

# Utjecaj ultrazvuka visoke snage na kvalitetu ulja sjemenki grožđa

---

Rimac, Anamarija

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

*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:159:666526>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-23**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Anamarija Rimac**  
0119026552

**UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKE SNAGE NA KVALITETU ULJA SJEMENKI  
GROŽĐA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta:** Održivo gospodarenje  
otpadom od proizvodnje vina

**Mentor:** doc. dr. sc. Marina Tomašević

**Zagreb, 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### Utjecaj ultrazvuka visoke snage na kvalitetu ulja sjemenki grožđa Anamarija Rimac, 0119026552

#### Sažetak:

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta kao predtretmana hladnom prešanju na iskorištenje procesa ekstrakcije te na sastav masnih kiselina u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina. Pritom je ispitan utjecaj frekvencije (37 i 80 kHz) te trajanja predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta (30 i 90 min) na navedene parametre. Sastav masnih kiselina analiziran je GC-FID metodom prema ISO 5509:2000, dok je iskorištenje procesa izračunato obzirom na ukupan udio ulja u sjemenkama (određen metodom po Soxhletu). Rezultati su pokazali kako su najzastupljenije masne kiseline u analiziranom ulju linolna, oleinska i palmitinska kiselina. Nadalje, utvrđeno je da predtretman ultrazvukom visokog intenziteta rezultirao većim iskorištenjem procesa ekstrakcije, pri čemu su kraći tretmani favorizirali povećanje ukupnih mononezasićenih kiselina (sumMUFA), dok su duži tretmani pri nižim frekvencijama rezultirali višim udjelima ukupnih polinezasićenih masnih kiselina (sumPUFA).

**Ključne riječi:** ulje sjemenki grožđa, sastav masnih kiselina, ultrazvuk visokog intenziteta, hladno prešanje

**Rad sadrži:** 35 stranica, 11 slika, 7 tablica, 45 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** doc. dr. sc. Marina Tomašević

**Pomoć pri izradi:** izv. prof. dr. sc. Natka Ćurko

**Datum obrane:** 16. rujna 2024.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering  
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Food Technology

### The impact of high-power ultrasound on the quality of grape seed oil

Anamarija Rimac, 0119026552

**Abstract:** The aim of this study was to examine the impact of high power ultrasound as a pretreatment for cold pressing on the extraction yield and fatty acid composition in Graševina grape seed oil. The study examined the influence of frequency (37 and 80 kHz) and the duration of high-power ultrasound pretreatment (30 and 90 min) on these parameters. Fatty acid composition was analyzed by the GC-FID method according to ISO 5509:2000, while the extraction yield was calculated based on the total oil content in the seeds (determined by the Soxhlet method). The results showed that the most abundant fatty acids in the analyzed oil were linoleic, oleic, and palmitic acid. Results also showed that high power ultrasound treatments increased oil yield, with shorter treatments favoring increased total monounsaturated fatty acids (sumMUFA), while longer treatments at lower frequencies resulted in a higher content of total polyunsaturated fatty acids (sumPUFA).

**Keywords:** grape seed oil, fatty acid composition, high-intensity ultrasound, cold pressing

**Thesis contains:** 35 pages, 11 figures, 7 tables, 45 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** PhD Marina Tomašević, Assistant Professor

**Technical support and assistance:** PhD Natka Ćurko, Associate Professor

**Thesis defended:** September 16, 2024

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. KOMINA GROŽĐA .....	2
2.1.1. SJEMENKE GROŽĐA.....	4
2.1.2. ULJE SJEMENKI GROŽĐA.....	4
2.2. PARAMETRI KVALITETE ULJA SJEMENKI GROŽĐA.....	6
2.2.1. MASNE KISELINE .....	6
2.2.2. TOKOFEROLI.....	8
2.2.3. FITOSTEROLI .....	8
2.2.4. POLIFENOLNI SPOJEVI .....	8
2.3. METODE EKSTRAKCIJE ULJA IZ SJEMENKI GROŽĐA.....	9
2.3.1. HLADNO PREŠANJE .....	9
2.3.2. ULTRAZVUK VISOKOG INTENZITETA KAO PREDTRETMAN HLADNOM PREŠANJU .....	10
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>12</b>
3.1. MATERIJALI .....	12
3.1.1. SIROVINA .....	12
3.1.2. KEMIKALIJE.....	12
3.1.3. LABORATORIJSKI PRIBOR I OPREMA .....	12
3.2. METODE .....	13
3.2.1. ULTRAZVUK VISOKIH SNAGA KAO PREDTRETMAN HLADNOM PREŠANJU .....	13
3.2.2. EKSTRAKCIJA ULJA SJEMENKI GROŽĐA PRIMJENOM HLADNOG PREŠANJA.....	14
3.2.3. ODREĐIVANJE ISKORIŠTENJA PROCESA EKSTRAKCIJE ULJA .....	16
3.2.4. ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA.....	16
3.2.5. OBRADA PODATAKA .....	17
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>18</b>
4.1. ISKORIŠTENJE EKSTRAKCIJE ULJA .....	18
4.2. UTJECAJ PREDTRETMANA ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA SASTAV MASNIH KISELINA .....	19
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>30</b>
<b>6. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>31</b>

## 1. UVOD

U današnje vrijeme, potrošači sve više cijene prirodne i minimalno obrađene prehrambene i kozmetičke proizvode, posebice one koji dolaze iz održivih izvora i imaju pozitivan utjecaj na njihovo zdravlje. Jedan od takvih proizvoda su i hladno prešana ulja, koja zadržavaju visok udio bioaktivnih spojeva poput polifenola, vitamina i nezasićenih masnih kiselina. Hladno prešana ulja proizvode se bez primjene topline i kemikalija, čime se očuvaju njihova nutritivna i organoleptička svojstva. Međutim, kako bi se poboljšalo iskorištenje ulja tijekom ekstrakcije i njegov sastav, razvijaju se različite metode predtretmana, poput primjene ultrazvuka visokog intenziteta.

Ultrazvučna obrada, prvenstveno ultrazvuk visokih snaga, sve više privlači pažnju znanstvenika i industrije zbog svoje sposobnosti da poboljša učinkovitost ekstrakcije ulja. Ovaj proces koristi ultrazvučne valove koji potiču efekt kavitacije, što rezultira pucanjem staničnih stijenki sjemenki i olakšava oslobađanje ulja. U usporedbi s tradicionalnim metodama, ultrazvuk visokih snaga može značajno povećati iskorištenje ulja uz očuvanje njegove kvalitete. Osim toga, predtretman ultrazvukom može povećati udio poželjnih spojeva, poput polinezasićenih masnih kiselina, tokoferola i polifenolnih spojeva što ulja čini nutritivno bogatijima.

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj procesnih parametara ultrazvuka visokog intenziteta, kao predtretmana hladnom prešanju, na iskorištenje ekstrakcije ulja te na sastav masnih kiselina u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina. Pritom je ispitan utjecaj frekvencije (37 i 80 kHz) te vremena trajanja samog tretmana (30 i 90 min), uz hladno prešanje netretiranih sjemenki kao kontrolni postupak. Rezultati ovog istraživanja doprinijet će razumijevanju navedene netoplinke tehnike kao potencijalne metode za poboljšanje ekstrakcije hladno prešanih ulja.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KOMINA GROŽĐA

Uzgoj vinove loze jedna od najraširenijih agroekonomskih aktivnosti sa godišnjom svjetskom proizvodnjom u 2022. godini preko 80 milijuna tona grožđa te preko 258 milijuna hektolitara vina (OIV, 2024; Beres i sur., 2017). Upravo tijekom proizvodnje vina se generira značajna količina organskog otpada koji u najvećoj mjeri obuhvaća kominu i peteljku grožđa. Navedeni nusproizvod obuhvaća čak 20-30 % ukupne količine prerađenog grožđa (Antonić i sur., 2020), što godišnje na svjetskoj razini predstavlja čak 5-7 milijuna tona generiranog otpada koji zbog opasnosti za okoliš poput zagađenja tla, podzemnih voda i neugodnih mirisa zahtijeva odgovarajuće upravljanje otpadom i sigurno zbrinjavanje. Upravo zbog toga je posljednjih godina veliki naglasak stavljen na valorizaciju otpada od proizvodnje vina, s posebnim naglaskom na kominu grožđa. Općenito, komina čini do 60 % krutog nusproizvoda proizvodnje vina i 20-25 % prerađenog grožđa, a mješavina je pokožice, sjemenki te ponekad i peteljki (Nanni i sur., 2021). Uglavnom se sastoji od dva dijela: komine bez sjemenki (sadrži pokožicu, ostatke pulpe i peteljke) i sjemenki grožđa. Prehrambena vlakna glavna su komponenta komine bez sjemenki, dok je ulje glavna komponenta sjemenki grožđa, a obje su frakcije bogate bioaktivnim spojevima, poput flavonoida (Bordiga i sur., 2019). Ovisno o vrsti vina koje se proizvodi, komina može biti fermentirana i nefermentirana. Fermentirana komina dobiva se tijekom proizvodnje crnog vina i sadrži manji udio šećera i fenolnih spojeva, zbog procesa alkoholne fermentacije, dok se nefermentirana komina dobiva tijekom proizvodnje bijelog vina, odnosno direktnim prešanjem grožđa s ciljem proizvodnje mošta (Nanni i sur., 2021).

U tablici 1 prikazan je prosječan kemijski sastav komine grožđa. Općenito, najvažniji spojevi komine grožđa su prehrambena vlakna, polifenolni spojevi, pigmenti i minerali, s time da su polifenolni spojevi najodgovorniji za antioksidativni potencijal komine. Hidrofobna, odnosno uljna frakcija komine, bogata je nezasićenim masnim kiselinama. Prehrambena vlakna, u rasponu od 19-38 %, pronađena su uglavnom u komini crnog grožđa, dok je u komini bijelog njihov udio niži. To su polisaharidi poput pektina, lignina, celuloze i hemiceluloze, a poboljšavaju probavu te mogu stvarati komplekse s polifenolnim spojevima čime se stvaraju prehrambena vlakna antioksidativnog djelovanja, koja su nutritivno vrijednija od samih prehrambenih vlakana, kao na primjer od onih pronađenih u žitaricama. Glavni predstavnici polifenolnih spojeva, koji se zbog pozitivnog učinka na zdravlje smatraju vrlo vrijednima, su antocijani, katehini, flavanoli, flavonoli i fenolne kiseline. Antocijani su svojstveni za kominu crnog grožđa, daju joj boju, a koncentrirani su u pokožici grožđa. U bijelom grožđu najzastupljeniji su flavanoli, a njihov najveći udio se nalazi u sjemenkama, iako ih ima i u

pokožici. Od fenolnih kiselina najzastupljenije su galna i protokatehinska u sjemenkama te hidroksicimetna kiselina u pokožici (Antonić i sur., 2020; Garcia-Lomilo i Gonzalez-SanJose, 2017). Udio proteina u komini grožđa može se kretati od 6 do 15 % u suhoj tvari, a njihov udio ovisi o sorti grožđa te uvjetima uzgoja. Uspoređujući pokožicu i sjemenke udio proteina je podjednak, a aminokiselinski profil grožđa sličan je onom kod žitarica, s visokim udjelima glutaminske i asparaginske kiseline te niskim udjelima triptofana i aminokiselina koje sadrže sumpor. Mineralni sastav komine je vrlo promjenljiv, a ovisi o klimatskim uvjetima i uvjetima uzgoja te vinogradarskoj praksi. Minerali poput kalija, fosfora, sumpora i magnezija najčešće su prisutni u komini, a zbog visoke pokretljivosti kroz floem skloni su lokaliziranju u pokožici bobica tijekom zrenja. Također, komina je bogata kalijevim solima, najčešće u obliku tartarata, uglavnom kalijev bitartarata. Udio tartarata je značajan, s udjelom između 4 % i 14 % u suhoj tvari (Bordiga i sur., 2019).

**Tablica 1.** Prosječna vrijednost kemijskog sastava komine grožđa (Bordiga i sur., 2019)

SASTOJAK		VRIJEDNOST U KOMINI (g/kg)
suha tvar	sv.t.	329-490
pepeo	sv.t.	18-24
organski spojevi	s.t.	827-959
ukupno šećeri	sv.t.	150-330
ukupno prehrambena vlakna	sv.t.	190-380
ukupno dušik	s.t.	10-17
lipidi	sv.t.	4-10
kondenzirani tanini	s.t.	
slobodni		16-38
vezani na vlakna		19-34
vezani na proteine		56-131
ukupno		91-203

sv.t. - u svježoj tvari, s.t. - u suhoj tvari

Upravo zbog prethodno opisanog bogatog kemijskog sastava sve je veći broj istraživanja koja proučavaju kapacitet komine grožđa kao sirovine za prehrambenu, farmaceutsku i kemijsku industriju. Njena valorizacija predstavlja veliki potencijal u proizvodnji i razvoju raznih funkcionalnih i farmaceutskih sastojaka, pigmenata, enzima, aroma, biomaterijala i biogoriva (Bordiga i sur., 2019).



### 2.1.1. Sjemenke grožđa

Udio sjemenki u grožđu ovisi o sorti, i varira između 2 i 6 % težine bobica te 1 i 4 % težine grozda (Mironeasa i sur., 2010). Sjemenka se većinom sastoji od prehrambenih vlakana (oko 40 %), lipida (10-20 %) i proteina (oko 10 %). Ostatak se sastoji od šećera, polifenolnih spojeva, minerala i vode (Antonić i sur., 2020).

Sjemenke grožđa predstavljaju značajan izvor bioaktivnih spojeva, posebno polifenolnih, koji im daju raznolike biološke aktivnosti poput protuupalnih, antioksidativnih, kardioprotektivnih, i mnogih drugih. U prosjeku, ukupni sadržaj polifenolnih spojeva u sjemenkama je 130 puta veći od onog u pulpi grožđa. Nadalje, sastav polifenolnih spojeva, kao i njihove koncentracije, u sjemenkama je promjenjiv te ovisi o sorti, okolišnim i vinogradarskim uvjetima, ali općenito, glavni polifenolni spojevi sjemenki grožđa su flavanoli (flavan-3-oli), flavonoli, antocijani, fenolne kiseline i stilbeni (Zhou i sur., 2022; Ma i Zhang, 2017).

### 2.1.2. Ulje sjemenki grožđa

Ulje sjemenki grožđa (engl. *grape seed oil*, GSO) smatra se najvažnijim sastojkom sjemenki, a njegov udio varira ovisno o sorti grožđa. U pravilu, u sjemenkama bijelih sorti udio ulja je veći, u usporedbi s crnim sortama, i može doseći do 20 % (Martin i sur., 2020). Ulja biljnog podrijetla definirana su Pravilnikom Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske o jestivim uljima i mastima (NN 11/2019) kao „proizvodi koji se dobivaju iz sjemenki ili plodova biljaka, sastoje se od triglicerida masnih kiselina, a mogu sadržavati i neznatne količine drugih lipida kao što su fosfolipidi, voskovi, neosapunjive tvari, mono- i digliceride te slobodne masne kiseline”. Zahtjevi kvalitete za ulja sjemenki grožđa definirani navedenim Pravilnikom (2019) su prikazani u tablici 2.

**Tablica 2.** Zahtjevi kvalitete za ulja sjemenki grožđa (Pravilnik, 2019)

KEMIJSKO SVOJSTVO	VRIJEDNOST
Gustoća (g/L)	0,920-0,926
Indeks refrakcije	1,467-1,477
Jodni broj	128-150
Broj osapunjenja (mg KOH/g ulja)	188-194
Neosapunjivo (%)	≤ 2,0
Sastav masnih kiselina (%)	
C14:0	nd-0,3
C16:0	5,5-11,0
C18:0	3,0-6,5
C18:1	12,0-28,0
C18:2	58,0-78,0
Ukupni steroli (mg/kg)	2000-7000

nd - nije detektirano

Kemijski sastav ulja karakteriziran je značajnim udjelom polinezasićenih (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA) i mononezasićenih masnih kiselina (engl. *monounsaturated fatty acid*, MUFA) i niskom količinom zasićenih (engl. *saturated fatty acids*, SFA). Osim toga, ulje sjemenki grožđa važan je izvor spojeva koji djeluju kao antioksidansi, a među njima su fitosteroli, tokoferoli, tokotrienoli, flavonoidi, fenolne kiseline i karotenoidi.  $\beta$ -sitosterol predstavlja glavni fitosterol, a značajni su još i kampesterol te stigmasterol. Tokoferoli i tokotrienoli su izomeri vitamina E i predstavljaju važnu skupinu fenolnih antioksidanata koji djeluju na održavanje kvalitete ulja zaustavljanjem slobodnih radikala.  $\alpha$ -tokoferol je glavni tokoferol, a postoje još tri homologne forme tokoferola,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokoferol (Shinagawa i sur., 2015).

Ulje sjemenki grožđa ima široku primjenu, a može se koristiti u kozmetičke, farmaceutske, medicinske i kulinarske svrhe. Zbog svog kvantitativnog omjera između linolne i oleinske kiseline, koji iznosi 3,52-5,61, ovo ulje je stabilno tijekom skladištenja. Takva dobra otpornost na oksidaciju određuje njegovu primjenu kao stabilizatora u lako oksidirajućim smjesama, kao i primjenu u kozmetici, gdje se koristi za liječenje suhe kože i zaštitu od starenja (Mironeasa i sur., 2010). Nadalje, kao bogat izvor nezasićenih masnih kiselina, pogotovo polinezasićene linolne kiseline, ulje sjemenki grožđa povezuje se s kardioprotektivnim učinkom jer linolna kiselina smanjuje proizvodnju lipoproteina niske gustoće i poboljšava njegovo čišćenje (Dabetic i sur., 2020). Također, visok udio nezasićenih masnih kiselina smatra se korisnim u prevenciji tromboze i proširenih krvnih žila (Mironeasa i sur., 2010). Visoka razina fitosterola

također djeluje pozitivno na kardiovaskularni sustav te se antiaterosklerotička aktivnost ulja pripisuje upravo njima, dok se antioksidativna najviše pripisuje koncentraciji vitamina E u ulju. Nadalje, dokazano je da ulje sjemenki grožđa može imati i antimikrobno djelovanje, inhibirajući rast određenih patogenih sojeva kao što su *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (Dabetic i sur., 2020).

## **2.2. PARAMETRI KVALITETE ULJA SJEMENKI GROŽĐA**

### **2.2.1. Masne kiseline**

Masne kiseline su karboksilne kiseline, lančani ugljikovodici, s metilnom skupinom (CH<sub>3</sub>-) na jednom kraju molekule (najčešće označen grčkim slovom „ $\omega$ “), i karboksilnom skupinom (-COOH) na drugom. Masne kiseline se mogu podijeliti u dvije velike skupine, zasićene i nezasićene masne kiseline, a nezasićene se dijele na još dvije podskupine, mononezasićene i polinezasićene masne kiseline. Zasićene masne kiseline imaju sve ugljikove atome povezane jednostrukim kovalentnim vezama, odnosno zasićene su atomima vodika. Većina su ravni ugljikovodični lanci s parnim brojem ugljikovih atoma. Mononezasićene masne kiseline imaju jednu dvostruku kovalentnu vezu između atoma ugljika, koja se može pojaviti na različitim pozicijama, ovisno o određenoj kiselini. Ukoliko masna kiselina sadrži više od jedne dvostruke kovalentne veze naziva se polinezasićenom (Rustan i Drevon, 2005). Glavne masne kiseline ulja sjemenki grožđa su polinezasićena linolna kiselina (C18:2), mononezasićena oleinska kiselina (C18:1) te zasićena palmitinska kiselina (C16:0) (Bordiga i sur., 2019). U tablici 3 prikazane su četiri najzastupljenijih masne kiseline u ulju sjemenki grožđa u bijelim (talijanski Riesling i Sauvignon blanc) i crnim (Pinot noir i Merlot) sortama te drugim biljnim uljima (suncokretovom, ulju šafranike te maslinovom). Iz prikazanih podataka je vidljivo kako je sastav ulja sjemenki grožđa najsličniji onom ulju šafranike i suncokretovom ulju. Nadalje, prema prikazanim podacima suncokretovo ulje može imati najveći udio linolne kiseline, ali taj udio puno više varira u usporedbi s uljem sjemenki grožđa, ili uljem šafranike, gdje je on puno postojaniji između sorti.

Linolna kiselina sadrži dvije dvostruke kovalentne veze, na 9. i 12. ugljikovom atomu od karboksilne skupine, to je  $\omega$ -6 masna kiselina. Budući da ljudi mogu ugraditi dvostruku kovalentnu vezu samo do 9. atoma ugljika masne kiseline, i tako su u nemogućnosti sintetizirati linolnu kiselinu, ona je esencijalna za ljude i potrebno ju je unositi u organizam putem prehrane. Glavni prehrambeni izvori ove kiseline su biljna ulja, sjemenke, meso, jaja i orašasti plodovi. Njezina uloga u ljudskom organizmu je višestruka te može koristiti kao izvor energije, ali i esterificirati kako bi se formirali neutralni i polarni lipidi (na primjer fosfolipidi).

Kao dio fosfolipida, djeluje kao strukturna komponenta za održavanje određene razine fluidnosti membrane transdermalne vodene barijere epiderme, a kada se oslobodi iz membranskih fosfolipida, može enzimatski oksidirati u različite derivate uključene u signalizaciju stanica (Whelan i Fritsche, 2013).

**Tablica 3.** Udio četiri najzastupljenijih masne kiseline u ulju sjemenki grožđa u bijelim i crnim sortama te drugim biljnim uljima (suncokretovom, ulju šafranike te maslinovom)

ULJE		MASNA KISELINA (%)			
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
ULJE SJEMENKI GROŽĐA <sup>1</sup>	TALIJANSKI RIESLING	7,69-7,93	4,29-4,59	19,63-20,21	66,50-67,20
	SAUVIGNON BLANC	7,70-8,00	4,07-4,51	18,61-18,97	67,85-68,39
	PINOT NOIR	9,49-9,57	4,42-4,80	17,27-17,77	66,94-67,60
	MERLOT	8,42-8,64	3,27-3,57	14,34-14,64	72,14-72,80
SUNCOKRETOVO ULJE <sup>2</sup>		5,0-8,0	2,5-7,0	15,0-40,0	40,0-74,0
ULJE ŠAFRANIKE <sup>3</sup>		5,61-8,50	1,92-4,40	13,05-18,99	64,52-75,76
MASLINOVO ULJE <sup>4</sup>		11,5-15,0	4,3-7,2	43,0-49,1	29,3-36,0

1 - Kapcsándi i sur., 2021; 2 - Monfreda i sur., 2012; 3 - Sabzalian i sur., 2008; 4 - Sakar i Gharby, 2022

Oleinska kiselina je  $\omega$ -9 mononezasićena neesencijalna masna kiselina. Njezin najveći prehrambeni izvor je maslinovo ulje te predstavlja glavni sastojak mediteranske prehrane. Ova kiselina regulator je imunološke funkcije i zdravlja te može biti korisna u liječenju i prevenciji različitih bolesti, poput autoimunih ili kardiovaskularnih, određenih ozljeda kože, a također ima istaknutu ulogu u apsorpciji lijekova.

Palmitinska kiselina najčešća je zasićena masna kiselina koja se nalazi u ljudskom tijelu, a osigurava se prehranom ili se endogeno sintetizira iz drugih masnih kiselina, ugljikohidrata i aminokiselina. Ona predstavlja 20 do 30 % ukupnih masnih kiselina u membranskim fosfolipidima i adipoznim triacilglicerolima, a vrši višestruke temeljne biološke funkcije na staničnoj i tkivnoj razini. Unos palmitinske kiseline preko prehrane, uz optimalan unos ostalih masnih kiselina, je bitan za održavanje optimalnog PUFA/SFA omjera u tkivima, koji jamči pogodna fizikalna svojstva membrana (Carta i sur., 2017).

### 2.2.2. Tokoferoli

Tokoferoli su vitaminski kompleksi topivi u mastima (Sabir i sur., 2012), ključni za održavanje kvalitete ulja tijekom obrade i skladištenja. Sprječavaju oksidaciju lipida koja dovodi do užeglosti i razvoja nepoželjnih okusa (Kaseke i sur., 2021). Svaka vrsta ulja ima karakterističan sadržaj tokoferola, a u sjemenim uljima se nalaze kao  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ -tokoferol, pri čemu je  $\gamma$ -tokoferol jedan od najznačajnijih antioksidanata, što ga čini važnom komponentom zdrave prehrane ljudi. Nadalje,  $\alpha$ -tokoferol (trivijalno ime vitamin E) zbog svoje visoke antioksidativne aktivnosti, ima neuroprotektivno i antitumorsko djelovanje, a također usporava proces starenja te sprječava nastanak nekih kroničnih bolesti (Garavaglia i sur., 2016).

### 2.2.3. Fitosteroli

Fitosteroli su podskupina steroida, važne skupine bioorganskih molekula široko rasprostranjenih u biljkama, životinjama i gljivama koji imaju ključnu ulogu u njihovoj fiziologiji. Biljna ulja i proizvodi od njih, kao i orašasti plodovi, žitarice, povrće i voće, najbogatiji su izvori fitosterola, a tri najčešća su:  $\beta$ -sitosterol, kampesterol i stigmasterol (Saeidnia i sur., 2014). Fitosteroli i njihovi derivati imaju nekoliko bioloških aktivnosti kojima promiču zdravlje ljudi, kao što je, na primjer, smanjenje ukupnog plazmatskog i LDL-kolesterola, što smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti. Također, djeluju protuupalno te sudjeluju u prevenciji raka debelog crijeva, dojke i prostate (Ogbe i sur., 2015).

### 2.2.4. Polifenolni spojevi

Polifenolni spojevi su skupina sekundarnih metabolita biljnog podrijetla koja se dijeli na dvije podskupine: flavonoide (antocijani, flavoni, izoflavoni, flavonoli, flavanoni, flavonoli) i neflavonoide [fenolne kiseline (hidroksicimetne i hidroksibenzojeve), stilbeni, lignani]. Najznačajniji polifenolni spojevi u ulju sjemenke grožđa su katehin, epikatehin, galna kiselina, procijanidini i proantocijanidini, a utvrđeno je kako sjemenka grožđa sadrži veću koncentraciju polifenolnih spojeva u usporedbi sa samim uljem (Martin i sur., 2020).

## 2.3. METODE EKSTRAKCIJE ULJA IZ SJEMENKI GROŽĐA

Lovrić (2003) u knjizi „Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva” definira ekstrakciju kao separacijski proces te ju opisuje kao postupak uklanjanja tvari iz čvrste ili tekuće smjese pomoću odgovarajućeg otapala, u kojem se ta tvar bolje otapa nego ostali sastojci smjese. Ulje se može ekstrahirati fizikalnim ili kemijskim metodama; fizikalna ekstrakcija koristi mehaničku energiju za dobivanje ulja, dok se kemijska temelji na primjeni otapala, enzima ili superkritičnog fluida (Aladić, 2015).

### 2.3.1. Hladno prešanje

Prema Pravilniku (2019), ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji, ulja biljnog podrijetla se razvrstavaju u tri kategorije, rafinirana ulja, hladno prešana ulja i djevičanska ulja. Nadalje, hladno prešana ulja se definiraju kao proizvodi koji se dobivaju iz odgovarajućih sirovina, samo mehaničkim postupcima, primjerice prešanjem, i bez primjene topline. U proizvodnji takvih ulja se može provesti i postupak čišćenja, odnosno bistrenja, pranjem vodom, dekantiranjem, filtriranjem i centrifugiranjem.

Hladno prešanje ulja je mehanički proces kojim se, bez primjene topline ili kemijskih otapala, ekstrahira ulje iz sjemenki ili orašastih plodova. Ovom metodom se zadržavaju prirodne nutritivne i organoleptičke karakteristike ulja, tako što se očuvaju termolabilni spojevi i izbjegavaju kemijski kontaminanti koji mogu nastati kod drugih metoda ekstrakcije. Takva metoda rezultira proizvodom visoke kvalitete (Çakaloğlu i sur., 2018; Aladić, 2015). Razlog tome je što proces minimalizira oksidaciju i čuva osjetljive spojeve poput polifenolnih spojeva i drugih antioksidansa. Međutim, konačna kvaliteta ulja uvelike ovisi o uvjetima prešanja i kvaliteti sirovine. Čimbenici poput sadržaja vlage u sjemenkama i čistoće okoliša u kojem se prešanje odvija igraju ključne uloge u određivanju roka trajanja i senzorskih svojstava ulja (Chin Chew, 2020; Çakaloğlu i sur., 2018). Također, na kvalitetu dobivenog ulja utječu i brojni čimbenici samog procesa prešanja, poput brzine prešanja, temperature preše i promjera mlaznice (Aladić, 2015).

Proces hladnog prešanja dijeli se na dvije faze: (i) pripremu sirovine za izdvajanje ulja i (ii) izdvajanje ulja. Priprema sirovine podrazumijeva uklanjanje nečistoća i sušenje sjemenki na odgovarajuću razinu vlažnosti, 8-10 % (Ćurko i sur., 2023). Proces se može provoditi pomoću hidrauličnih ili pužnih preša, a prilikom prešanja, u oba slučaja, temperatura sirovog ulja na izlazu iz preše ne smije prelaziti 50 °C. Hidraulične preše pružaju nižu izlaznu temperaturu i

obično se koriste u manjim proizvodnim pogonima, dok su pužne preše učinkovitije za kontinuiranu proizvodnju (Aladić, 2015). Hladno prešana ulja koriste se u raznim industrijama, ponajviše u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. U prehrambenoj industriji ova ulja su cijenjena zbog bogatog okusa i nutritivnih prednosti, osobito zbog visokog sadržaja esencijalnih masnih kiselina, vitamina i antioksidansa. U kozmetičkoj industriji koriste se zbog hidratantnih i protuupalnih svojstava koja su korisna za zdravlje kože i kose. Osim toga, hladno prešana ulja koriste se u dodacima prehrani zbog visokih razina bioaktivnih spojeva koji pridonose zdravlju srca i imunološkoj funkciji (Chin Chew, 2020). Općenito se smatra da hladno prešanje rezultira proizvodnjom visokokvalitetnih, nutritivno bogatih ulja, s minimalnim utjecajem na okoliš. Osim navedenog, taj proces je vrlo jednostavan, ekonomski isplativ i ne zahtijeva korištenje kemikalija, što ga čini održivijom opcijom (Çakaloğlu i sur., 2018).

Jedan od glavnih izazova kod hladnog prešanja je niže iskorištenje procesa u usporedbi s drugim metodama ekstrakcije kao što su toplo prešanje ili ekstrakcija otapalima. Drugim riječima, rezultat hladnog prešanja je kolač (ostatak prešanja) sa većim udjelom zaostalog ulja. Na iskorištenje samog procesa utječu razni čimbenici kao što su udio vlage, temperatura te specifični parametri preše, poput brzine rotacije i promjera mlaznice. Kako bi se povećalo iskorištenje hladnog prešanja bez kompromitiranja kvalitete, neki proizvođači primjenjuju predtretmane poput pečenja, mikrovalnog zagrijavanja ili tretmana ultrazvukom. Ove metode mogu poboljšati ekstrakciju ulja razgradnjom staničnih stijenki, čime se omogućuje oslobađanje veće količine ulja tijekom prešanja. Međutim, ovi tretmani moraju se pažljivo kontrolirati kako bi se izbjeglo narušavanje nutritivnih svojstava ulja (Chin Chew, 2020).

### 2.3.2. Ultrazvuk visokog intenziteta kao predtretman hladnom prešanju

Ultrazvučno zračenje je oblik mehaničke valne energije koja nalazi sve veću primjenu u raznim industrijama, uključujući preradu hrane i ekstrakciju ulja. Tehnologija ultrazvuka stvara visokofrekventne zvučne valove koji stvaraju kavitacijske mjehuriće u tekućem mediju, a kada se ti mjehurići uruše oslobađa se velika količina energije. To dovodi do razgradnje staničnih stijenki i olakšava oslobađanje intracelularnog sadržaja stanica, uključujući i ulja. Učinkovitost procesa koji su potpomognuti ultrazvukom ovisi o više čimbenika, poput frekvencije, viskoznosti medija, temperature i trajanja ultrazvuka. Istraživanja su pokazala kako primjena ultrazvuka, prvenstveno ultrazvuka visokih snaga, rezultira većim iskorištenjem procesa ekstrakcije, smanjenjem vremena obrade te nižom potrošnjom energije. Osim toga, kao netopljinska tehnologija idealan je za ekstrakciju termolabilnih spojeva, kojima se tako čuva

integritet, kao i kvaliteta i nutritivni sadržaj ekstrahiranog proizvoda (Kaseke i sur., 2021).

Ultrazvuk visokog intenziteta se koristi za poboljšavanje oslobađanja ulja iz sjemenki tako što povećava dostupnost ulja za ekstrakciju razbijanjem staničnih stijenki. Istraživanja su pokazala da ultrazvuk može značajno poboljšati iskorištenje procesa ekstrakcije kada se koristi kao metoda predtretmana. Na primjer, u ekstrakciji ulja iz sjemenki moringe, ultrazvučni predtretman povećao je iskorištenje ekstrakcije za 1,24 %, u usporedbi s kontrolnim uzorcima koji su ekstrahirani bez predtretmana (Kayanan i Sagum, 2021). Istraživanje provedeno na sjemenkama lubenice je također pokazalo da predtretman ultrazvukom visokog intenziteta može značajno povećati iskorištenje u usporedbi s netretiranim uzorcima, ističući kako su optimalni uvjeti ultrazvuka ključni za povećanje iskorištenja, bez kompromitiranja kvalitete ulja (Kaseke i sur., 2021). To potvrđuje i rad u kojem McDowell i sur. (2017) navode kako njihovo istraživanje primjene predtretmana ultrazvuka na hladno prešano ulje repice nije pokazalo značajno veće iskorištenje ekstrakcije. McDowell i sur. (2017) smatraju da su razlog varijacija rezultata, uspoređujući s istraživanjem Turky i Gürbüz (2013) na ulju repice, parametri procesa ultrazvuka, pritom ističući važnost njihove optimizacije. Kao potencijalno obrazloženje dobivenih rezultata ističu medij u kojem se ultrazvuk primjenjivao, sugerirajući kako isti ima ključnu ulogu za učinkovitost ove metode. U ovom slučaju, uporaba vode kao medija je vjerojatno smanjila učinkovitost ultrazvuka, dok su u svom istraživanju Turky i Gürbüz (2013) kao medij koristili etanol koji ima povoljnija svojstva za ekstrakciju potpomognutu ultrazvukom (McDowell i sur., 2017).

Osim iskorištenja, ultrazvuk visokih snaga također može utjecati na kvalitetu ekstrahiranog ulja. Utvrđeno je da ultrazvučni predtretman može utjecati na fizikalno-kemijska svojstva ulja, kao što su, na primjer, sadržaj bioaktivnih spojeva, oksidativna stabilnost i sastav masnih kiselina. Kayanan i Sagum (2021) navode kako je ultrazvučni predtretman povećao udio fitosterola u ulju sjemenki moringe te rezultirao povećanjem oksidativne stabilnosti ekstrahiranog ulja. S druge strane, Kaseke i sur. (2021) navode kako, ukoliko se ne koristi pravilno, ultrazvuk može imati i negativne učinke na kvalitetu ulja. Prekomjerna snaga ultrazvuka ili preduga izloženost mogu dovesti do razgradnje osjetljivih spojeva, što može smanjiti nutritivnu vrijednost ulja. Na primjer, preduga izloženost može uzrokovati stvaranje slobodnih radikala, što posljedično može dovesti do oksidacije masnih kiselina i stvaranja nepoželjnih spojeva.



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

##### 3.1.1. Sirovina

U ovom istraživanju je korištena komina grožđa sorte Graševina, dobivena prešanjem grožđa tijekom berbe 2023, regija Bregovita Hrvatska. Komina je odmah nakon prešanja izuzeta i dopremljena u laboratorij nakon čega je provedeno ručno odvajanje sjemenki od pokožice i pulpe, a koje su do provedbe eksperimenta skladištene u zamrzivaču pri -18 °C.

##### 3.1.2. Kemikalije

U istraživanju su korištene sljedeće kemikalije:

- suhi led,  $\geq 99.9\%$  (3.0); UTP d.o.o., Pula, Hrvatska
- izooktan, HPLC grade; Fisher Scientific UK, Loughborough, Ujedinjeno Kraljevstvo
- metanol, HPLC grade; J. T. Baker, Deventer, Nizozemska
- kalijev hidroksid, p. a.; Kemika, Zagreb, Hrvatska
- natrijev hidrogensulfat monohidrat, p. a.; Kemika, Zagreb, Hrvatska

##### 3.1.3. Laboratorijski pribor i oprema

Za provedbu istraživanja korišten je sljedeći pribor i oprema:

- automatska pipeta 10-100  $\mu\text{L}$ ; Eppendorf, Hauppauge, NY, SAD
- automatska pipeta 1-5 mL; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka
- ultrazvučna kupelj, Elmasonic P 300 H; Elma-Hans Schmidbauer GmbH & Co., Singen, Njemačka
- sušionik; HeraTherm, Langenselbold, Njemačka
- pužna preša, PR-F-100; Oilpressparts GmbH & Co. KG, Niederkrüchten, Njemačka
- analitička vaga; Kern & Sohn GmbH, Balingen, Njemačka
- vortex; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka
- plinski kromatograf, 6890N Network GC System; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Ultrazvuk visokih snaga kao predtretman hladnom prešanju

S ciljem osiguravanja najboljih uvjeta tretmana ultrazvukom visokih snaga, sjemenke (1200 g) su prije samog tretmana potopljene u duplo veću količinu destilirane vode (omjer 1:2) kroz period od 3 h, nakon čega su ocijeđene te tretirane suhim ledom u omjeru 2:1.

Predtretman ultrazvukom visokih snaga proveden je primjenom ultrazvučne kupelji Elmasoni P 300 H sa sljedećim karakteristikama: frekvencija 37/80 kHz, volumen spremnika 28 L te ultrazvučna snaga 380 W. U osam laboratorijskih čaša odvagano je po 50 g sjemenki grožđa, pripremljenih prema gore navedenom opisu, te je potom pomiješano sa 300 mL destilirane vode. Čaše sa uzorcima su potom uronjene u ultrazvučnu kupelj (slika 1) te je proveden postupak tretiranja pri različitim uvjetima frekvencije (37 i 80 kHz) i trajanja samog tretmana (30 i 90 min) (tablica 4), uz amplitudu 100 % te kontrolu temperature ( $\leq 40$  °C).

**Tablica 4.** Odabrani procesni parametri predtretmana ultrazvukom visokih snaga

TRETMAN	FREKVENCIJA (kHz)	TRAJANJE (min)
1	37	30
2	37	90
3	80	30
4	80	90

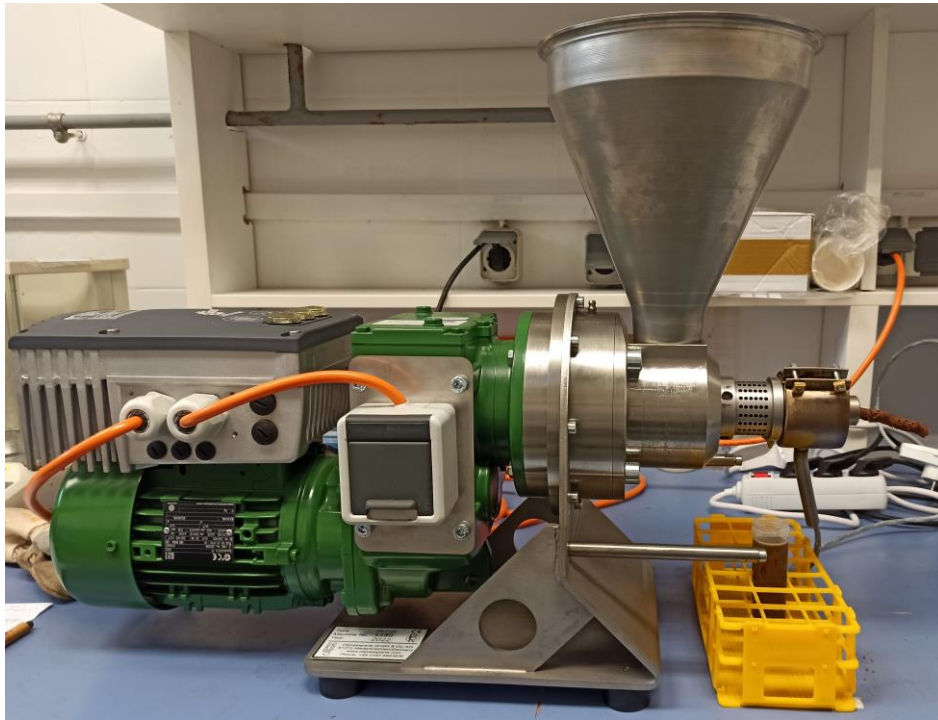


**Slika 1.** Ultrazvučna kupelj s uronjenim laboratorijskim čašama s uzorkom sjemenki grožđa (vlastita fotografija)

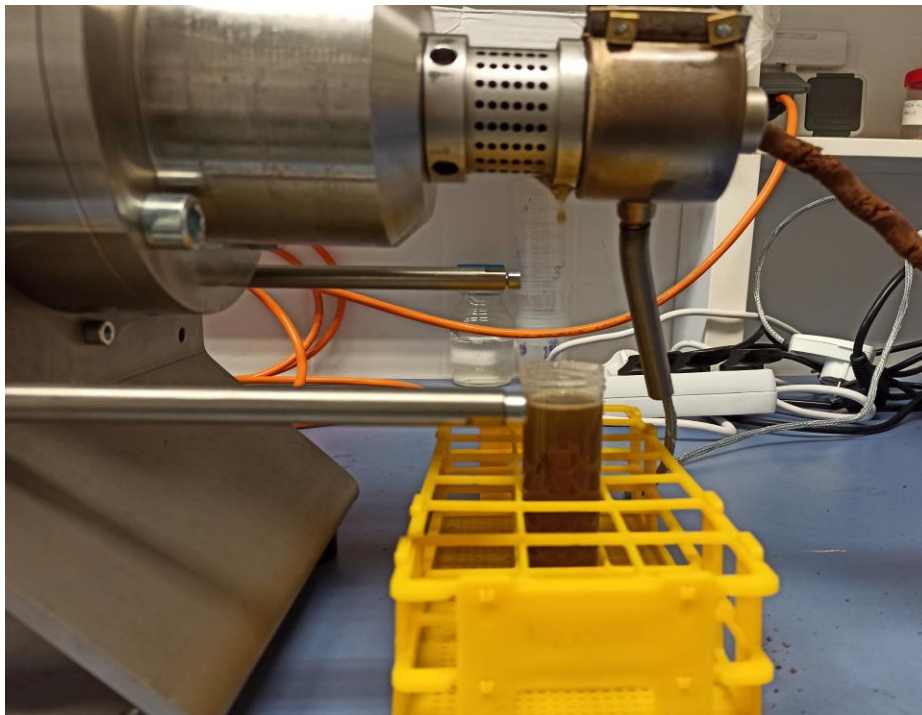
### 3.2.2. Ekstrakcija ulja sjemenki grožđa primjenom hladnog prešanja

Nakon predtretmana ultrazvukom visokih snaga sjemenke su ocijeđene te stavljene u laboratorijski sušionik na sušenje pri 35 °C kroz 36 h, s ciljem postizanja optimalne vlažnosti za hladno prešanje u iznosu od 8 % (Ćurko i sur., 2023).

Postupak ekstrakcije ulja proveden je hladnim prešanjem djelomično prosušenih sjemenki pomoću laboratorijske pužne preše Oilpressparts GmbH & Co. KG, bez prethodnog kondicioniranja ili zagrijavanja (slika 2). Nakon prešanja (slika 3) je provedeno centrifugiranje ulja (5000 rpm, 10 min) s ciljem uklanjanja nečistoća. Dobiveno pročišćeno ulje je do laboratorijskih analiza čuvano u tamnoj, hermetički zatvorenoj boci pri -18 °C.



**Slika 2.** Laboratorijska pužna preša Oilpressparts GmbH & Co. KG, model PR-F-100  
(vlastita fotografija)



**Slika 3.** Ekstrakcija ulja iz sjemenki grožđa (vlastita fotografija)

### 3.2.3. Određivanje iskorištenja procesa ekstrakcije ulja

Iskorištenje, odnosno učinkovitost ekstrakcije ulja, određivano je usporedbom mase ekstrahiranog ulja hladnim prešanjem s masom ulja dobivenom metodom po Soxhletu (referentna metoda) (Ćurko i sur., 2024). Ukupan udio ulja u sjemenkama grožđa određen metodom po Soxhletu bio je  $13,9 \pm 0,03$  %. Iskorištenje ekstrakcije hladnim prešanjem se računalo prema priloženoj jednadžbi (Ćurko i sur., 2024):

$$\text{iskorištenje (\%)} = \frac{\text{masa ulja ekstrahiranog hladnim prešanjem}}{\text{masa ulja koje je moguće ekstrahirati}} * 100$$

Također se ispitivao i utjecaj procesnih parametara (tablica 4) predtretmana ultrazvukom, frekvencije i trajanja, na iskorištenje hladnim prešanjem. Uz uzorke podvrgnute predtretmanu, procesu hladnog prešanja podvrgnuta su i dva kontrolna uzorka. Pomoću kontrolnih uzoraka se moglo vidjeti utječe li predtretman ultrazvukom, i u kojoj mjeri, na iskorištenje, kao i koji njegovi parametri na to utječu.

### 3.2.4. Određivanje sastava masnih kiselina

Određivanje sastava masnih kiselina u uzorcima ulja sjemenki grožđa provedeno je plinskom kromatografijom s plameno-ionizacijskim detektorom (GC-FID). Za primjenu plinske kromatografije prethodno je potrebno prevesti masne kiseline u njihove metilne estere, a oni su pripremljeni metodom po Bannonu, ISO 5509:2000.

#### Priprema metilnih estera masnih kiselina:

U epruvetu odvagati 60 mg uzorka ulja sjemenki grožđa i otopiti u 4 mL izooktana, a zatim dodati 200  $\mu$ L metanolne otopine kalijeva hidroksida ( $c = 2$  mol/L). Reakcijsku smjesu snažno protresti pomoću vortexa, u trajanju oko 30 s, te ostaviti reakciju na sobnoj temperaturi. Nakon što se reakcijska smjesa izbistri i glicerolni sloj odvoji na dnu epruvete, dodati 1 g natrijeva hidrogensulfata monohidrata u svrhu neutralizacije smjese. Bistru otopinu iznad soli prebaciti u vialu. Tako pripremljene metilne estere injektirati u GC-FID sustav.

#### Kromatografski uvjeti analize:

Kromatografske analize provedene su primjenom plinskog kromatografa Agilent 6890 Network GC System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD) uz detekciju masenim

spektrometrom Agilent 5793 Inert Mass Selective Detector (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD). U tablici 5 prikazani su kromatografski uvjeti analize.

**Tablica 5.** Kromatografski uvjeti analize

Kolona	DB-23 (Agilent Technologies), 60 m x 0,25 mm, 0,25 $\mu$ m		
Mobilna faza	Helij 5,0		
Protok ( mL min <sup>-1</sup> )	1,5		
Način injektiranja	Split 1:50		
Volumen injektiranog uzorka ( $\mu$ L)	1		
Temperatura injektora ( $^{\circ}$ C)	250		
Temperatura detektora ( $^{\circ}$ C)	280		
Elektronska ionizacija (eV)	70		
	Dinamika	Temperatura	Zadržavanje
	( $^{\circ}$ C/min)	( $^{\circ}$ C)	(min)
Temperaturni program		60	0
	7	220	17

#### Identifikacija i kvantifikacija masnih kiselina:

Metilni esteri masnih kiselina identificirani su uspoređujući njihovo vrijeme zadržavanja s vremenom zadržavanja metilnog estera standardne smjese masnih kiselina (F.A.M.E. C4 – C24, Supelco). Udio svake masne kiseline izražen je kao postotak ukupnih masnih kiselina, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost dva paralelna određivanja. Identifikacija i kvantifikacija metilnih estera provedena je primjenom programa Enhanced ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD).

#### 3.2.5. Obrada podataka

Statistička obrada dobivenih podataka provedena je analizom varijance (engl. Analysis Of Variance, ANOVA) korištenjem programskog sustava Statistica v.10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, SAD). Analiza varijance (ANOVA) provedena je na svim neovisnim varijablama masnih kiselina. Tukey HSD test korišten je kao usporedni test kada su uzorci bili značajno različiti nakon ANOVA ( $p < 0,05$ ).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj procesnih parametara ultrazvuka visokog intenziteta kao predtretmana hladnom prešanju na iskorištenje procesa hladnog prešanja te sastav masnih kiselina u ulju sjemenke grožđa. Pritom je ispitan utjecaj frekvencije (37 i 80 kHz) te vremena trajanja tretmana (30 i 90 min).

U tablici 6 je prikazano iskorištenje ekstrakcije ulja hladnim prešanjem iz sjemenki grožđa, ovisno o predtretmanu UZV, dok su udjeli pojedinih masnih kiselina u ispitivanim uzorcima ulja prikazani na slikama 4-11. Tablica 7 prikazuje sumarne vrijednosti pojedinih skupina masnih kiselina (zasićene, mononezasićene i polinezasićene), ovisno o predtretmanu UZV.

### 4.1. ISKORIŠTENJE EKSTRAKCIJE ULJA

Ekstrakcija ulja potpomognuta tretmanom ultrazvuka visokog intenziteta sve više privlači pozornost kao zamjena trenutnim konvencionalnim metodama ekstrakcije, zbog svojih mnogobrojnih prednosti (Thilakarathna i sur., 2023). Pošto su glavni ciljevi predtretmana sjemenki povećati iskorištenje procesa ekstrakcije ulja i korisnih hranjivih tvari, bez ugrožavanja drugih parametara, posebice organoleptičkih svojstava, ova metoda je predmet sve većeg broja istraživanja (McDowell i sur., 2017). Efekt kavitacije koji stvara ultrazvučno zračenje olakšava oslobađanje ulja iz staničnog matriksa, što povećava prinos ulja dok u isto vrijeme čuva njegovu kvalitetu, zbog blagih uvjeta obrade. Tome doprinosi i zamjena štetnih organskih otapala, koja se koriste u drugim metodama ekstrakcije, s ekološki prihvatljivim otapalima korištenim u ovoj metodi (Thilakarathna i sur., 2023). Tablica 6 prikazuje učinkovitost ekstrakcije ulja iz sjemenki grožđa s i bez predtretmana UZV.

**Tablica 6.** Iskorištenje ekstrakcije ulja iz sjemenki grožđa sorte Graševina (hladno prešanje i predtretman UZV)

UZORAK	Hz	min	ISKORIŠTENJE (%)
HP	-	-	65,2 ± 1,1
UZV37/30	37	30	69,2 ± 1,0
UZV37/90	37	90	73,5 ± 0,6
UZV80/30	80	30	67,4 ± 0,8
UZV80/90	80	90	72,8 ± 0,1

NAPOMENA: udio ulja određen po Soxhletu - 13,9±0,03 %

Vidljivo je kako predtretman UZV znatno utječe na količinu ekstrahiranog ulja te da je najmanje iskorištenje ekstrakcije ( $65,2 \pm 1,1$  %) upravo kod uzorka sjemenki koje nisu, prethodno hladnom prešanju, bile podvrgnute tretmanu UZV. Nadalje, vidljiv je i utjecaj primijenjenih procesnih parametara na učinkovitost ekstrakcije te je ona bila najučinkovitija ( $73,5 \pm 0,6$  %) kod uzorka sjemenki koje su bile podvrgnute predtretmanu na frekvenciji od 37 kHz, u trajanju od 90 min. Općenito, primjenjivanje niže frekvencije i duže trajanje tretmana UZV dokazalo se pogodnijim za veće iskorištenje ekstrakcije. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Moghimi i sur. (2018) koji su također utvrdili da se učinkovitost ekstrakcije ulja crnog kima povećava proporcionalno duljini trajanja tretmana. U svom istraživanju navode kako je maksimalna učinkovitost ekstrakcije postignuta kada je vrijeme tretmana bilo na maksimalnoj vrijednosti. Nadalje, predtretman UZV je također pokazao povećanje iskorištenja hladno prešanog ulja repice u istraživanju Turkay i Gürbüz (2013), koji su utvrdili povećanje iskorištenja s 44 %, u kontrolnim uzorcima, na 73 % u uzorcima podvrgnutim predtretmanu. Također su istraživanja Sharma i Gupta (2006) na uljima sjemenki marelice i badema, i Da Porto i sur. (2015) na ulju sjemenki konoplje utvrdila da predtretman UZV povećava iskorištenje ulja tijekom daljnjih ekstrakcija, ali i da to iskorištenje ovisi o primijenjenim parametrima koje je potrebno optimirati.

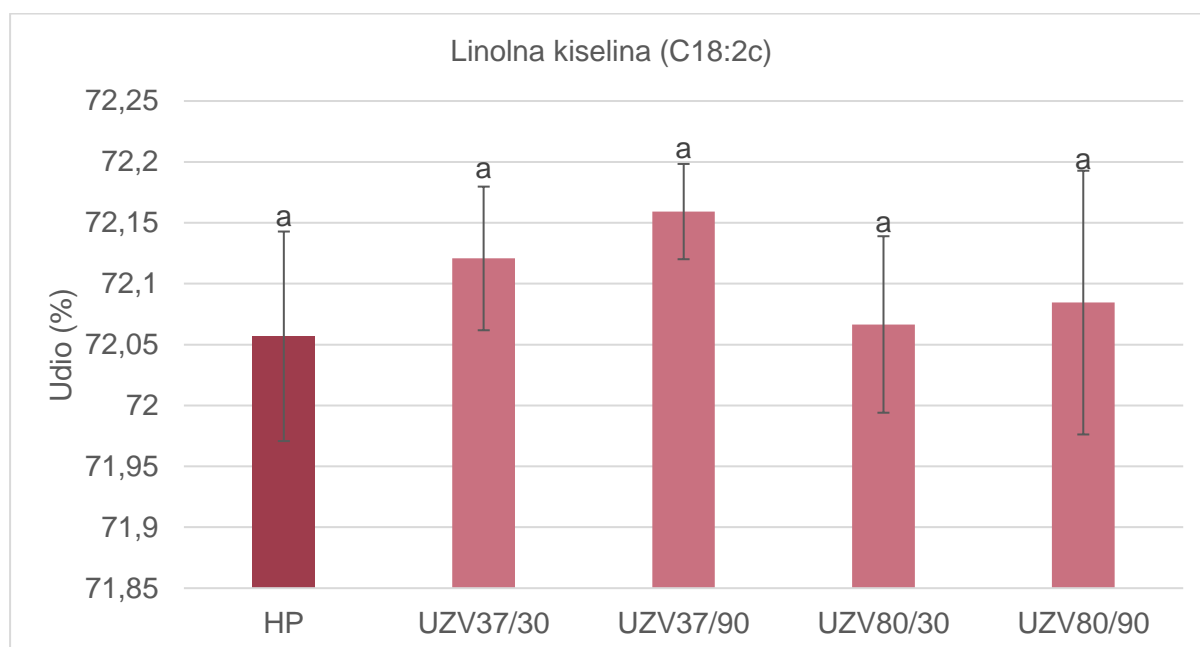
#### **4.2. UTJECAJ PREDTRETMANA ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA SASTAV MASNIH KISELINA**

Masne kiseline identificirane u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina su linolna, oleinska, palmitinska, stearinska, linolenska, palmitoleinska, arahidska i miristinska. Na slikama 4-11 prikazani su udjeli navedenih masnih kiselina u ispitivanim uzorcima ulja. Pritom su prikazani uzorci dobiveni različitim predtretmanima ultrazvukom visokih snaga u usporedbi s kontrolnim uzorkom, hladno prešanim uljem, koje nije podvrgnuto procesu predtretmana UZV.

Na slici 4 je prikazan udio (%) linolne kiseline u hladno prešanom ulju sjemenki grožđa sorte Graševina, s i bez predtretmana UZV. Linolna kiselina je kvantitativno najznačajnija masna kiselina u ulju sjemenki grožđa, a njezin udio u ulju ovisi o sorti grožđa iz koje se ulje ekstrahira, i u rasponu je 58-78 % (Malićanin, 2014). To je potvrđeno i u slučaju ulja sjemenki sorte Graševina, gdje je linolna kiselina utvrđena u rasponu 72,06-72,16 %. Vidljiv je i utjecaj primijenjenih procesnih parametara UZV (slika 4) na udio ove kiseline. U slučajevima kada su sjemenke podvrgnute predtretmanu UZV udio kiseline je veći u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Nadalje, najvećim udjelom linolne kiseline (72,16 %) rezultirao je postupak predtretmana UZV pri frekvenciji od 37 kHz i trajanju od 90 min, dok je najmanjim udjelom



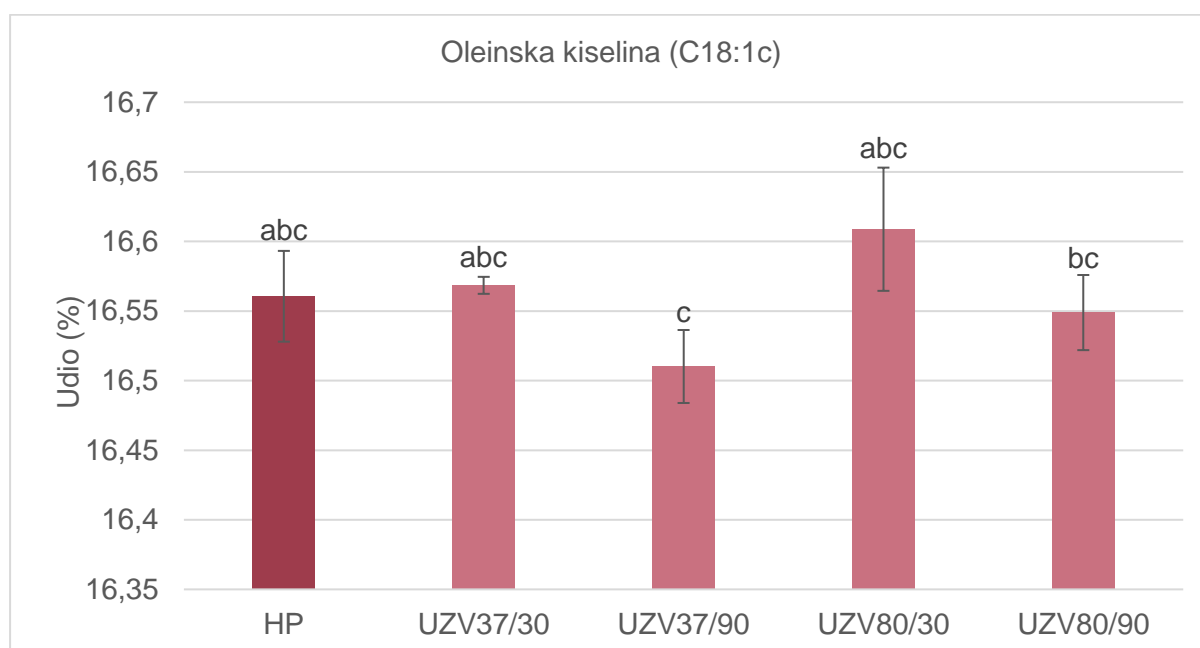
linolne kiseline (72,06 %) rezultirao postupak predtretmana UZV pri frekvenciji od 80 kHz i trajanju od 30 min. Postupak s takvim režimom predtretmana ima tek neznatno veći udio linolne kiseline od kontrolnog uzorka. Iz prikazanih rezultata se može vidjeti da udio linolne kiseline opada povećanjem frekvencije UZV, a raste produljenjem trajanja tretmana. Rezultati istraživanja koje su proveli Kayanan i Sagum (2021) pokazuju tek blago povećanje udjela linolne kiseline u ulju sjemenki moringe nakon tretmana UZV, u usporedbi s kontrolnim uzorkom. S druge strane, Phan i sur. (2018) u svom istraživanju utjecaja predtretmana UZV i predtretmana kuhanjem na ekstrakciju i kvalitetu hladno prešanog ulja rižinih mekinja su utvrdili suprotan trend obzirom na udio linolne kiseline s i bez predtretmana UZV. Naime, utvrdili su kako najveći udio linolne kiseline ima ulje proizvedeno hladnim prešanjem bez predtretmana, dok udio opada povećanjem intenziteta i trajanja UZV tretmana. Ističu kako je opadanje udjela kiseline povećanjem intenziteta i trajanja UZV karakteristično za sve nezasićene masne kiseline. Moguć razlog tomu je, kako navode Kaseke i sur. (2021), oksidacija i izomerizacija polinezasićenih masnih kiselina poput linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline u konjugirane diene tijekom izlaganja sjemenki ultrazvuku visokog intenziteta.



**Slika 4.** Udio linolne kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

Druga najzastupljenija masna kiselina u ulju sjemenki grožđa je oleinska kiselina, s udjelom u rasponu 12,81-26,17 %, ovisno o sorti grožđa iz kojeg je ulje proizvedeno (Al Juhaimi i Özcan,

2017). Na slici 5 se može vidjeti kako je, u analiziranom ulju sjemenki grožđa sorte Graševina, taj raspon 16,51-16,61 %, što je u skladu s literaturnim podacima. Utjecaj predtretmana UZV, kao i primijenjenih procesnih parametara, na udio oleinske kiseline u ulju je također vidljiv. Najvećim udjelom oleinske kiseline (16,61 %) rezultirao je UZV predtretman pri frekvenciji od 80 kHz i trajanju od 30 min. Uzorak koji je rezultirao najmanjim udjelom oleinske kiseline (16,51 %) također je tretiran UZV, pri frekvenciji 37 kHz i trajanju 90 min. Iz slike je vidljivo kako je udio oleinske kiseline proporcionalan povećanju frekvencije UZV i obrnuto proporcionalan duljini trajanja tretmana. Kayanan i Sagum (2021) također ističu povećanje udjela oleinske kiseline u ulju sjemenki moringe nakon predtretmana UZV (40 kHz/ 90 min). U istraživanju Phan i sur. (2018) na ulju rižinih mekinja također je utvrđen trend smanjenja udjela oleinske kiseline produljenjem trajanja predtretmana UZV. Isti autori su zaključili da veća primijenjena frekvencija rezultira manjim udjelom oleinske kiseline, što je suprotno rezultatima dobivenim u ovom istraživanju.

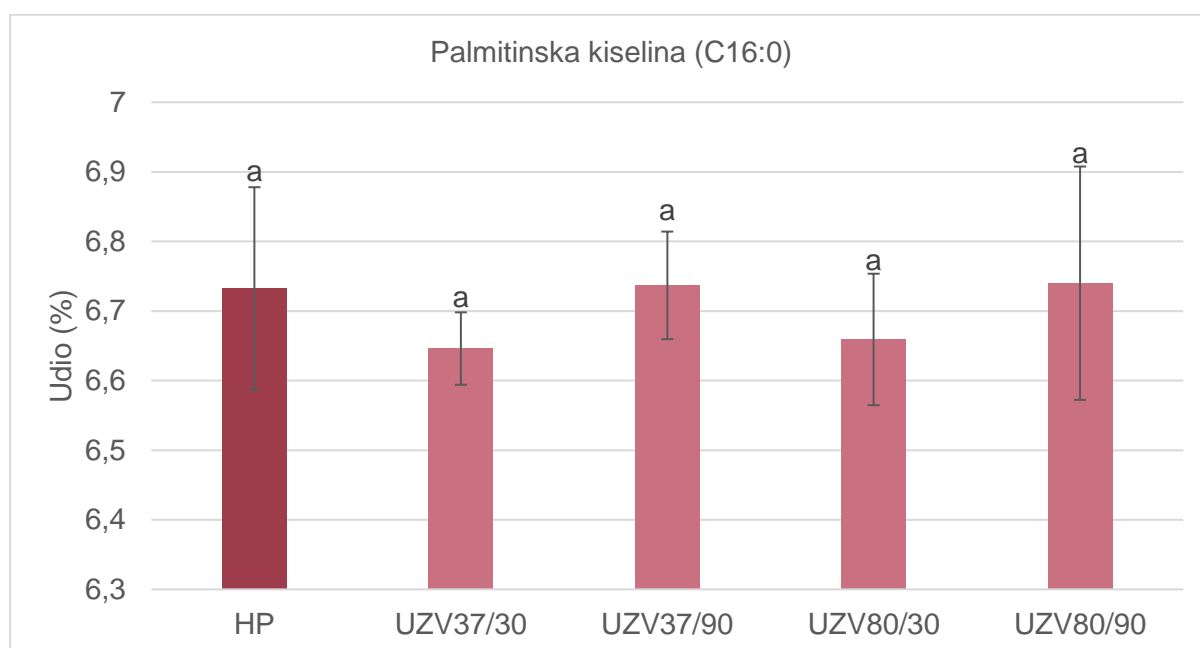


**Slika 5.** Udio oleinske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

Međutim, ti rezultati (Phan i sur., 2018) su u skladu sa Stanisavljević i sur. (2009), koji u svom istraživanju na ulju sjemenki duhana navode kako UZV ima snažan utjecaj na nezasićene masne kiseline, a to pripisuju ultrazvukom izazvanoj kavitaciji koja mijenja strukturne i funkcionalne komponente nezasićenih masnih kiselina. Potencijalno objašnjenje navedenih razlika u trendovima vjerojatno je posljedica značajnih razlika u istraživanim sirovinama (rižine

mekinje, sjemenke duhana).

Udio (%) palmitinske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina prikazan je na slici 6, s vrijednostima u rasponu 6,65-6,74 %. To je treća najzastupljenija masna kiselina u ulju grožđa, s postotkom u rasponu 6,9-12,9 % (Sabir i sur., 2012). Na slici 6 je vidljivo kako je predtretman UZV tek neznatno pozitivno djelovao na udio palmitinske kiseline u ulju, i to samo u slučajevima kada su uzorci bili podvrgnuti duljem tretmanu (90 min). U slučajevima kraćeg tretmana (30 min) UZV je rezultirao padom udjela kiseline, u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Što se tiče drugog varijabilnog procesnog parametra, frekvencije zračenja, iz slike se može vidjeti kako nije imala značajan utjecaj na udio palmitinske kiseline u uzorcima ulja. Uzorak s najvećim udjelom palmitinske kiseline (6,74 %) dobiven je iz sjemenki koje su bile podvrgnute predtretmanu UZV na frekvenciji od 80 kHz, u trajanju od 90 min, dok su sjemenke uzorka s najmanjim udjelom (6,65 %) bile podvrgnute 30 min frekvenciji od 37 kHz.

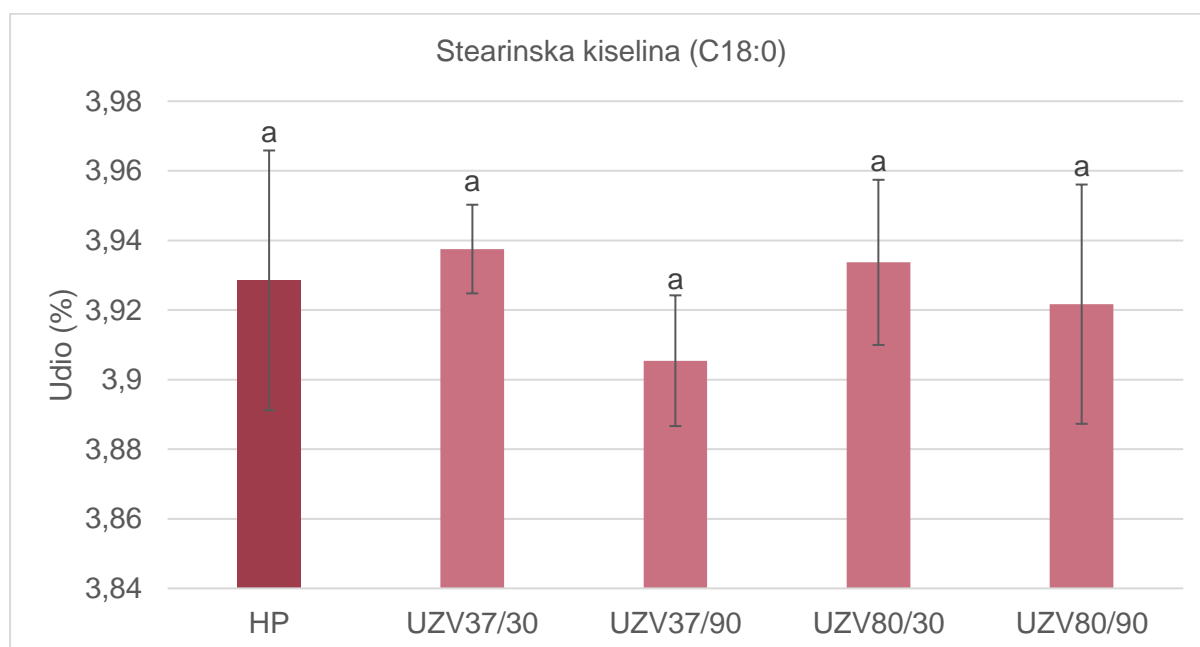


**Slika 6.** Udio palmitinske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Kayanan i Sagum (2021) na ulju sjemenki moringe, u kojem su one podvrgnute predtretmanu UZV (40 kHz, 60 min). Ulje sjemenki koje su bile podvrgnute predtretmanu UZV imalo je tek neznatno veći udio ( $5,54 \pm 0,01$  %) palmitinske kiseline u usporedbi s uzorkom koji nije podvrgnut ( $5,49 \pm 0,02$  %) predtretmanu. Takvi rezultati su oprečni onima dobivenim u istraživanju Phan i sur. (2018) na ulju

ekstrahiranom iz rižinih mekinja, gdje se udio palmitinske kiseline u uzorcima ulja proporcionalno povećavao sa povećanjem frekvencije te vremena trajanja UZV tretmana. Također, navedeni autori u istom istraživanju tvrde kako UZV utječe više na udio nezasićenih masnih kiselina u ulju nego na udio zasićenih.

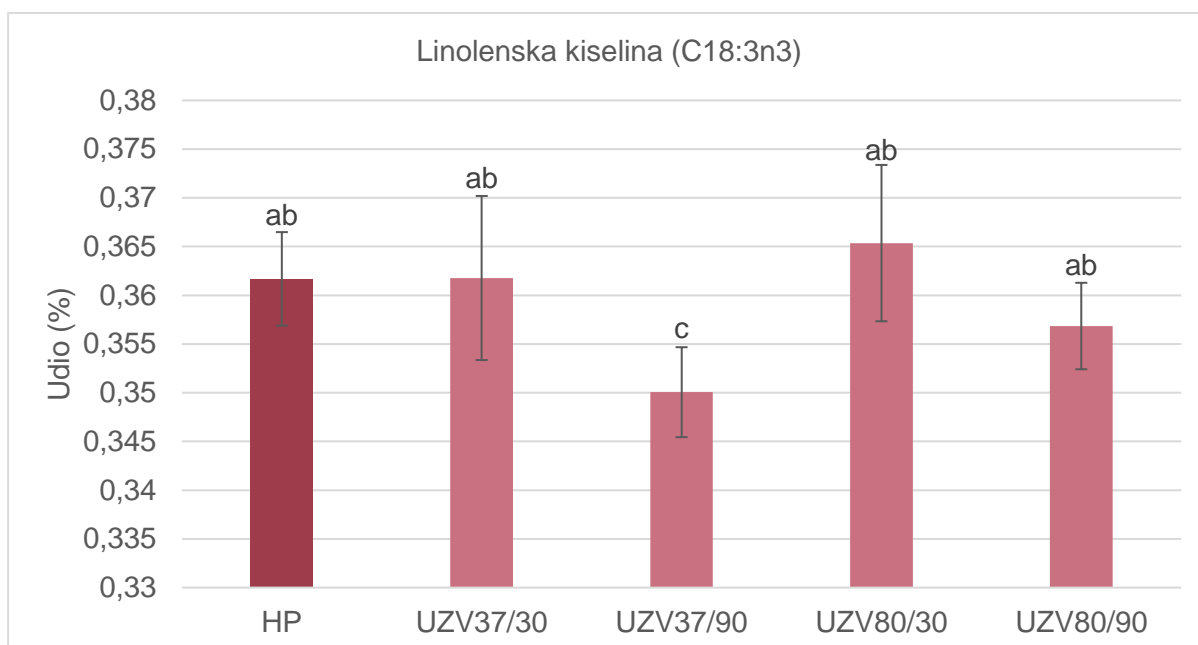
Stearinska kiselina četvrta je masna kiselina po zastupljenosti u ulju sjemenki grožđa, s udjelom u rasponu 1,44-4,69 %, ovisno o sorti grožđa iz kojeg je ulje ekstrahirano (Sabir i sur., 2012). Na slici 7, koja prikazuje udio stearinske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina, vrijednosti udjela su u rasponu 3,91-3,94 %, što odgovara literaturnim podacima. Uzorak koji je rezultirao najvećim udjelom stearinske kiseline bio je onaj čije su sjemenke podvrgnute predtretmanu UZV na frekvenciji od 37 kHz, u trajanju od 30 min. Taj uzorak ima tek neznatno veći udio kiseline od onog ekstrahiranog iz sjemenki tretiranih UZV pri frekvenciji od 80 kHz, u jednakom trajanju. Kao što je iz slike vidljivo, između uzoraka nije utvrđena statistički značajna razlika ( $p > 0,05$ ), ali su ipak primijenjeni različiti procesni parametri rezultirali malim razlikama u udjelu ove kiseline. Tako je vidljivo kako trajanje predtretmana ima utjecaj na udio stearinske kiseline u uzorcima pri čemu dulji predtremen (90 min) rezultira manjim udjelom ove kiseline. Najmanjim udjelom (3,91 %) ove kiseline u ulju rezultirao je predtremen UZV na frekvenciji od 37 kHz, u trajanju od 90 min.



**Slika 7.** Udio stearinske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

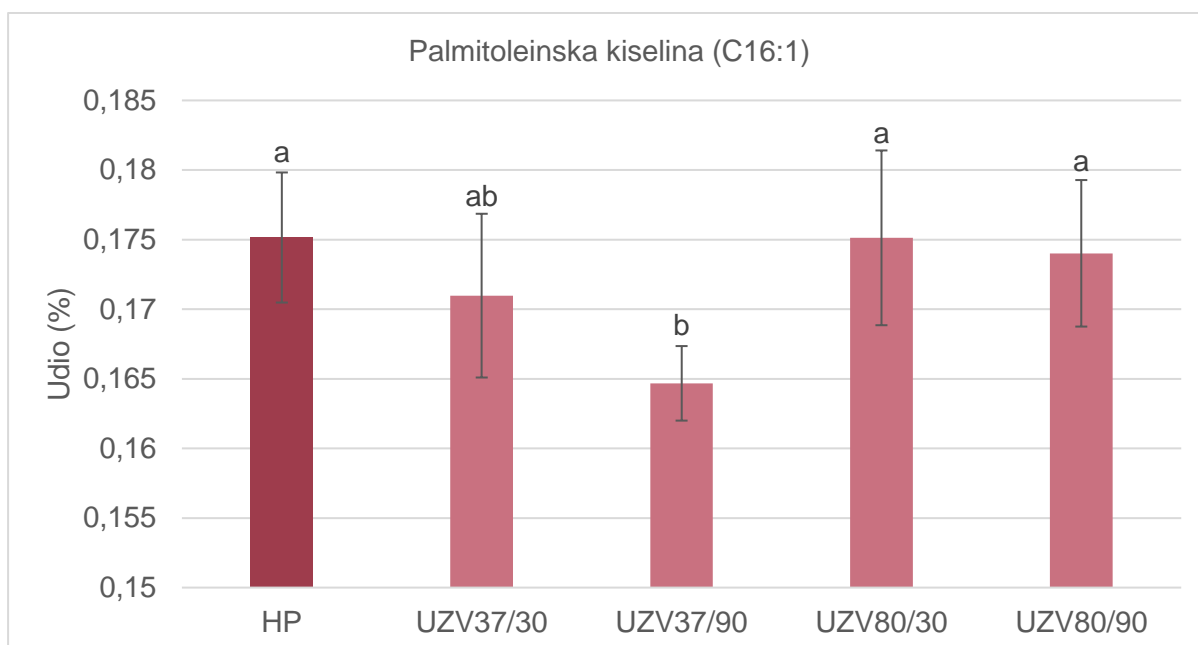
U svom istraživanju na ulju sjemenki duhana, Stanisavljević i sur. (2009) navode kako se udio stearinske kiseline u ulju povećao primjenom predtretmana UZV. To je sukladno rezultatima koje u svom radu navode i Phan i sur. (2018), gdje je udio stearinske kiseline uvijek bio veći u uzorcima koji su bili podvrgnuti predtretmanu UZV, u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Predtretmani UZV su pritom su trajali 10, 25 ili 40 min, a dulje trajanje tretmana je rezultiralo i većim udjelom stearinske kiseline u uzorku ulja, što je također suprotno od dobivenih rezultata u ovom istraživanju.

Al Juhaimi i Özcan (2017) u svom istraživanju navode kako se udio (%) linolenske kiseline u ulju sjemenki grožđa kreće u rasponu 0,09-0,71 %, ovisno o sorti grožđa. Vrijednosti udjela linolenske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina (slika 8) u ovom istraživanju odgovaraju tom podatku te iznose od 0,35-0,37 %. Iz slike je vidljivo da predtretman UZV tek neznatno utječe na udio linolenske kiseline u uzorku ulja, u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Nadalje, vidljivo je da, iako blago, procesni parametri predtretmana UZV također utječu na udio ekstrahirane linolenske kiseline. Najvećim udjelom linolenske kiseline (0,37 %) rezultirao je uzorak podvrgnut predtretmanu UZV na frekvenciji od 80 kHz, u trajanju od 30 min, dok je najmanji udio (0,35 %) određen u uzorku tretiranom UZV pri frekvenciji 37 kHz kroz 90 min. Općenito, oba uzorka koja su prošla duži predtretman UZV rezultirala su manjim udjelom linolenske kiseline u usporedbi s kontrolnim uzorkom. Što se tiče frekvencije, uzorci podvrgnuti višoj frekvenciji rezultirali su većim udjelom ove kiseline, u usporedbi s uzorcima koji su podvrgnuti jednakom trajanju UZV predtretmana, ali pri nižoj frekvenciji. Razlog tome može biti, kako navode Kaseke i sur. (2021), razgradnja spojeva koja se može dogoditi prilikom prekomjerne izloženosti uzoraka ultrazvučnom zračenju. Suprotno dobivenim rezultatima ovog istraživanja, Thilakarathna i sur. (2023) u svom radu navode kako je predtretman UZV rezultirao značajnim porastom udjela linolenske kiseline u ulju dobivenom iz sjemenki suncokreta i sjemenki kivija. U svom istraživanju, na ulju sjemenki duhana, Stanisavljević i sur. (2009) navode kako je udio linolenske kiseline veći u uzorcima podvrgnutim predtretmanu UZV, od uzorka hladno prešanog ulja. Udio ove kiseline je uveliko ovisio o procesnim parametrima predtretmana te su tretmani veće snage rezultirali manjim udjelom linolenske kiseline u uzorku ulja. Udio kiseline je bio obrnutno proporcionalan snazi, što je rezultiralo tek neznatno većem udjelu (0,71 %) linolenske kiseline u uzorku podvrgnutom predtretmanu UZV od 50 W, pri 25 °C, u usporedbi s uzorkom hladno prešanog ulja, čiji je udio ove kiseline bio 0,70 %. U navedenom istraživanju najveći udio (1,12 %) imao je uzorak podvrgnut predtretmanu UZV od 2 W, pri temperaturi vrenja.



**Slika 8.** Udio linolenske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

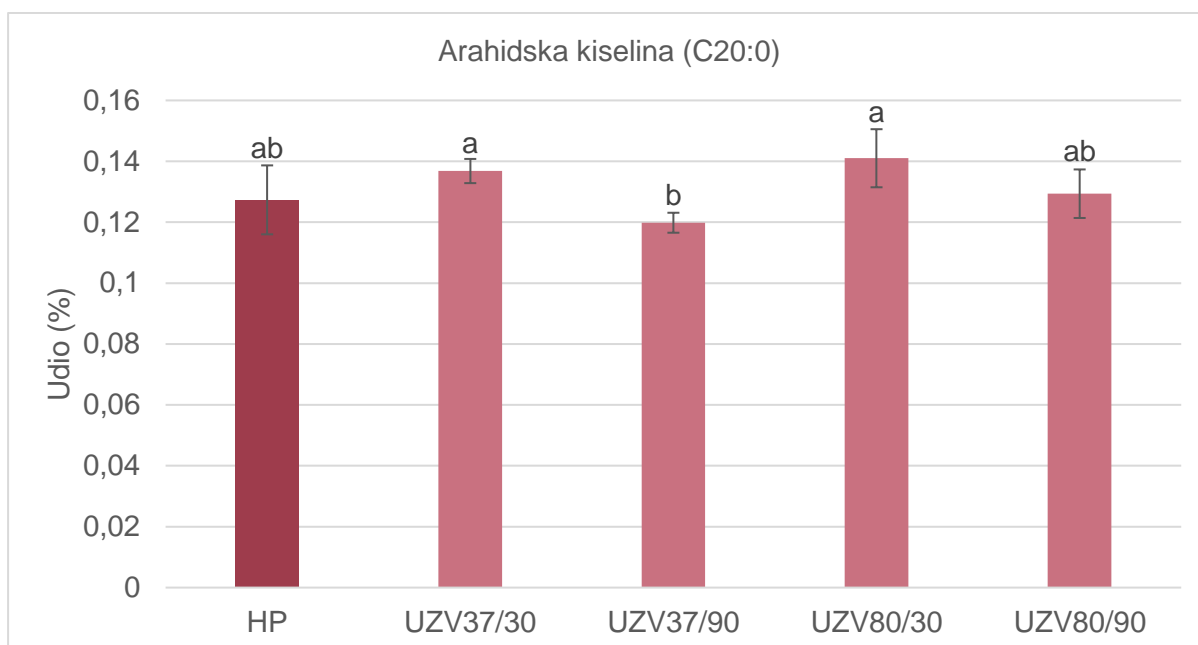
Na slici 9 prikazan je udio (%) palmitoleinske kiseline u hladno prešanom ulju sjemenki grožđa sorte Graševina, koji se kreće u rasponu 0,16-0,18 %. Takav udio palmitoleinske kiseline odgovara literaturnim podacima, Al Juhaimi i Özcan (2017) navode kako je udio ove kiseline u ulju sjemenki grožđa u rasponu 0,13-0,24 %, ovisno o sorti. Na slici je vidljivo kako je uzorak netretiran UZV rezultirao najvećim udjelom (0,18 %) kiseline, ali je i vidljiv utjecaj primijenjenih procesnih parametara. Najmanjim udjelom palmitoleinske kiseline (0,16 %) rezultirao je postupak predtretmana UZV primjenom frekvencije od 37 kHz, u trajanju od 90 min. Općenito, primjena više frekvencije (80 kHz) rezultirala je većim udjelom ove kiseline u uzorcima ulja, a s obzirom na trajanje, kraći predtretman UZV (30 min) se dokazao pogodnijim. Ovakvi rezultati u skladu su s istraživanjem na ulju sjemenki moringe u kojem Kayanan i Sagum (2021) navode niži udio palmitoleinske kiseline u uzorku ulja podvrgnutom predtretmanu UZV (40 kHz, 60 min), od onog u kontrolnom uzorku. Postotak (%) navedene kiseline u ulju moringe koje nije podvrgnuto predtretmanu iznosio je  $1,07 \pm 0,00$ , dok je u ulju podvrgnutom predtretmanu iznosio  $0,98 \pm 0,01$ . Nadalje, ovakav trend negativnog utjecaja predtretmana UZV na udio palmitoleinske kiseline u uzorcima ulja prikazan je i u istraživanju kojeg su Arabani i sur. (2015) proveli na ulju dobivenom iz otpada rajčice.



**Slika 9.** Udio palmitoleinske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

Navedeni autori ističu kako se koncentracija palmitoleinske kiseline značajno smanjila produljenjem trajanja predtretmana, na frekvenciji od 37 kHz. U navedenom istraživanju predtretman u trajanju od 30 min rezultirao je udjelom palmitoleinske kiseline od  $0,49 \pm 0,016$  %, a onaj u trajanju od 60 min udjelom od  $0,46 \pm 0,017$  %, dok je predtretman UZV u trajanju od 90 min rezultirao udjelom od  $0,10 \pm 0,000$  %. Navode kako ovakav ishod može biti uzrokovan destruktivnim učinkom dugotrajnog djelovanja kavitacije.

Na slici 10 prikazan je udio arahidske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina. Ovisno o sorti grožđa iz koje je ulje ekstrahirano, udio arahidske kiseline se kreće u rasponu 0,1-1,7 % (Crews i sur., 2006). Iz slike se može vidjeti kako je udio arahidske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina utvrđen u rasponu 0,12-0,14 %, što je u skladu s podacima iz literature. Nadalje, iz slike je vidljivo kako sam predtretman UZV, kao i primijenjeni parametri procesa, imaju tek neznatan utjecaj na udio ove kiseline u uzorcima ulja. Najvećim udjelom arahidske kiseline (0,14 %) rezultirao je postupak predtretmana UZV frekvencije 80 kHz i trajanja 30 min, dok je najmanjim udjelom arahidske kiseline (0,12 %) rezultirao postupak predtretmana primjenom frekvencije 37 kHz kroz 90 min. Može se uočiti kako viša frekvencija i kraće trajanje predtretmana UZV pogoduju udjelu navedene kiseline.

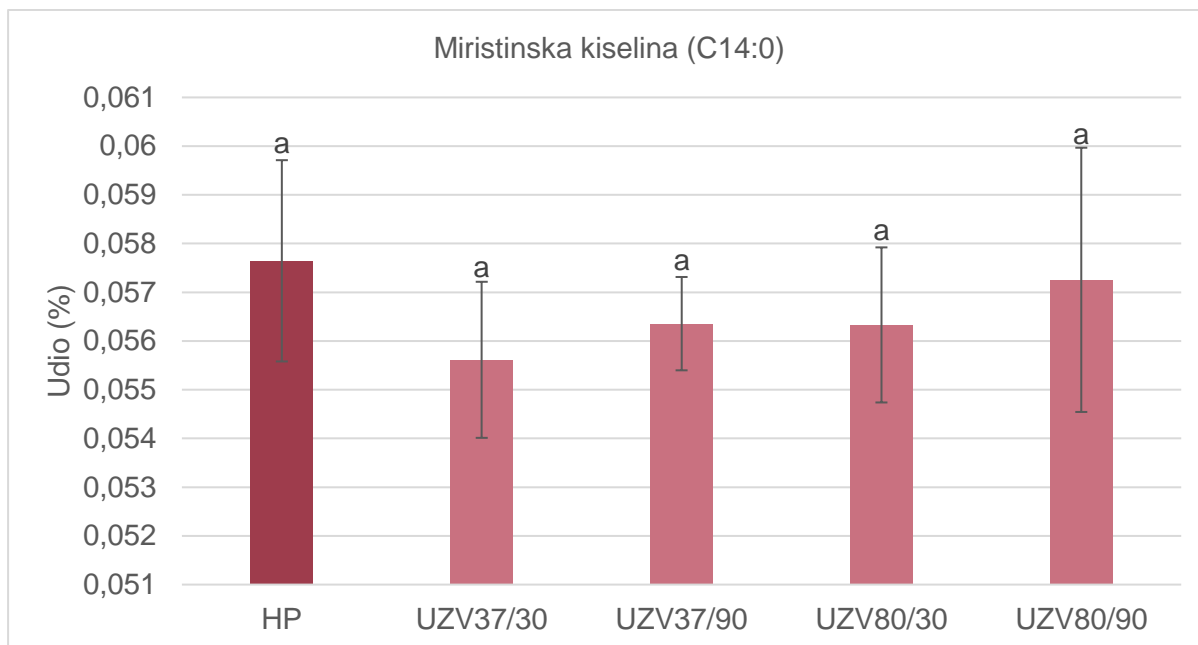


**Slika 10.** Udio arahidske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

U istraživanju na ulju sjemenki moringe predtretman UZV, primjenom frekvencije od 40 kHz 60 min, rezultirao je smanjenjem udjela arahidske kiseline ( $2,67 \pm 0,01$  %), s obzirom na kontrolni uzorak ulja ( $2,72 \pm 0,03$  %) (Kayanan i Sagum, 2021). Suprotan trend su utvrdili Arabani i sur. (2015) u svom istraživanju, gdje se primjenom predtremana UZV povećao udio arahidske kiseline u ulju dobivenom iz otpada rajčice, te se nije znatno mijenjao promjenom duljine trajanja predtremana UZV.

Miristinska kiselina zastupljena je u ulju sjemenki grožđa s udjelom u rasponu 0,04-0,08 %, ovisno o sorti (Al Juhaimi i Özcan, 2017). Na slici 11, koja prikazuje udio miristinske kiseline u ulju sjemenki grožđa sorte Graševina, vrijednosti udjela su u rasponu 0,056-0,058 %, što odgovara literaturnim podacima. S obzirom na predtretman UZV, na slici je vidljivo kako je uzorak netretiran UZV rezultirao najvećim udjelom (0,058 %) ove kiseline, dok je najmanjim (0,056 %) rezultirao postupak predtremana primjenom frekvencije od 37 kHz, u trajanju od 30 min. Nadalje, vidljivo je kako su i različiti procesni parametri rezultirali blagim razlikama u udjelu miristinske kiseline u uzorcima. Općenito, primjena više frekvencije (80 kHz) i dulje trajanje (90 min) predtremana, uzorak s udjelom od 0,057 %, pokazalo se pogodnijim od primjene niže frekvencije (37 kHz) i kraćeg trajanja (30 min).





**Slika 11.** Udio miristinske kiseline (%) u hladno prešanim uljima sjemenki grožđa, s i bez predtretmana ultrazvukom visokog intenziteta. ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

Povećanje frekvencije i trajanja rezultiralo je i povećanjem udjela miristinske kiseline, što je u skladu s istraživanjem Phan i sur. (2018), koji su također utvrdili povećanje udjela ove kiseline, u ulju mekinja riže, povećanjem ova dva parametra. Ipak, oprečno dobivenim rezultatima u ovom istraživanju, Phan i sur. (2018) navode kako je svaki uzorak podvrgnut predtretmanu UZV rezultira većim udjelom miristinske kiseline od kontrolnog. Trend povećanja udjela miristinske kiseline proporcionalno produljenju trajanja tretmana UZV navode i Arabani i sur. (2015) u svom istraživanju na ulju otpada rajčice. Također, oni u svom istraživanju navode kako je kontrolni uzorak rezultirao većim udjelom ove kiseline od uzoraka čiji su tretmani UZV trajali 30 i 60 min, a manjim udjelom od uzorka podvrgnutog tretmanu UZV u trajanju od 90 min. Takvi rezultati, s obzirom na trajanje tretmana UZV, ne odgovaraju rezultatima dobivenim u ovom istraživanju, kao ni istraživanju Phan i sur. (2018).

Ulje sjemenki grožđa sadrži veći udio višestruko nezasićenih masnih kiselina u odnosu na mononezasićene i zasićene masne kiseline. Tablica 7 prikazuje sumarne vrijednosti pojedinih skupina masnih kiselina: zasićene, mononezasićene i polinezasićene kiseline u uljima ekstrahiranim hladnim prešanjem sjemenki grožđa, s i bez (kontrolni uzorak) predtretmana UZV. Suma zasićenih masnih kiselina (sumSFA) je, u pravilu, određena u većem udjelu u kontrolnom uzorku koji nije podvrgnut predtretmanu UZV (10,846 %). Jedina iznimka je predtretman UZV s frekvencijom od 80 kHz, u trajanju od 90 min, koji je rezultirao udjelom

sumSFA od 10,848 %. Najmanji udio ovih kiselina (10,776 %) imao je uzorak podvrgnut predtretmanu UZV s frekvencijom od 37 kHz, u trajanju od 30 min. Također, vidljiv je i utjecaj primijenjenih procesnih parametara na udio sumSFA, s trendom povećanja udjela proporcionalno povećanju frekvencije i duljine trajanja tretmana. Iz tablice je vidljivo da, od ta dva parametra, primijenjena frekvencija više utječe na udio sumSFA.

Skupina mononezasićenih masnih kiselina (sumMUFA) se u najvećem udjelu nalazi u uzorku u čijem je predtretmanu UZV primijenjena frekvencija od 80 kHz, u trajanju od 30 min (16,78 %). Najmanjim udjelom sumMUFA rezultirao je predtretman UZV s frekvencijom od 37 kHz, u trajanju od 90 min (16,67 %). Iz ovih rezultata je vidljivo kako povećanje frekvencije utječe pozitivno, a produljenje trajanja tretmana negativno na sumMUFA.

Skupina polinezasićenih masnih kiselina (sumPUFA) se u većem udjelu nalazi u uzorcima koji su podvrgnuti predtretmanu UZV, s tim da je najvećim udjelom (72,51 %) rezultirao tretman pri frekvenciji od 37 kHz kroz 90 min. Najmanji udio sumPUFA (72,42 %) ima kontrolni uzorak. Iz podataka u tablici vidljiv je utjecaj procesnih parametara na udio sumPUFA, odnosno da niža frekvencija i duže trajanje tretmana pogoduju većem udjelu ovih kiselina u uzorku.

Dobiveni rezultati odgovaraju rezultatima istraživanja Kayanan i Sagum (2021) provedenom na ulju sjemenki moringe. Oni u svom istraživanju navode kako je udio sumSFA veći u kontrolnom uzorku nego u uzorku podvrgnutom predtretmanu UZV (40 kHz, 60 min), dok su udjeli sumMUFA i sumPUFA manji u kontrolnom uzorku nego u uzorku podvrgnutom predtretmanu.

**Tablica 7.** Sumarne vrijednosti pojedinih skupina (zasićene, mononezasićene i polinezasićene kiseline) (hladno prešanje i predtretman UZV)

	sumSFA (%)		sumMUFA (%)		sumPUFA (%)	
<b>HP</b>	10,85	a	16,74	ab	72,42	a
<b>UZV37/30</b>	10,76	a	16,74	ab	72,48	a
<b>UZV37/90</b>	10,82	a	16,67	c	72,51	a
<b>UZV80/30</b>	10,79	a	16,78	a	72,43	a
<b>UZV80/90</b>	10,85	a	16,72	bc	72,44	a

sumSFA- suma zasićenih masnih kiselina; sumMUFA- suma mononezasićenih masnih kiselina; sumPUFA- suma polinezasićenih masnih kiselina.

ANOVA za usporedbu rezultata; različita slova unutar stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima svih analiziranih ulja u istom vremenu analize (Tukey's HSD test,  $p < 0,05$ )

## 5. ZAKLJUČCI

Na osnovi provedenog istraživanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Primjena predtretmana UZV značajno povećava iskorištenje ulja tijekom hladnog prešanja sjemenki grožđa. Najveće iskorištenje ekstrakcije postignuto je kod predtretmana pri frekvenciji od 37 kHz u trajanju od 90 minuta, što je rezultiralo povećanjem prinosa ulja sa 65,2 % na 73,5 %.
2. U ulju sjemenki grožđa sorte Graševina identificirane su sljedeće masne kiseline: linolna, oleinska, palmitinska, stearinska, linolenska, palmitoleinska, arahidska i miristinska.
3. Predtretman UZV rezultirao je većim udjelom palmitinske, stearinske, oleinske, linolne, linolenske i arahidske kiseline, dok je ekstrakcija metodom hladnog prešanja bez predtretmana UZV rezultirala većim udjelom miristinske i palmitoleinske kiseline.
4. Ulje sjemenki grožđa podvrgnuto predtretmanu UZV bogatije je polinezasićenim masnim kiselinama (PUFA) i mononezasićenim masnim kiselinama (sumMUFA).
5. Za donošenje općenitih zaključaka potrebno je provesti sveobuhvatno istraživanje koje bi uključivalo veći broj uzoraka i procesnih parametara te analizu svih parametara kvalitete ulja.

## 6. POPIS LITERATURE

Al Juhaimi F, Özcan MM (2017) Effect of cold press and soxhlet extraction systems on fatty acid, tocopherol contents, and phenolic compounds of various grape seed oils. *J Food Process Pres* **2**, e13417. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13417>

Aladić K (2015) Optimizacija procesa ekstrakcije konopljinog (*Cannabis Sativa* L.) ulja superkritičnim CO<sub>2</sub> iz pogače nakon hladnog prešanja (doktorska disertacija), Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek.

Antonić B, Jančíková S, Dordević D, Tremlová B (2020) Grape Pomace Valorization: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Foods* **9**, 1627. <https://doi.org/10.3390/foods9111627>

Arabani AA, Hosseini F, Abbaspour F, Anarjan N (2015) The effects of ultrasound pretreatment processes on oil extraction from tomato wastes. *Int J Biosci* **4**, 8-15. <https://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.4.8-15>

Beres C, Costa GNS, Cabezudo I, da Silva-James NK, Teles ASC, Cruz APG i sur. (2017) Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Manage* **68**, 581–594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>

Bordiga M, Travaglia F, Locatelli M (2019) Valorisation of grape pomace: an approach that is increasingly reaching its maturity - a review. *Int J Food Sci Tech* **54**, 933-942. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14118>

Çakaloğlu B, Özyurt VH, Ötleş S (2018) Cold press in oil extraction. A review. *Ukr Food J* **7**, 640-654. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2018-7-4-9>

Carta G, Murru E, Banni S, Manca C (2017) Palmitic Acid: Physiological Role, Metabolism and Nutritional Implications. *Front Physiol* **8**, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00902>

Chin Chew S (2020) Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil: Chemistry and functionality. *Food Res Int* **131**, 108997. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108997>

Crews C, Hough P, Godward J, Brereton P, Lees M, Guiet S, i sur. (2006) Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. *J Agric Food Chem* **54**, 6261–6265. <https://doi.org/10.1021/jf060338y>

Ćurko N, Lukić K, Jurinjak Tušek A, Balbino S, Vukušić Pavičić T, Tomašević M i sur. (2023) Effect of cold pressing and supercritical CO<sub>2</sub> extraction assisted with pulsed electric fields pretreatment on grape seed oil yield, composition and antioxidant characteristics. *Lwt- Food Sci Technol* **184**, 114974. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114974>

Ćurko N, Perić K, Vukušić Pavičić T, Balbino S, Tomašević M, Iveković, D i sur. (2024) Effect of Pulsed Electric Field Pretreatment on the Concentration of Lipophilic and Hydrophilic Compounds in Cold-Pressed Grape Seed Oil Produced from Wine Waste. *Foods* **13**, 2299. <https://doi.org/10.3390/foods13142299>

Dabetic NM, Todorovic VM, Djuricic ID, Antic Stankovic JA, Basic ZN, Vujovic DS i sur. (2020) Grape Seed Oil Characterization: A Novel Approach for Oil Quality Assessment. *Eur J Lipid Sci Tech* **122**, 1900447. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900447>

Da Porto C, Natolino A, Decorti D (2015) Effect of ultrasound pre-treatment of hemp (*Cannabis sativa L.*) seed on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil. *J Food Sci Tech* **52**, 1748-1753. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1143-3>

Garcia-Lomillo J, Gonzalez-SanJose ML (2017) Applications of Wine Pomace in the Food Industry: Approaches and Functions. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **16**, 3-22. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12238>

Garavaglia J, Markoski MM, Oliveira A, Marcadenti A (2016) Grape Seed Oil Compounds: Biological and Chemical Actions for Health. *Nutr Metab Insights* **9**, 59-64. <https://doi.org/10.4137/nmi.s32910>

ISO 5509:2000 Internacional standard of animal and vegetable oils and fats – Preparation of methyl esters of fatty acids.

Kapcsándi V, Lakatos EH, Sik B, Linka LÁ, Székelyhidi R (2021) Characterization of fatty acid, antioxidant, and polyphenol content of grape seed oil from different *Vitis vinifera L.* varieties. *OCL - Oilseeds Fats Crops Lipids* **28**, 30. <https://doi.org/10.1051/ocl/2021017>

Kaseke T, Opara UL, Fawole OA (2021) Novel seeds pretreatment techniques: Effect on oil quality and antioxidant properties: A review. *J Food Sci Tech* **58**, 4451–4464. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-04981-1>

Kayanan BUR, Sagum RS (2021) Microwave and ultrasound pretreatment of *Moringa oleifera* Lam. Seeds: effects on oil expression, oil quality, and bioactive component. *J Oleo Sci* **70**, 875-884. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20357>

Lovrić T (2003) *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*, Hinus, Zagreb, str. 299.

Ma ZF, Zhang H (2017) Phytochemical constituents, health benefits, and industrial applications of grape seeds: A Mini-Review. *Antioxidants* **6**, 1-11. <https://doi.org/10.3390/antiox6030071>

Malićanin MV (2014) *Izolovanje i fizičko-hemijska karakterizacija ulja iz semena crvenih sorti grožđa (doktorska disertacija)*, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.

Martin ME, Grao-Cruces E, Millan-Linares MC, Montserrat-de la Paz S (2020) Grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil: A functional food from the winemaking industry. *Foods* **9**, 2-20. <https://doi.org/10.3390/foods9101360>

McDowell D, Elliott CT, Koidis A (2017) Pre-processing effects on cold pressed rapeseed oil quality indicators and phenolic compounds. *Eur J Lipid Sci Tech* **119**, 1600357. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600357>

Mironeasa S, Leahua A, Codină GG, Stroea SG, Mironeasab C (2010) Grape Seed: physico-chemical, structural characteristics and oil content. *J Agroalimnt Processes Technol* **16**, 1-6.

Moghim M, Farzaneh V, Bakhshabadi H (2018) The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (*Nigella Sativa*). *Nutrire* **43**, 18. <https://doi.org/10.1186/s41110-018-0077-y>

Monfreda M, Gobbi L, Grippa A (2012) Blends of olive oil and sunflower oil: Characterisation and olive oil quantification using fatty acid composition and chemometric tools. *Food Chem* **134**, 2283–2290. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.122>

Nanni A, Parisi M, Colonna M (2021) Wine By-Products as Raw Materials for the Production of Biopolymers and of Natural Reinforcing Fillers: A Critical Review. *Food Sci Nutr* **13**, 381. <https://doi.org/10.3390/polym13030381>

Ogbe RJ, Ochalefu DO, Mafulul SG, Olaniru OB (2015) A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. *Asian J Plant Sci Res*, **5**, 10-21.

OIV (2024) Annual Assessment of the World Vine and Wine Sector in 2022. OIV-The International Organization of Vine and Wine, [https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV\\_Annual\\_Assessment-2023.pdf](https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/OIV_Annual_Assessment-2023.pdf).  
Pristupljeno 03. rujna 2024.

Phan VM, Junyusen T, Liplap P, Junyusen P (2018) Effects of ultrasonication and thermal cooking pretreatments on the extractability and quality of cold press extracted rice bran oil. *J Food Process Eng* **42**, e12975. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12975>

Pravilnik (2019) Pravilnik o jestivim uljima i mastima. Narodne novine 11, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_01\\_11\\_229.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_01_11_229.html) Pristupljeno 18. kolovoza 2024.

Rustan AC, Drevon CA (2005) Fatty acids: structures and properties. *eLS* **1**, 1-7. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003894>

Sabir A, Unver A, Kara Z (2012) The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis spp.*). *J Sci Food Agr* **92**, 1982–1987. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5571>

Sabzalian MR, Saeidi G, Mirlohi A (2008) Oil Content and Fatty Acid Composition in Seeds of Three Safflower Species. *J Am Oil Chem Soc* **85**, 717–721. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1254-6>

Saeidnia S, Manayi A, Gohari AR, Abdollahi M (2014) The Story of Beta-sitosterol- A Review. *Eur J Med Plants* **4**, 590-609. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/7764>

Sakar EH, Gharby S (2022) Olive Oil: Extraction Technology, Chemical Composition, and Enrichment Using Natural Additives. U: Yonar T (ured.) Olive Cultivation, IntechOpen, London, str. 18.

Sharma A, Gupta MN (2006) Ultrasonic pre-irradiation effect upon aqueous enzymatic oil extraction from almond and apricot seeds. *Ultrason Sonochem* **13**, 529-534. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2005.09.008>

Shinagawa FB, De Santana FC, Torres LRB, Mancini-Filh J (2015) Grape seed oil: a potential functional food?. *Food Sci Tech* **35**, 399-406. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6826>

Stanisavljević IT, Veličković DT, Todorović ZB, Lazić ML, Veljković VB (2009) Comparison of techniques for the extraction of tobacco seed oil. *Eur J Lipid Sci Tech* **111**, 513-518. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800232>

Thilakarathna RCN, Siow LF, Tang TK, Lee YY (2023) A review on application of ultrasound and ultrasound assisted technology for seed oil extraction. *J Food Sci Tech* **60**, 1222-1236. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05359-7>

Turkay S, Gürbüz H (2013) A new strategy for edible vegetable oil production. *Lipid Tech* **25**, 11–13. <https://doi.org/10.1002/lite.201300249>

Whelan J, Fritsche K (2013) Linoleic Acid, *Adv Nutr* **4**, 311–312, <https://doi.org/10.3945/an.113.003772>

Zhou DD, Li J, Xiong RG, Saimaiti A, Huang SY, Wu SX i sur. (2022) Bioactive Compounds, Health Benefits and Food Applications of Grape. *Foods* **11**, 1-22. <https://doi.org/10.3390/foods11182755>



## izjava o izvornosti

Ja Anamarija Rimac 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.



---

Vlastoručni potpis