Osim sjemena, analizirana je i pogača dobivena prešanjem sjemenki konoplje. Udio ulja koji je zaostao u pogači iznosio je 14,3 %, izračunato na suhu tvar. U prethodnim istraživanjima udio zaostalog ulja u pogači iznosio je  $10,33 \pm 0,14$  % (Aladić, 2015) odnosno 10,22 % (Cindrić, 2016). Na temelju dobivenih podataka možemo zaključiti da je količina zaostalog ulja u pogači veća zbog upotrebe postupka proizvodnje ulja hladnim prešanjem.

## **4.2. Analiza ulja**

Budući da svako ulje treba zadovoljiti zahtjeve za kvalitetu i autentičnost ulja propisane Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (2012b), potrebno je odrediti udio slobodnih masnih kiselina u ulju metodom titracije te peroksidni broj kao osnovne parametre kvalitete ulja.



#### 4.2.1. Sastav masnih kiselina

Nakon analize osnovnih parametara kvalitete sjemena konoplje provedene su analize sjemena svih 5 kultivara, ulja te pogače konoplje. Analizom je određen sastav masnih kiselina.

**Tablica 5.** Sastav masnih kiselina u sjemenu, ulju i pogači konoplje

Masna kiselina (% od ukupnih)	Uzorak						
	S1	S2	S3	S4	S5	Ulje	P
<b>C16:0</b>	6,6	6,6	6,6	6,6	6,9	6,9	6,9
<b>C18:0</b>	3,2	3,2	3,1	3,1	2,9	2,9	2,8
<b>C18:1c</b>	13,7	14,1	14,0	13,7	15,0	15,4	16,0
<b>C18:2c</b>	56,3	56,1	56,1	56,3	56,1	55,4	55,5
<b>C18:3n6</b>	2,1	2,1	2,1	2,1	2,5	2,6	2,4
<b>C18:3n3</b>	16,2	16,3	16,2	16,2	14,4	14,3	13,3
<b>C20:0</b>	0,8	0,9	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9
<b>C20:1</b>	0,4	-	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
<b>C22:0</b>	-	-	-	-	0,2	0,4	0,4
<b>C22:2</b>	-	-	-	-	-	-	0,8
<b>n.i.**</b>	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,7

Fizikalne i kemijske karakteristike uvelike ovise o vrsti i udjelu masnih kiselina vezanih na triacilglicerol. Kod biljnih ulja svaka pozicija u molekuli glicerola može biti esterificirana s različitim masnom kiselinom. Sastav masnih kiselina u ulju značajno utječe na fizikalna svojstva, nutritivnu vrijednost te oksidacijsku stabilnost ulja. Konopljino ulje kompleksna je mješavina u kojoj dominira 6 masnih kiselina (palmitinska, stearinska, linolna,  $\alpha$ -linolenska,  $\gamma$ -linolenska, oleinska) koje se bitno razlikuju u točki tališta, oksidativnoj stabilnosti te kemijskoj funkcionalnosti, a njihov sastav uvelike ovisi o raznolikosti vrsta i različitim uvjetima uzgoja. Klasificirano je kao sušivo ulje s obzirom na visoki udio linolne i  $\alpha$ -linolenske masne kiseline.

Prisutnost  $\alpha$ -linolenske kiseline je u najvećem dijelu odgovorna za tendenciju konopljinog ulja oksidativnom propadanju.

U Tablici 5. prikazan je sastav masnih kiselina u ispitivanim uzorcima sjemena, ulja i pogače konoplje. Iz rezultata je vidljivo da je u svim uzorcima sjemena najzastupljenija linolna kiselina čiji se udio kreće od 56,1 do 56,3 %. Druga po zastupljenosti je  $\alpha$ -linolenska masna kiselina s rasponom vrijednosti od 14,4 do 16,2 %. Slijede je oleinska sa svojim udjelom od 13,7 do 15,0 %, palmitinska sa udjelom od 6,6 do 6,9 % te stearinska kojoj raspon vrijednosti iznosi 2,9 do 3,2 %. Zadnja od značajnijih masnih kiselina identificiranih u analiziranim uzorcima je  $\gamma$ -linolenska masna kiselina s udjelom od 2,1 do 2,5 %. Stearidonska masna kiselina ovim istraživanjem nije identificirana.

Osim sjemena konoplje, analizirano je i ulje konoplje. Iz rezultata je vidljivo da je u svim uzorcima najzastupljenija linolna masna kiselina s udjelom od 55,4 %. Druga po zastupljenosti je oleinska masna kiselina s udjelom od 15,4 %. Slijede ju  $\alpha$ -linolenska kiselina sa udjelom 14,3 %, palmitinska sa udjelom od 6,9 % te stearinska kojoj udio iznosi 2,9 %. Osim njih, od značajnijih masnih kiselina identificirana je i  $\gamma$ -linolenska kiselina sa udjelom od 2,6 %. Stearidonska masna kiselina, kao i u sjemenu, ovim istraživanjem nije identificirana. Da Porto, Decorti i Tubaro (2012) u svom radu navode raspone vrijednosti za linolnu kiselinu od  $59,2 \pm 0,9$  %, dok raspon vrijednosti u istraživanju Montserrat-de la Paz, Marín-Aguilar, García-Giménez i Fernández-Arche (2014) iznosi  $55,1 \pm 0,5$  %. U ovom radu udjeli svih analiziranih uzoraka za linolnu kiselinu manji su u odnosu na istraživanje od Da Porto i sur. (2012) dok se podudaraju sa istraživanjem od Montserrat-de la Paz i sur. (2014). Analizirajući oleinsku kiselinu, raspon vrijednost za 2012. godinu (Da Porto i sur.) iznosi  $11,5 \pm 1,1$  %, a za 2014. godinu (Montserrat-de la Paz i sur.) iznosi  $11,9 \pm 0,4$  %. Rezultati za oleinsku kiselinu ovog istraživanja pokazuju više vrijednosti za sve uzorke u odnosu na oba istraživanja. Nadalje, rezultati udjela  $\alpha$ -linolenske kiseline iz istraživanja Da Porto i sur. (2012) iznose  $17,9 \pm 0,2$  %, a iz istraživanja Montserrat-de la Paz i sur. (2014)  $16,7 \pm 0,1$  % što jako odstupa od dobivenih vrijednosti u ovom radu koje su niže za svaki analizirani uzorak. Udio palmitinske kiseline u istraživanju Da Porto i sur. (2012) iznosi  $5,4 \pm 0,1$  %, dok se taj raspon kreće od  $5,6 \pm 0,1$  % u istraživanju Montserrat-de la Paz i sur. (2014). Analizirani uzorci pokazuju višu vrijednost za udio palmitinske kiseline u odnosu na oba ranija istraživanja. Što se tiče stearinske masne kiseline udio  $1,6 \pm 0,1$  % pripada istraživanju Da Porto i sur. (2012), dok  $2,7 \pm 0,1$  % istraživanju Montserrat-de la Paz i sur. (2014). Vrijednosti u ovom istraživanju više su za svaki analizirani uzorak uspoređujući s rezultatima iz ranijih istraživanja. Udio posljednje značajnije masne kiseline,  $\gamma$ -linolenske, u istraživanju Da Porto i sur. (2012) iznosi  $3,5 \pm 0,2$  %, a  $3,4 \pm$

0,1 % u istraživanju Montserrat-de la Paz i sur. (2014) što dosta odstupa od dobivenih vrijednosti u ovom radu koje su niže za svaki analizirani uzorak. Ostale masne kiseline poput palmitoleinske, eikosenske i behenske sudjeluju s neznatnim postotkom u sastavu masnih kiselina analiziranih uzoraka.

Uspoređujući analizirane uzorke ulja s objavljenim rezultatima, možemo zaključiti da je konopljinu ulje bogat izvor polinezasićenih masnih kiselina (oko 80 %), a najzastupljenija je linolna (C18:2) koja se svrstava u esencijalne omega-6 masne kiseline. Dvije prisutne polinezasićene masne kiseline, linolna i  $\alpha$ -linolenska, smatraju se esencijalnim jer ih ljudsko tijelo samo ne može sintetizirati i moraju se unijeti hranom. Obje kiseline su potrebne za normalan rast i razvoj ljudskog organizma te efikasan transport i metabolizam kolesterola. Omjer  $\omega$ -6: $\omega$ -3 masnih kiselina analiziranih uzoraka u rasponu je od 3,4:1 do 4,1:1 i predstavlja optimalan omjer višestruko nezasićenih masnih kiselina, što je jedan od zahtjeva uravnotežene prehrane.

Osim sjemena i ulja konoplje, analizirana je i pogača. Iz rezultata je vidljivo da je najzastupljenija linolna kiselina sa udjelom od 55,5%. Druga po zastupljenosti je oleinska kiselina sa udjelom od 16%, a slijede ju  $\alpha$ -linolenska (13,3%) te palmitinska (6,9%) i stearinska (2,8%) masna kiselina. Zadnja od značajnijih masnih kiselina koja je identificirana u uzorku pogače je  $\gamma$ -linolenska s udjelom od 2,4%.

#### 4.2.2. Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja konoplje

Svako ulje koje se nalazi na tržištu treba zadovoljiti zahtjeve za kvalitetu i autentičnost ulja propisane Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (2012b). U okviru ovog istraživanja određen je udio slobodnih masnih kiselina i peroksidni broj dvaju hladno prešanih ulja konoplje. Dobiveni rezultati za gore navedene parametre nalaze se u Tablici 6.

**Tablica 6.** Osnovni parametri kvalitete hladno prešanog ulja konoplje

<b>Uzorak</b>	<b>Peroksidni broj (mmol O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>SMK (%)</b>
<b>U1</b>	4,14	1,54
<b>U2</b>	10,52	1,08

Udio slobodnih masnih kiselina pokazatelj je hidrolitičkih promjena u ulju. Djelovanjem hidrolitičkih enzima te uz prisustvo vode dolazi do cijepanja esterske veze između masne kiseline i glicerola i oslobađanja slobodnih masnih kiselina. Udio slobodnih masnih kiselina reguliran je Pravilnikom o jestivim uljima i mastima (2012b), pri čemu maksimalan dozvoljeni udio u hladno prešanim i nerafiniranim uljima iznosi 2 %. Udio veći od 2 % predstavlja povećanu kiselost jestivog biljnog ulja koje nije za ljudsku upotrebu. Prema dobivenim rezultatima možemo uočiti da su oba analizirana uzorka ulja u okviru Pravilnikom propisanog raspona na temelju čega zaključujemo da je korištena sirovina bila zdravstveno ispravna i proces proizvodnje ulja dobro proveden.

Do pojave oksidacijskog kvarenja u uljima dolazi najčešće zbog vezanja kisika na dvostruke veze u molekuli masne kiseline. Peroksidni broj (PB) označava stupanj oksidacijskog kvarenja ulja i u direktnoj je korelaciji s oksidacijskom stabilnošću ulja koja ovisi o sastavu ulja, prvenstveno o sastavu masnih kiselina te o sastavu i udjelu bioaktivnih komponenti. Na stabilnost ulja uvelike utječu način proizvodnje i način skladištenja ulja. Prema Pravilniku (2012b) je definiran peroksidni broj za hladno prešana i nerafinirana jestiva ulja te njegova maksimalna vrijednost iznosi  $7 \text{ mmol O}_2\text{kg}^{-1}$ . Vrijednosti, niže od maksimalno dozvoljene, ukazuju na to da uvjeti proizvodnje nisu narušili kvalitetu ulja te da nije došlo do značajnog oksidacijskog kvarenja.

Prema dobivenim podacima se vidi da ispitivano ulje U1 ima daleko niži PB od maksimalne dozvoljene vrijednosti, što znači da su uvjeti tehnološkog procesa proizvodnje i skladištenja ulja bili blagi i da nisu narušili antioksidacijsko djelovanje bioaktivnih komponenti koje su očuvale prvenstveno višestrukonezasićene masne kiseline od oksidacijskog kvarenja. Međutim, također vidimo da ispitivano ulje U2 ima PB iznad maksimalne dozvoljene vrijednosti što znači da je došlo do značajnog oksidacijskog kvarenja. Razlog kvarenja može biti nepravilno skladištenje, viša temperatura proizvodnje ili čak potencijalna izloženost sunčevoj svjetlosti čime dolazi do prooksidacijskog djelovanja klorofila.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja te dobivenih i obrađenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Uzorak S2 predstavlja sjeme s najvećim udjelom ulja (33,40 %), a najmanji udio ulja sadrži uzorak S5 (29,30 %).
2. Svi ispitivani uzorci uključujući sjeme, ulje i pogaču konoplje sadrže visoko vrijedne masne kiseline, oleinsku (13,7 - 16,0 %),  $\gamma$ -linolensku (2,1 - 2,6 %) te dvije esencijalne – linolnu (55,4 - 56,3 %) i  $\alpha$ -linolensku (13,3 - 16,3 %).
3. Omjer  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 masnih kiselina kod istraživanih uzoraka u rasponu je od 3,4:1 do 4,1:1.
4. Prema dobivenim rezultatima za peroksidni broj, uzorak ulja U1 (4,14 mmol O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>) zadovoljio je vrijednosti propisane Pravilnikom dok su vrijednosti za uzorak ulja U2 (10,52 mmol O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>) bili iznad dopuštenih vrijednosti.
5. Udio zaostalog ulja u pogači iznosi 14,3 %.

## 6. LITERATURA

- Aladić K., (2015) Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog ulja (*Cannabis sativa* L.) superkritičnim CO<sub>2</sub> iz pogače nakon hladnog prešanja, Doktorska disertacija, Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Anonymous (2013) <<https://www.herbioplus.com/ulje-konoplje>> Pristupljeno 30. kolovoza 2017.
- Anonymous (2017) <<https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=omega-3+masne+kiseline>> Pristupljeno 30. kolovoza 2017.
- Anwar F., Latif S., Ashraf M. (2006) Analytical Characterization of Hemp (*Cannabis sativa*) Seed Oil from Different Agro-ecological Zones of Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **83**: 323-329.
- Brckan J., Katić M. (2013) Utjecaj parametara proizvodnje na kemijski sastav nerafiniranih ulja konoplje, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Callaway J. C., Pate D. W. (2009) Hempseed oil. U: *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*, Moreau R. A., Kamal-Eldin A., ur., American Oil Chemists Society Press, Urbana II., str. 185-213.
- Cert A., Moreda W., Perez-Camino M.C. (2000) Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography A* **881**: 131-148.
- Cindrić K. (2016) Proizvodnja hladno prešanog konopljinog ulja, Završni rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
- Da Porto C., Decorti D., Tubaro F. (2012) Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops Products* **36**: 401-404.
- Deferne J. L., Pate D. W. (1996) Hemp seed oil: A source of valuable essential fatty acids. *Journal of the International Hemp Association* **3 (1)**: 1, 4-7.
- Gagro M. (1998) Industrijsko i krmno bilje, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
- HRN EN ISO 660:2010, Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje kiselinskog broja i kiselosti
- HRN EN ISO 3960:2010, Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje peroksidnog broja – Jodometrijsko određivanje točke završetka
- HRN EN ISO 5009:2004, Životinjske i biljne masti i ulja – Priprava metilnih estera masnih kiselina
- HRN EN ISO 5508:1999, Životinjske i biljne masti i ulja – Analiza metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom
- Kiralan M., Gül V., Metin Kara S. (2010) Fatty acid composition of hempseed oils from different locations in Turkey. *Spanish Journal of Agricultural Research* **8 (2)**: 385-390.
- Kraljić K. (2017) Interna skripta za vježbe, Kemija i tehnologija ulja i masti, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Kriese U., Schumann E., Weber W. E., Beyer M., Brühl L., Matthäuse B. (2004). Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 *Cannabis sativa* L. genotypes. *Euphytica* **137**: 339-351.

- Lampi A. M., Kemal-Eldin A., Piironen V. (2002) Tocopherols and Tocotrienols from Oil and Cereal Grains. U: *Functional Foods, Biochemical and Processing Aspects*, 2. izd., Shi J., Mazza G., Le Maguer M., ur., str. 1-38.
- Leizer C., Ribnicky D., Poulev A., Dushenkov S., Raskin I. (2000) The Composition of Hemp Seed Oil and Its Potential as an Important Source of Nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional and Medical Foods* **2 (4)**: 35-53.
- Matthäus B., Brühl L. (2008) Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. *European Journal of Lipid Science and Technology* **110**: 655-661.
- Montserrat-de la Paz S., Marín-Aguilar F., García-Giménez M. D., Fernández-Arche M. A. (2014) Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil: Analytical and Phytochemical Characterization of the Unsaponifiable Fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62**: 1105-1110.
- Oomah B. D., Busson M., Godfrey D. V., Drover J. C. G. (2002) Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Food Chemistry* **76**: 33-43.
- Pravilnik o uvjetima za uzgoj konoplje, načinu prijave uzgoja maka te uvjetima za posjedovanje opojnih droga u veterinarstvu (2012a) *Narodne novine* **18** (NN 18/2012)
- Pravilnik o jestivim uljima i mastima (2012b) *Narodne novine* **41**, (NN 41/2012)
- Pravilnik o stavljanju na tržište sjemena uljarica i predivog bilja (2007) *Narodne novine* **126** (NN 126/2007)
- Rabrenović B., Dimić E., Berenji J., Vujasinović V. (2012) Tehnološke karakteristike i kvalitet semena, slobodnooplodnih i hibridnih sorti uljane tikve. *Uljarstvo, časopis za industriju biljnih ulja, masti i proteina* **43**: 25-32.
- Simopoulos A. P. (2009) The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases, <<http://www.sfel.asso.fr/fichiers/pdf/publi-r-ntes-/versionpdf-2.pdf>> Pristupljeno 20. Kolovoza 2017.
- Small E., Marcus D. (2002) Hemp: A new crop with new uses for North America. U: *Trends in new crops and new uses*, Janick J., Whipkey A., ur., American Society for Horticultural Science, str. 284-326.
- Škevin D. (2016) Interna skripta iz Kemije i tehnologije ulja i masti, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Škevin D., Kalodjera Z., Kristek A., Žuntar I., Katalenić M. (2011) Znanstveno mišljenje o utjecaju na zdravlje proizvoda od konoplje koji se konzumiraju (ulje, sjemenke) – Hrvatska agencija za hranu, <[https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi\\_misljenje=17](https://www.hah.hr/pregled-upisnika/?preuzmi_misljenje=17)> Pristupljeno 30. kolovoza 2017.

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

*Marina Žgela*

---

ime i prezime studenta