

Tehnologija proizvodnje hladno prešanog ulja iz sjemenki grožđa

Galović, Anita

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:159:175677>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Biotehnologija

Anita Galović

7623/BT

TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE HLADNO PREŠANOG ULJA
IZ SJEMENKI GROŽĐA
ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biotehnološki aspekti proizvodnje vina

Mentor: Prof. dr. sc. Vesna Zechner-Krpan

Zagreb, srpanj 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo

Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

TEHNOLOGIJA PROIZVODNJE HLADNO PREŠANOG ULJA IZ SJEMENKI GROŽĐA

Anita Galović, 0058213319

Sažetak: Komina koja zaostaje nakon obrade grožđa je bogata bioaktivnim spojevima pa se u posljednje vrijeme sve više istražuje kako ju iskoristiti za proizvodnju visokovrijednih proizvoda. Jedan od tih proizvoda je i ulje od sjemenki grožđa. Ulje je bogato polifenolima, polinezasićenim i mononezasićenim masnim kiselinama i vitaminom E. Koristi se u prehrambenoj industriji i kulinarstvu zbog visoke točke dimljenja i neutralnog okusa. Zbog svojih antikancerogenih, hepatoprotektivnih, protuupalnih, antidijabetičkih, kardioprotektivnih, antimikrobnih i neuroprotektivnih svojstava ima primjenu u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji te medicini. Najčešća metoda koja se upotrebljava za proizvodnju spomenutog kvalitetnog i sigurnog ulja je hladno prešanje, kojim se dobije ulje koje u sebi nema ostataka otapala i bogato je bioaktivnim spojevima. Postoji i ekstrakcija *n*-heksanom tzv. Soxhletova ekstrakcija, no nedostatak ove metode je korištenje otapala. U zadnje vrijeme se radi na razvoju suvremenih metoda ekstrakcije kod kojih se troši manje energije, minimizira se ili izbjegava upotreba organskih otapala i nema negativnog utjecaja toplinske razgradnje.

Ključne riječi: hladno prešanje, komina, sjemenke grožđa, polifenoli, ulje

Rad sadrži: 29 stranica, 9 slika, 3 tablice, 25 literaturnih navoda, 0 priloga

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. *Vesna Zechner-Krpan*

Datum predaje: 12.7.2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Biotechnology

Department of Biochemical Engineering

Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Malting and Brewing Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Biotechnology

TECHNOLOGY OF COLD PRESSED OIL FROM GRAPE SEEDS

Anita Galović, 0058213319

Abstract: The grape pomace is rich in bioactive compounds, so lately more and more research is being done on how to use the pomace to produce high-value products. One of these products is grape seed oil. The oil is rich in polyphenols, polyunsaturated and monounsaturated fatty acids and vitamin E. It is used in the food industry and cooking due to its high smoking point and neutral taste. Due to its anticancer, hepatoprotective, anti-inflammatory, antidiabetic, cardioprotective, antimicrobial and neuroprotective properties, it has applications in the pharmaceutical and cosmetic industries as well as in medicine. The most common method of production is cold pressing to obtain an oil that does not contain solvent residues and is rich in bioactive compounds, so it is considered a quality and safe oil. There is also extraction with *n*-hexane so-called Soxhlet extraction, but the disadvantage of this method is the use of solvents. Recently, modern extraction methods have been developed that consume less energy, minimize or avoid the use of organic solvents and do not have the negative impact of thermal decomposition.

Keywords: cold pressing, grape seeds, oil, polyphenols, pomace, seeds

Thesis contains: 29 pages, 9 figures, 3 tables, 25 references, 0 supplements

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. *Vesna Zechner-Krpan*, Full professor

Delivery date: 12.7.2021.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Komina grožđa	2
2.1. Sastav komine grožđa	5
3. Zdravstveni učinci fenolnih spojeva	6
4. Ulje sjemenki grožđa	9
5. Metoda hladnog prešanja	13
6. Ostale metode ekstrakcije ulja sjemenki grožđa	17
7. Zaključci	26
8. Popis literature	27

1. Uvod

Prehrambena i poljoprivredna industrija imaju sve veći negativni utjecaj na okoliš, ljudsko zdravlje, ali i na gospodarstvo (Lucarini i sur., 2018). Grožđe je najznačajnija voćna kultura na svijetu (Kalli i sur., 2018). Tijekom prerade grožđa nastaju velike količine važnih poljoprivrednih i industrijskih nusproizvoda, odnosno otpada (Kalli i sur., 2018; Dimić i sur., 2020). Od 1 kg pasiranog grožđa dobije se više od 0,3 kg krutih nusproizvoda. Otpad koji nastaje jest organski otpad, staklenički plinovi (CO₂, hlapivi spojevi itd.) i anorganski otpad (bentonitna glina, dijatomejska zemlja i perlit). Oko dvije trećine ukupnog krutog otpada čini organski otpad, odnosno komina grožđa koja se sastoji od sjemenki, pokožice, pulpe, stabljika i lišća. Odlaganje, ali i rukovanje ovako velikom količinom otpada, to jest nusproizvoda predstavlja veliki ekološki problem. Otpad i nusproizvodi se mogu ponovno upotrijebiti u razne svrhe, jer su bogati bioaktivnim spojevima pa se u današnje vrijeme puno pažnje posvećuje istraživanjima procesa za kontrolirano uklanjanje otpada s ciljem njegove pretvorbe u nove bioproizvode s dodanom vrijednošću (Mammadova i sur., 2019; Dimić i sur., 2020).

Sjemenke čine između 7 i 20 % mase prerađenog grožđa (Dimić i sur., 2020), a od ostatka komine se lako mogu odvojiti odvajanjem i prosijavanjem (Lucarini i sur., 2018; Dimić i sur., 2020;).

Sjemenke su dio grožđa koji je najbogatiji bioaktivnim spojevima, a slijede ih pokožica i pulpa (Lucarini i sur., 2018).

Sadržaj ulja u sjemenkama grožđa iznosi od 13 do 15 %, a ovisi o sorti i zrelosti grožđa. Povećao se interes za proizvodnjom i potrošnjom ulja sjemenki grožđa, ponajviše zbog visoke razine lipofilnih sastojaka kao što su vitamin E, nezasićene masne kiseline i fitosteroli. Oni posjeduju veće antioksidacijsko djelovanje od hidrofilnih sastojaka. Ulje sjemenki grožđa je bogat izvor tokotrienola, tokoferola i nezasićenih masnih kiselina, posebno polinezasićenih masnih kiselina, pa ima niz pozitivnih utjecaja na ljudsko zdravlje zahvaljujući svojim antioksidacijskim svojstvima (Dimić i sur., 2020).

Ulje sjemenki grožđa se uglavnom proizvodi tradicionalnim metodama ekstrakcije, a to su ekstrakcija otapalom ili hladno prešanje. Tradicionalna proizvodnja zahtijeva veću potrošnju otapala, potrebno je dulje vrijeme za ekstrakciju te se postižu niži prinosi i lošija kvaliteta ekstrakcije. Za razliku od Soxhlet-ove ekstrakcije, hladnim prešanjem se dobivaju veći prinosi masnih kiselina i tokoferola, bez toplinske ili kemijske obrade. Hladno prešana ulja su

zanimljive sirovine za prirodne, ali i sigurne proizvode koje potrošači i proizvođači sve više cijene (Dimić i sur., 2020).

2. Komina grožđa

Prema FAO (Food and Agriculture Organisation, Organizacija za hranu i poljoprivredu, 2015) grožđe je najveća voćarska kultura na svijetu. Godišnje se u svijetu proizvede oko 70 milijuna tona grožđa, od čega se 80 % koristi za proizvodnju vina, a 20 % prerađenog grožđa ostaje kao komina (Kalli i sur., 2018). Glavni svjetski proizvođači grožđa su Kina, Europa, SAD i Italija (Gupta i sur., 2019). Prema Međunarodnoj organizaciji za vinovu lozu i vino, 2012. godine je svjetska proizvodnja vina iznosila 252 milijuna hektolitara. Europska unija je s 60 % proizvedenog volumena vina u svijetu glavni svjetski proizvođač i drži 50 % svjetskog područja zasađenih vinogradima. Najveći europski proizvođači vina su Francuska, Italija i Španjolska (Duba i Fiori, 2015).

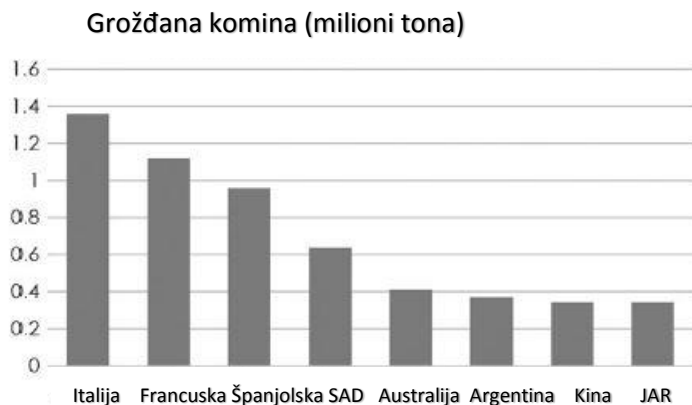
Komina je čvrsti materijal koji ostane nakon prešanja i fermentacije grožđa (Kalli i sur., 2018). Glavne komponente komine jesu pokožica, stabljike, lišće, sjemenke i pulpa (Bordiga i sur., 2019). Komina čini oko 20 % izvorne mase grožđa (Konuskan i sur., 2019). Sastoji se od dvije frakcije, a to su komina bez sjemenki i sjemenke (Kalli i sur., 2018; Bordiga i sur., 2019). Kominu bez sjemenki čini rezidualna pulpa, stabljike i pokožica (Bordiga i sur., 2019). Količina komine koja se dobije tijekom proizvodnje vina ovisi o sorti grožđa te korištenoj opremi i postupcima, a u Tablici 1. prikazan je sastav komine dobivene od 5 različitih sorata grožđa (Dwyer i sur., 2014). Ako gledamo suhi dio grožđa, pokožica čini 5 do 10 %, a sjemenke 38 do 52 % (Konuskan i sur., 2019).

Tablica 1: Sastav komine dobivene od 5 različitih sorata grožđa (Dwyer i sur., 2014)

Sorta grožđa	Pokožica (%)	Sjemenke (%)	Peteljke (%)	USTK* (%)
Morio muškat	85,99	12,77	1,25	83,9
Muller Thurgau	90,67	7,84	1,49	72,4
Cabernet Sauvignon	77,41	20,91	1,68	28,2
Pinot Noir	73,55	12,34	0,54	27,7
Merlot	83,18	14,98	1,84	22,2

*ukupni udio topivih krutina

Primjerice, u mediteranskim zemljama se godišnje proizvede čak i do 1.200 tona komine. Na Slici 1. je prikazana količina groždane komine koja je ostala nakon prerade grožđa tijekom 2017. godine u različitim zemljama svijeta (Bordiga i sur., 2019).

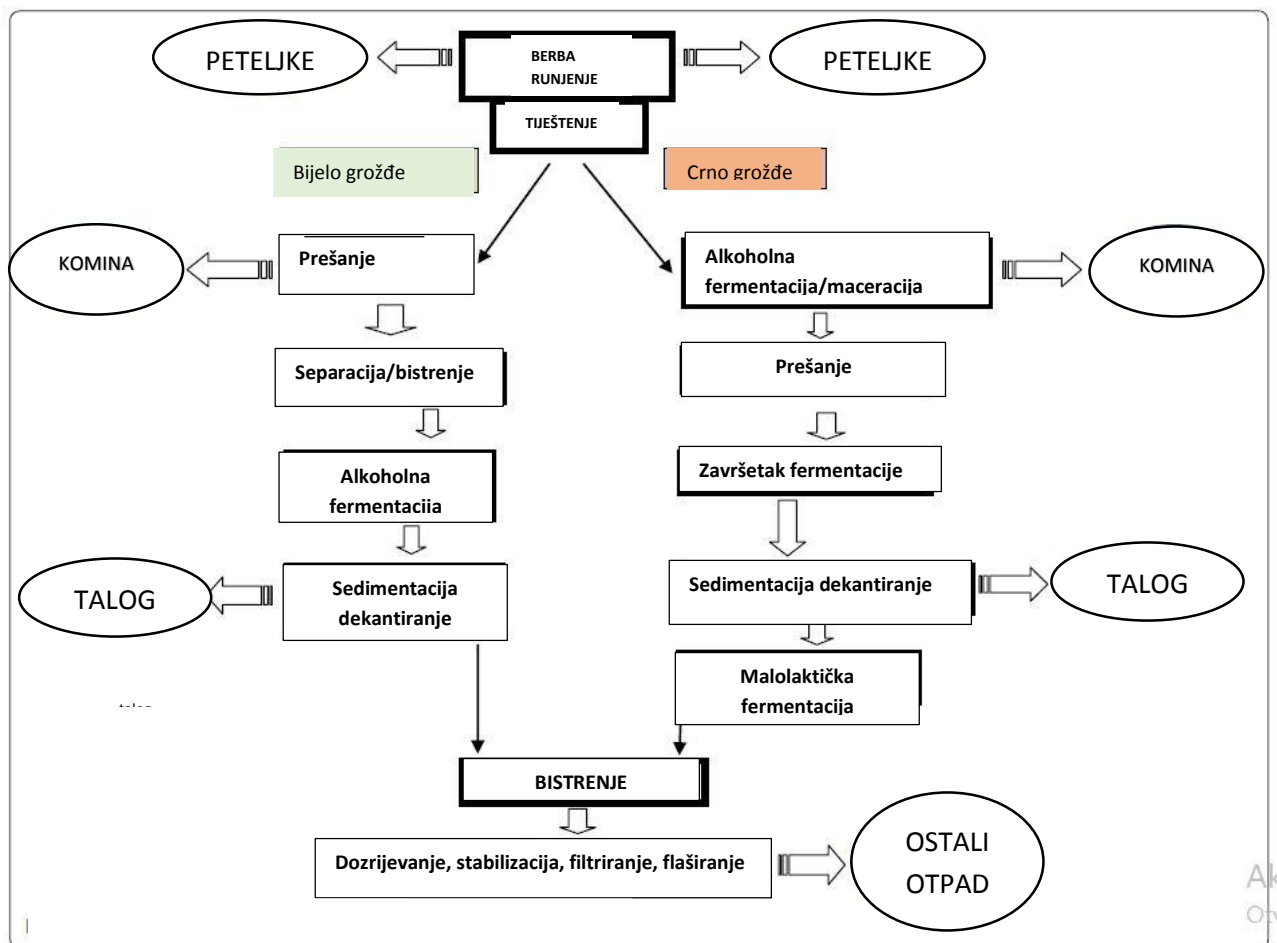


Slika 1: Procjena količine groždane komine tijekom 2017. godine (Bordiga i sur., 2019)

Tijekom posljednjih godina je iskorištavanje komine bilo neučinkovito (Kalli i sur., 2018). Odlaganje velike količine otpada predstavlja veliki ekonomski i ekološki problem koji je potrebno riješiti (Bordiga i sur., 2015). Odlaganje komine na poljima ili njezino spaljivanje štetno djeluje na okoliš. Dodatna šteta za okoliš je činjenica da fenolni spojevi snižavaju pH komine grožđa pa dolazi do sve veće otpornosti na biološku degradaciju (Kalli i sur., 2018; Bordiga i sur., 2019). Još jedan ekološki problem je onečišćenje površinskih i podzemnih voda (Bordiga i sur., 2019). Također, dolazi do privlačenja muha i drugih štetnika koji mogu širiti bolesti te nastaju neugodni mirisi (Dwyer i sur., 2014). S obzirom na sve gore navedene štetne utjecaje odlaganja komine u okoliš, u posljednje vrijeme se istražuje industrijska primjena komine. Neke od primjena jesu korištenje komine u prehrani životinja, kao nutritivni dodatak visokovrijednim proizvodima, u proizvodnji limunske kiseline i korištenje antocijana iz poce grožđa kao bojila. Vrlo popularno je korištenje komine u proizvodnji destiliranih alkoholnih pića npr. piće Grappa koje je vrlo popularno i ima veliku kulturnu, komercijalnu i povijesnu važnost u Italiji. Grappa se dobije tako što se komina ili trop grožđa prerađuju nakon alkoholne fermentacije (Bordiga i sur., 2015).

U proizvodnji vina, grožđe prolazi kroz nekoliko koraka obrade, primjerice drobljenje i prešanje. Unatoč tim invazivnim procesima, kemijski sastav bioaktivnih spojeva se značajno ne mijenja. Dakle, u komini i crnog i bijelog grožđa zaostaje značajna količina vrijednih

bioaktivnih spojeva. Prema nekim podacima, oko 70 % fenola ostaje unutar komine grožđa nakon vinifikacije (Dwyer i sur., 2014). Za pokožicu su karakteristični fenolni spojevi antocijani, a za sjemenke su karakteristični flavanoli (Bordiga i sur., 2019). Nusproizvodi vinske industrije su prema tome jeftin izvor za ekstrakciju i nastaju u raznim fazama tijekom proizvodnje vina (Slika 2.). Sadrže visoke koncentracije hidrokoloida, prehrambenih vlakana, lipida, proteina i fenolnih spojeva. Kvaliteta i količina bioaktivnih spojeva ovisi o sorti grožđa, uvjetima gnojidbe, položaju, tlu i periodu berbe (Kalli i sur., 2018; Bordiga i sur., 2019).



Slika 2: Nusproizvodi koji nastanu tijekom procesa proizvodnje vina (Kalli i sur., 2018)

Sjemenke čine oko 5 % ukupne mase grožđa, odnosno 40 do 50 % krute tvari otpada koji se nakupi tijekom proizvodnje vina. Što se tiče sastava sjemenki, lipidi čine između 10 i 20 %, a vlakna 40 %. Fenoli, šećeri, minerali i bjelančevine čine oko 10 %. Najveći udio čine neprobavljive frakcije, pektini i celuloza. Njihov udio je oko 80 % bez šećera (Bordiga i sur., 2019). Izgled čvrstih dijelova komine grožđa nakon runjenja i muljanja prikazan je na Slici 3.



Slika 3: Čvrsti dijelovi komine grožđa (peteljke, pokožica i sjemenke) (Kalli i sur., 2018)

2.1. Sastav komine grožđa

U suhoj tvari grožđa su najviše prisutna prehrambena vlakna. Njihov maseni udio može varirati od 43 do 75 %. Glavni sastojci prehrambenih vlakana su polisaharidi stanične stijenske i lignin. U komini crnog vina ih ima više nego u komini bijelog vina. Sjemenke imaju više vlakana od pokožice. Konzumacijom prehrambenih vlakana se smanjuje rizik od razvoja karcinoma, kardiovaskularnih bolesti te se smanjuje kolesterol i zatvor. Dodatno, dobra su prevencija pretilosti i dijabetesa. U komini su prisutni i različiti monomeri poput arabinoze, galaktoze, ksiloze, glukoze, ramnoze, manoze, uronske kiseline i galakturonske kiseline.

Oligosaharidi su proizvodi razgradnje stanične stijenske bobičastog voća. Sjemenke grožđa ih sadrže u velikim količinama. Oligosaharidi se ubrajaju u prebiotike jer se ne apsorbiraju u gornjem probavnom traktu ljudi nego netaknuti dolaze do debelog crijeva i tamo djeluju kao hranjivi sastojci za mikrofloru. Udio proteina u komini se kreće od 6 do 15 %, a ovisi o sorti grožđa te uvjetima uzgoja. Pokožica i sjemenke grožđa se ne razlikuju puno u udjelu proteina. Općenito, u komini prevladavaju asparaginska i glutaminska kiselina dok su, s druge strane, triptofan i aminokiseline sa sumporom sadržane u manjim količinama. U pokožici bobice se tijekom zrenja nakupljaju minerali poput fosfora, sumpora, kalija i magnezija (Bordiga i sur., 2019).

Komina sadrži velike količine polifenolnih spojeva jer se nisu u potpunosti ekstrahirali tijekom proizvodnje vina (Lucarini i sur., 2018). Tijekom proizvodnje vina se ekstrahira oko 40 % polifenola, a to ovisi o lokaciji, sorti i tehnološkim parametrima primijenjenima tijekom

produkcije (Bordiga i sur., 2019). Komina crnog grožđa sadrži veću količinu polifenolnih spojeva (Dwyer i sur., 2014). Najzastupljeniji polifenoli su antocijani, hidroksicimetna kiselina, hidroksibenzojeva kiselina, flavanoli, flavan-3-oli i stilbeni. Antocijani su pigmenti zaslužni za crvenu boju koji su proizvedeni tijekom zrenja grožđa i nalaze se u pokožici grožđa. Glavni antocijani su: malvidin, petunidin, cianidin, peonidin i delphinidin. Flavan-3-oli su skupina flavonoida koji su karakteristični za ljudsku prehranu i nalaze se u voću i povrću. Njihova najveća koncentracija jest u sjemenkama, iako ih ima i u pokožici. Glavni predstavnici su kaempferol, kvercetin, miricetin i izorhamnetin. Resveratrol je glavni stilben prisutan u grožđu, vinu i komini (Bordiga i sur., 2019). Najviše prisutni flavanoli u sjemenkama i pokožici grožđa su kvercetin-3-*O*-galaktozid, kvercetin-3-*O*-glukozid, miricetin, kvercetin, kaempferol i kaempferol-3-*O*-glukozid koji je prisutan samo u pokožici (Bordiga i sur., 2015).

Osim polifenola (hidroksibenzojeva kiselina, galna kiselina, kvercetin, derivati cimetne kiseline, , kempferol, monomerni flavan-3-oli, tj. (+) - katehin, (-) - epikatehin, galokatehin i epikatehin 3-*O*-galat), u sjemenkama su prisutne i nezasićene masne kiseline, fitosteroli, karotenoidi i vitamin E (Lucarini i sur., 2018; Manca i sur., 2020).

Općenito, količina svih sastojaka u komini grožđa ovisi o puno čimbenika, a to su: sorta grožđa, godina proizvodnje, geografski položaj, sastav tla i gnojidba. Također, veliki utjecaj ima i stupanj sazrijevanja grožđa te metode obrade grožđa nakon berbe (Lucarini i sur., 2018).

3. Zdravstveni učinci fenolnih spojeva

Fenoli su složene molekule sa polifenolnom strukturom u kojoj je na aromatski prsten vezano nekoliko hidroksilnih grupa i molekule sa jednim fenolnim prstenom kao što su fenolne kiseline i fenolni alkoholi. Fenoli iz grožđa i vina se mogu podijeliti u tri skupine: fenolne kiseline (benzojeva i hidroksicinamska), jednostavni flavonoidi (katehini, flavonoli i antocijani) i tanini i proantocijanidini (Fontana i sur., 2013). Najviše su prisutni antocijani, hidroksibenzojeva i hidroksicinaminska kiselina, flavan-3-oli, flavonoli i stilbeni. Još u drevnoj Europi su se sok i lišće grožđa koristili u liječenju stoga ne čudi činjenica da se pokožica i sjemenke grožđa koriste kao funkcionalni sastojci za rješavanje, ali i prevenciju raznih bolesti organizma. Danas se sve više pažnje posvećuje istraživanju kako se ekstrakti grožđa mogu koristiti kao zamjene ili nadopune lijekovima za liječenje raznih bolesti (Gupta i sur., 2019).

Suvremen način života karakterizira stres, nezdrava prehrana, smanjena tjelesna aktivnost, nedostatak sna te konzumacija alkohola, cigareta pa čak i droge. Takav nepravilan

način života dovodi do povećanja dugoročnih polupatoloških stanja, odnosno upala, oksidativnog stresa i disbioze na crijevnoj razini ili disbalansa crijevne flore uslijed nedostatka korisnih sojeva bakterija. To je glavni uzročnik razvoja karcinoma i kroničnih bolesti ne samo crijeva, nego i ostalih organa. Proizvodnja vrlo nestabilnih i reaktivnih kemijskih vrsta, kao što su reaktivne vrste kisika (engl. Reactive Oxygen Species, ROS), u koje ubrajamo radikalne oblike (superoksid, O_2^-) i neradikalne oblike peroksida (H_2O_2) je fiziološki događaj koji se uobičajeno odvija u biokemijskim reakcijama crijevnih stanica. Ove vrste su vrlo važne za održavanje crijevne homeostaze, no njihovom prekomjernom proizvodnjom dolazi do oksidativnog stresa, a to uzrokuje mutacije DNA, peroksidaciju lipida, protuupalno izlučivanje citokina, fibrozu i neoplaziju. U ljudskom organizmu postoji nekoliko mehanizama za suzbijanje negativnih učinka oksidativnog stresa. Crijevna mikrobiota je važna za održavanje crijevne homeostaze i imunološkog sustava. Promjenom mikrobiote dolazi do infekcija i bolesti pa mikrobiota ima vrlo važnu ulogu u održavanju ljudskog zdravlja (Manca i sur., 2020). Resveratrol sprječava rast bakterije *Helicobacter pylori*, promjene u morfologiji epitelnih stanica želuca i stvaranje reaktivnih vrsta kisika (Gupta i sur., 2019). Svakodnevnom konzumacijom polifenola se sprječava nastanak oštećenja povezanih s oksidativnim stresom i održava se homeostaza u crijevima (Manca i sur., 2020).

Konzumacija većih količina voća i povrća povezana je s brojnim pozitivnim učincima na zdravlje (Bordiga i sur., 2019). Na Sardiniji je tajna dugovječnosti upravo svakodnevna konzumacija umjerene količine crnog vina (Manca i sur., 2020). S druge strane, postoji i takozvani "francuski paradoks". Iako je prehrana Francuza bogata zasićenim masnim kiselinama, rijetko obolijevaju od bolesti srca i krvnih žila, a za to je zaslužan polifenolni spoj resveratrol (Dwyer i sur., 2014).

Ti pozitivni učinci su rezultat širokog raspona fizioloških svojstava polifenolnih spojeva. Tablica 2. prikazuje fenolne spojeve dobivene iz komine crnog i bijelog grožđa (Kalli i sur., 2018). Polifenolni spojevi imaju proupalno, antikancerogeno, antioksidativno, antimikrobno i antitrombotičko djelovanje (Teixeira i sur., 2014; Bordiga i sur., 2019; Mammadova i sur., 2019). Postoje dokazi koji upućuju da se konzumacijom grožđa i vina smanjuje rizik od razvoja neurodegenerativnih bolesti, poput Alzheimerove bolesti te kardiovaskularnih bolesti (Gupta i sur., 2019). Nekoliko je mehanizama kojima ekstrakt sjemenki grožđa sprječava arteriosklerozu, a to su: snižavanje krvnog tlaka, inhibicija agregacije trombocita, smanjenje upale, inhibicija ili ograničavanje oksidacije lipoproteina male gustoće (LDL) i aktiviranje proteina koji sprječavaju starenje stanice (Teixeira i sur., 2014; Gupta i sur., 2019). Polifenoli iz komine grožđa mogu utjecati na enzimsku regulaciju razine kolesterola u krvi, na način da

snižavaju razinu kolesterola (Bordiga i sur., 2019). Ekstrakt sjemenki djeluje protiv Gram-pozitivnih bakterija kao što su *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus coagulans* i *Bacillus subtilis*, ali još bolje djeluje protiv Gram-negativnih bakterija poput *Pseudomonas aeruginosa* ili *Escherichia coli*. Također, resveratrol djeluje protiv brojnih patogena primjerice *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterococcus faecalis*. Mehanizam kojim djeluje resveratrol uključuje indukciju oksidativnog oštećenja membrane bakterije, ali bez utjecaja na stanice domaćina. Zbog toga bi se resveratrol mogao koristiti u liječenju kada su antibiotici neučinkoviti (Teixeira i sur., 2014; Gupta i sur., 2019). Upravo se konzumacija sjemenki grožđa povezuje sa antikancerogenim i kemoprotektivnim učincima protiv raznih vrsta karcinoma (Teixeira i sur., 2014; Lucarini i sur., 2018). Ekstrakt sjemenki grožđa pokazuje značajnu antitumorsku aktivnost u dojka, plućima, prostati, debelom crijevu i mjehuru. Također, pokazuje aktivnost u borbi s leukemijom (Kalli i sur., 2018). Fenolni spojevi imaju citotoksičnu aktivnost prema tumorskim stanicama, dok na zdrave stanice ne djeluju. Postoje studije koje navode kako bi se ekstrakt sjemenki mogao koristiti kao dodatak u liječenju raka (Gupta i sur., 2019). Flavanoidi su snažni antioksidansi, čistači slobodnih radikala i kelatori metala. Također, polifenolni spojevi sprječavaju napredak dijabetesa te inhibiraju alergijske reakcije i procese starenja (Kalli i sur., 2018). Istraživanje koje je provedeno na osam zdravih odraslih osoba je pokazalo da dodatak od 100 do 300 mg ekstrakta sjemenki grožđa nakon obroka bogatog ugljikohidratima dovodi do smanjenja razine glukoze u krvi do dva sata nakon uzimanja (Kalli i sur., 2018).

U skladu s rezultatima ovih istraživanja, može se reći da komina grožđa ima potencijalnu uporabu u liječenju dijabetesa tipa II i dijabetičara retinopatija (Kalli i sur., 2018).

Tablica 2. Fenolni spojevi dobiveni iz komine crnog i bijelog grožđa (Kalli i sur., 2018)

Polifenolni spojevi	Komina crnog grožđa (KCG)	Komina bijelog grožđa (KBG)
Ukupni polifenoli (ekvivalent mg galne kiseline/g suhe tvari)	60,1±1,0	40,5±1,0
Kondenzirani tanini (ekvivalent mg katehina/g suhe tvari)	13,1±0,8	6,7±0,2
Hidrolizirani tanini (ekvivalent mg taninske kiseline/g suhe tvari)	3,7±0,1	5,3±0,2
Kvercetin (µg/dani g suhe tvari)	128,7±5,9	46,9±0,7
Galna kiselina (µg/dani g suhe tvari)	607,0±9,0	729,2±13,4
Katehin (µg/dani g suhe tvari)	1973,4±17,6	799,0±15,5
Procijanidin B2 (µg/dani g suhe tvari)	1071,0±17,7	380,3±19,1

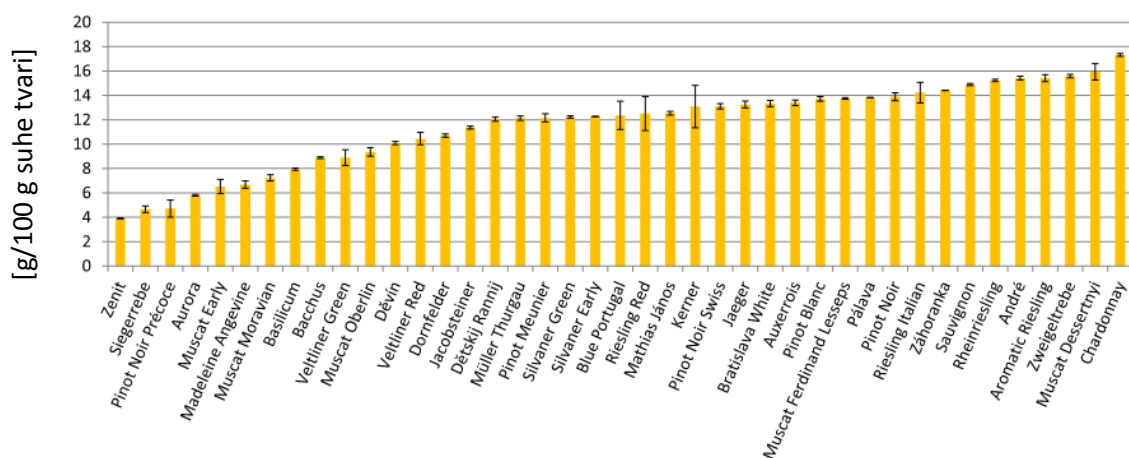
Ekstrakt sjemenki grožđa se u Europi već nekoliko desetljeća koristi u terapijske svrhe. Oligomerni proantocijanidini iz sjemenki grožđa (OPC) se mogu koristiti kao komplementarni lijek. Preporučena dnevna doza je 50-200 mg (Kalli i sur., 2018).

S obzirom da polifenoli posjeduju aktivnost protiv starenja, polifenolni ekstrakti iz sjemenki grožđa se koriste kao aktivni sastojci u komercijaliziranim kozmetičkim preparatima. Polifenoli imaju blagotvorne učinke na ljudsku kožu (Kalli i sur., 2018; Bordiga i sur., 2019). Biljna ulja koja su najvažnija za farmaceutsko i kozmetičko tržište su ulja bogata polinezasićenim masnim kiselinama, skvalenima i fitosterolima (Bordiga i sur., 2019). Galna kiselina iz komine grožđa je učinkovita u inaktivaciji enzima kolagenaza i elastaza, a linolna kiselina iz ulja sjemenki grožđa pokazuje protuupalno djelovanje, kao i djelovanje protiv starenja, a se kada nanese na kožu lica u preparatima za njegu (Kalli i sur., 2018; Bordiga i sur., 2019). Sjemenke grožđa u preparatima za njegu kože imaju antibakterijska i protugljivična svojstva. Neki od proizvoda koji se mogu pripremiti od komine grožđa su: piling za lice koji sadrži ulje sjemenki, krema za sunčanje, kreme za područje oko očiju, hidratantne kreme protiv starenja, serum za lice protiv tamnih mrlja te razni drugi pilinzi, dnevne i noćne kreme te ostali proizvodi za njegu lica (Kalli i sur., 2018). Dokazano je da ekstrakt sjemenki grožđa sadrži polifenil fenolne bioflavonoide, proantocijanidine koji pospješuju zacjeljivanje rana. Ekstrakt pomaže u obnavljanju oštećenih krvnih žila i povećava količinu slobodnih radikala na površini rane, a oni suzbijaju patogene bakterije i endotoksine (Gupta i sur., 2019).

4. Ulje sjemenki grožđa

Prema istraživanju koje su proveli Lachaman i suradnici (2015) prosječna količina ulja u suhoj tvari sjemenki je iznosila $11,60 \pm 0,33$ g/100 sa medijanom $12,37 \pm 0,19$ g/100 g. U Zenit sorti ima $3,91 \pm 0,04$ g/100 g, a u Chardonnay $17,32 \pm 0,11$ g/100 g. Visok sadržaj ulja je karakterističan za slijedeće vrste: Muscat Dessertnyi ($15,94 \pm 0,67$ g/100 g), Zweigeltrebe ($15,59 \pm 0,14$ g/100 g), Aromatic Riesling ($15,42 \pm 0,29$ g/100 g), André ($15,42 \pm 0,15$ g/100 g) i Riesling Weiss (Rheinriesling $15,23 \pm 0,09$ g/100 g). Na Slici 4. je prikazan udio ulja u sjemenkama različitih sorti grožđa u 2011. godini (Lachman i sur., 2015). Kao što se može vidjeti iz Slike 4. sadržaj ulja u sjemenkama grožđa najveći je u bijelim sortama poput Chardonnay,

riesling



Slika 2. Udio ulja izražen kao g/100 g u sjemenkama različitih sorti grožđa u 2011. godini (udio ulja je izražen kao suha tvar sjemenki) (Lachman i sur., 2015)

Ulje sjemenki grožđa je proizvod koji ima više primjena, a zbog svog sastava i antioksidacijskog kapaciteta doprinosi nutraceutskim učincima (Bordiga i sur., 2019). Sjemenke grožđa sadrže od 8 do 15 % ulja te se zbog svojih pozitivnih utjecaja na ljudsko zdravlje više ne smatraju otpadom vinske industrije (Coelho i sur., 2018). Što se tiče kemijskog sastava, ulje sadrži velike količine polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina te male količine zasićenih masnih kiselina (Bordiga i sur., 2019), ali i vitamin E (tokoferole i tokotrienole) (Duba i Fiori, 2015). Polinezasićene masne kiseline, linolna i linolenska, esencijalne su za ljudski organizam s obzirom da ne postoje enzimi za njihovu sintezu u tijelu (Lachman i sur., 2015). Po udjelu nezasićenih masnih kiselina je među prvima ako se gledaju hladno prešana ulja (Valjak, 2019). Najviše prisutne masne kiseline u ulju jesu linolna (C18: 2), oleinska (C18: 1), palmitinska (C16: 0) i stearinska (C18: 0). Manje prisutne masne kiseline su palmitoleinska (C16: 1), linolenska (C18: 3), arahidna (C20: 0) i gadoleinska (C20: 1) kiselina (Konuskan i sur., 2019). Ulje sadrži 70% linolne kiseline (C18:2), 15% oleinske kiseline (C18:1) i 7% palmitinske (C16:0) (Bordiga i sur., 2019). Prema istraživanju Lachmana i suradnika (2013) koji su proveli analizu ulja sjemenki od 41 sorte grožđa, potvrđeno je da u ulju ima najviše linolne kiseline. Njena količina je varirala od 68,10 do 78,18 g/100 g, ovisno o sorti. Najviše količine su detektirane u sortama Aurora (78,18 g/100 g), Pálava (77,23 g/100 g), Veltliner Green (77,19 g/100 g), Zàhoranka (76,90 g/100 g), Muscat Early (76,58 g/100 g)

i Auxerrois (76,05 g/100 g). U istom istraživanju je utvrđeno da je α -linolenska prisutna u vrlo malim količinama od 0,29 do 0,77 g/100 g, a količina oleinske kiseline varira od 8,67 do 16,78 g/100 g. Sadržaj zasićenih masnih kiselina je iznosio od 9,04 do 12,82 g/100 g. Palmitinska kiselina je detektirana u količini od 4,93 do 8,02 g/100 g, a stearinska kiselina od 2,91 do 5,65 g/100 g. Točna vrijednost pojedine masne kiseline ovisi o sorti grožđa.

Sadržaj linolne kiseline uvelike ovisi o sorti i metodi ekstrakcije. U ulju dobivenim ekstrakcijom otapalom sadržaj linolne kiseline iznosi 67,54% i viši je u odnosu na ulje dobiveno hladnim prešanjem gdje sadržaj ulja iznosi 66,16%. Isto tako sadržaj oleinske kiseline u ulju ovisi o sorti grožđa i metodi ekstrakcije. No, sadržaj oleinske kiseline je viši kod metode hladnog prešanja i iznosi 20,43 %, a kod metode ekstrakcije otapalom iznosi 19,01 %. Kao i prve dvije, tako i sadržaj palmitinske kiseline ovisi o metodi ekstrakcije i sorti. U uljima dobivenim ekstrakcijom otapalom je sadržaj oleinske kiseline 7,82 %, a u uljima dobivenim hladnim prešanjem 7,62 % (Konuskan i sur., 2019). Općenito, u ulju navise ima polinezasićenih masnih kiselina, potom slijede mononezasićene i na kraju zasićene (Lachman i sur., 2015). Polinezasićene masne kiseline, poput linolne, smanjuju rizik od razvoja bolesti srca i karcinoma, dok oleinska smanjuje razinu lipoproteina male gustoće i sprječava nastanak ateroskleroze (Konuskan i sur., 2019).

Glavni sterol je β -sitosterol (Bordiga i sur., 2019). γ -tokotrienol je najzastupljeniji tokotrienol, a nakon njega slijed α -tokotrienol. δ -tokotrienol je pronađen u manjim količinama. Tokoferoli prisutni u ulju sjemenki grožđa su α -, β -, γ -, i δ -tokoferoli. Jedan od najznačajnijih unutarstaničnih antioksidansa topivih u mastima je α -tokoferol zbog svoje inhibicijske aktivnosti peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina u biološkim membranama (Dimić i sur., 2020). Sjemenke sadrže i oko 40 % vlakana (Dwyer i sur., 2014). U Tablici 3. prikazan je sastav ulja sjemenki grožđa (Dwyer i sur., 2014).

Polifenolni spojevi koji su prisutni u ulju, osim što imaju pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, korisni su i za čuvanje, odnosno konzerviranje ulja zbog njihove povećane oksidacijske stabilnosti. Ukupni fenolni sadržaj je veći (253,04 mg/kg) za ulja dobivena ekstrakcijom otapalom nego za ulja dobivena hladnim prešanjem (152,40 mg/kg) (Konuskan i sur., 2019). Sjemenke, ali i ulje sjemenki crnog grožđa sadrži veće udjele polifenolnih spojeva u odnosu na sjemenke i ulje sjemenki bijelog grožđa (Dwyer i sur., 2014). Polifenoli u sjemenkama grožđa pokazuju veće antioksidativno djelovanje u usporedbi sa drugim poznatim antioksidantima poput vitamina C i E te β -karotena. Također, sadrže i enzime za oslobađanje

histamina tijekom alergija i upala (Gupta i sur., 2019). Sastav ulja sjemenki crnog i bijelog grožđa prikazan je u Tablici 3. (Dwyer i sur., 2014).

Ulje sjemenki grožđa je prepoznato kao visokokvalitetno ulje za starije osobe i novorođenčad te ima mekani voćni okus. Važna svojstva ulja su to što ima visoku točku dimljenja, od 210 do 230 °C pa se može koristiti za duboko prženje (Vanhanen i Savagen, 2002), kao i što ne dolazi do značajnog povećanja viskoznosti tijekom prženja (Konuskan i sur., 2019). Visoka točka dimljenja je zbog prisutnosti zasićenih masnih kiselina (Rombaut i sur., 2014). Primjerice, maslinovo ulje ima točku dimljenja 190 °C pa ga to čini neprikladnim za prženje. Ulje sjemenki grožđa je neutralnog okusa i zelenkasto-žute boje. Zbog navedenih svojstava ima široku primjenu u prehrambenoj industriji i kulinarstvu (Vanhanen i Savagen, 2002) i također je vrlo lako probavljivo (Konuskan i sur., 2019). Ulje sjemenki grožđa može se upotrebljavati kao jestivo ulje ili kao zamjena za ulje lanenih sjemenki, ali se primjenjuje i u proizvodnji sapuna i novih kozmetičkih proizvoda. Zahvaljujući svom neutralnom okusu, može se miješati s drugim skupljim uljima poput orahovog, maslinovog i lješnjakovog ulja ili s drugim prehrambenim proizvodima kao što je majoneza (Vanhanen i Savagen, 2002). Također, koristi se kao dodatak umacima i salatama, a može se konzumirati samostalno prije ili nakon obroka (Valjak, 2019). Preporuka je konzumirati 1 žlicu, odnosno 30 kapi ulja 3 puta dnevno prije obroka. Ako se koristi za njegu kože, onda je potrebno lagano nanositi jednom do dva puta u danu. Cijena za 100 mL ulja je oko 60 kn (Anonimus 1, 2021).

Zahvaljujući lipofilnoj i hidrofilnoj komponenti, ulje sjemenki grožđa pokazuje korisne učinke. Ulje sjemenki ima antikancerogena, hepatoprotektivna, protuupalna, antidijabetička, kardioprotektivna, antimikrobnobna i neuroprotektivna svojstva te pokazuje korisna svojstva u liječenju hipertenzije i čireva. Zbog velike količine linolne kiseline smanjuje se ukupna razina kolesterola u krvi te kolesterola lipoproteina male gustoće (LDL) koji je odgovoran za nastanak arterioskleroze. Stoga se konzumacijom ulja sjemenki grožđa smanjuje rizik od nastanka arterioskleroze (Gupta i sur., 2019). Zbog svih pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje, ulje nalazi sve veću primjenu u medicini, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Duba i Fiori, 2015).

Primarnim oksidacijskim procesima u ulju nastaju hidroperoksidi. Njihova količina se izražava peroksidnom vrijednošću te što je ona niža, ulje je bolje kvalitete (Jokić i sur., 2016).

Ulje se može dobiti raznim metodama, a to su: hladno prešanje, Soxhlet ekstrakcija, tj. ekstrakcija otapalima te ekstrakcije potpomognute ultrazvučnom (UAE), mikrovalnom (MAE) i visokotlačnom obradom te superkrična tekućinska ekstrakcija (SFE) (Konuskan i sur., 2019).

Sjemenke grožđa su nusproizvod vinske industrije pa su kao sirovina lako dostupne (Gupta i sur., 2019).

Tablica 3. Sastav ulja sjemenki grožđa (Dwyer i sur., 2014)

Sorte sjemenki grožđa	Udio ulja (% v/w)*	Stupanj nezasićenosti (%)	Tokoferol (mg/kg)
Crno	13,1-19,6	86,6-89,3	357-578
Bijelo	14,7-17,8	86,5-88,1	364-486

*prosjeak (crno & bijelo)= 16,3 %

5. Metoda hladnog prešanja

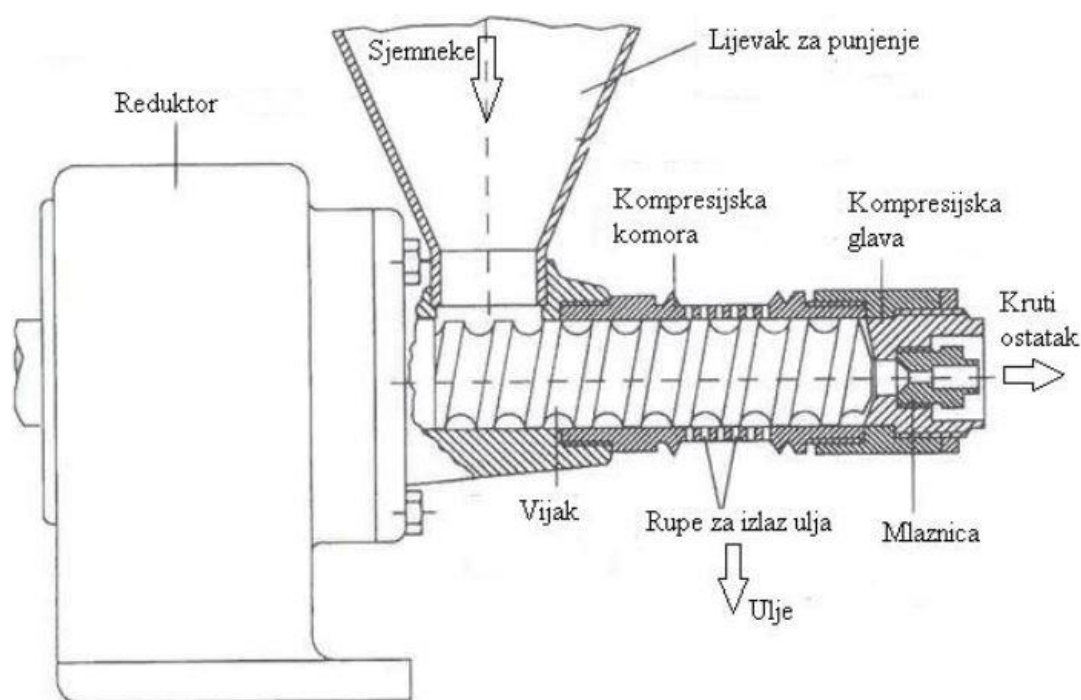
Metoda hladnog prešanja ne zahtijeva kemijsku i toplinsku obradu pa ne dolazi do razgradnje polifenola (Konuskan i sur., 2019). Niti kod sušenja niti kod prešanja sjemenke se ne izlažu temperaturama većima od otprilike 45 °C (Anonimus 2, 2021). Prinos je niži u odnosu na ekstrakcije s otapalima, ali je prednost ove metode što u ulju nema ostatka otapala pa je samim time sigurnija metoda (Konuskan i sur., 2019). Nakon proizvodnje vina se sjemenke grožđa izdvoje iz komine. Potom se sjemenke suše pri određenoj temperaturi i u kontroliranim uvjetima. Vrlo je važno pravilno podesiti procesne parametre kako ne bi došlo do razgradnje termolabilnih sastojaka pa se hladno prešanje i skladištenje se ne smije provoditi na temperaturama iznad 50 °C. Sušenje se provodi na način da se sjemenke stave u perforirane košarice od nehrđajućeg čelika i potom u komore za sušenje. Suše se na temperaturi od maksimalno 38 °C, sve dok se ne postigne stalna masa. Tijekom istraživanja Lucarini i suradnici (2018) pratili su dvije šarže. Prva šarža od 1260 kg te je nakon sušenja masa iznosila 554 kg, dok je druga šarža imala 1560 kg prije sušenja, a nakon sušenja 708 kg. Prinosi su iznosili 44, odnosno 45 %. Osušene sjemenke su se pakirale u polipropilenske vreće te su se čuvale na sobnoj temperaturi i zaštićene od svjetla. Također, mogu se čuvati u papirnatim vrećama na tamnom i suhom mjestu.

Prije prešanja se sjemenke važu kako bi se provjerilo je li došlo do gubitka vode. Sjemenke se mogu dodatno osušiti iz dva razloga. Prvi je predugo skladištenje, a drugi je niska razina vlage u skladištu. Zbog toga tijekom prešanja može doći do problema jer se pogača zapeče na stroju, a ulje gori. Ulje se nalazi na visokim temperaturama i dolazi do razgradnje nutritivnih sastojaka što je svakako nepoželjno jer se ulje baš zbog tih vrijednih sastojaka i proizvodi. U tom slučaju se sjemenke dan prije navlaže, odnosno pošpricaju vodom u obliku maglice da bi se mogle prešati. Tijekom vlaženja se sjemenke miješaju kako bi se sve sjemenke

ravnomjerno navlažile. Kod sjemenki sa nižom količinom vlage se dobije veća količina ulja, ali su izlazne temperature ulja visoke. S druge strane, sjemenke sa većom količinom vlage daju manje ulja, ali je izlazna temperatura ulja i pogače zadovoljavajuća (Valjak, 2019). Osušene sjemenke su se koristile za mehaničku ekstrakciju ulja, odnosno za hladno prešanje. Prinos je iznosio 15 % (Lucarini i sur., 2018).

Vijčana preša se sastoji od lijevka za punjenje kroz koji sjemenke ulaze u kompresijsku komoru. U komori rotirajući vijak gura sjemenke naprijed u smjeru paralelnom s uzdužnom osi. Brzina gibanja sjemenki ovisi o usponu i brzini vrtnje vijka. Sjemenke se gibaju prema kraju komore gdje se nalazi prepreka, najčešće konusni prsten i sjemenke se na taj način postupno komprimiraju. Skokovitim ili postepenim povećanjem promjera vijka se smanjuje prostor za zrak između vijka i kućišta i dolazi do komprimiranja. Postepeno se povećava pritisak, sjemenke se gnječe, a ulje izlazi iz preše kroz otvore koji se nalaze na kraju kućišta. Kruti ostatak se i dalje giba u smjeru vijka, prolazi kroz konusni prsten i izlazi iz preše (Slika 5, Valjak, 2019).

Ulje dobiveno hladnim prešanjem sadrži visoke udjele polifenola i nema otapala (Lucarini i sur., 2018). Tijekom proizvodnje važno je obratiti pažnju na količinu vlage u sjemenkama, način sušenja i skladištenje sjemenki. Nusproizvod proizvodnje ulja je pogača koja se može koristiti u prehrambenoj industriji za proizvodnju brašna. Nakon prešanja se ulje puni u staklene boce i stavlja na tamno i hladno mjesto i provodi se taloženje i čišćenje. Taloženje se odvija oko 3 tjedna i potom se talog izdvaja iz ulja. Nakon taloženja se vrši filtracija kako bi se iz ulja uklonile nečistoće (Valjak, 2019).



Slika 3. Vijčana preša (Valjak, 2019)

Ako se tijekom proizvodnje vina, u prešu stavi 400 kg grožđa, dobije se oko 100 kg komine. Iz tih 100 kg komine se može dobiti samo 1 litra hladno prešanog ulja. Da bi se dobila vrhunska kvaliteta ulja, važno je da se sjemenke obrade unutar 24 sata kako ne bi došlo do kvarenja sirovine (Anonimus 2, 2021).

U Hrvatskoj postoji novi brend Dovo Dropo koji proizvodi hladno prešano ulje sjemenki grožđa (Slika 6). Pogon za proizvodnju je smješten u Istri, u selu Bibićima. Na početku projekta su ostvarili suradnju sa nekoliko istarskih vinara. Za ovakvu vrstu proizvodnje važno je da na jednom mjestu postoji puno vinarija, zbog puno sirovine, tj. komine za proizvodnju. Ovo je prvi pogon u Hrvatskoj za organiziranu proizvodnju ulja. Potrebna oprema je nabavljena pretežno od domaćih proizvođača, no ponešto i iz Njemačke i Italije. Važno je bilo uspostaviti dobru organizaciju kako bi tijekom berbe suradnja s vinarima bila brza, efikasna, bez zastoja, ali i da vinarima ne predstavlja opterećenje u vrijeme kada imaju najviše posla. Na stranim tržištima je ovo ulje poznato, no kod nas je potrebno educirati kupce o pozitivnim učincima ulja na ljudsko zdravlje te njegovoj primjeni u svakodnevnom životu. Proizvodnja Dovo Dropo ulja temelji se na konceptu "Lyfe cycle product" prema kojem se svi proizvodi iz prirode u potpunosti iskorištavaju bez nastajanja otpada. Dodatno, rade na razvoju brašna od prešanih sjemenki kako bi i njih iskoristili. Trenutno, pokožicu koja ostane nakon izdvajanja sjemenki šalju u bioplinska postrojenja za proizvodnju energije, ali plan je i pokožicu iskoristiti u svrhu

proizvodnje nekih drugih proizvoda. Od vinara se prikuplja komina čim napusti vinsku prešu i obrađuje se u roku od 24 sata. Sjemenke se odvajaju od pokožice i suše se u posebnim sušarama do niskog udjela vlage, oko 8 do 10 %. Ograničenja koja navode u proizvodnji jesu to da je proces logistički vrlo zahtjevan jer u kratkom roku treba prikupiti i procesirati puno komine za malo ulja. Drugi dio proizvodnje, prešanje sušenih sjemenki se može odraditi kasnije pa se može bolje isplanirati. Za pojedinačne vinare nije baš isplativo pokretati ovaj posao budući da sami pojedinačno nemaju dovoljne količine sirovine, odnosno komine, a ulaganje u opremu je skupo.

Ulja od crnih sorti imaju izraženiju vinsku notu, imaju fini intenzivni vinsko-orašasti okus te je idealan za prženje i pečenje jela od mesa, ribe i povrća, za pirjanje, dodatak crnom rižotu i za finiširanje steakova. Ulja od bijelih sorti imaju slabije izraženu vinsku notu i slabiji vinsko-orašasti okus. Općenito, ulja od crnih sorti grožđa imaju bolju kvalitetu od bijelih. Ima primjenu u pripremi majoneza baršunaste strukture, također koristi se u različitim umacima, preljevima, salatama i kao dodatak pripremi tijesta za focacciu, kruh ili pizzu. 0,1 L njihovog ulja košta 75 kn (Anonimus 1, 2021).



Slika 4. Ulje sjemenki grožđa hrvatskog brenda Dovo Dro Po (Anonimus 1, 2021)

6. Ostale metode ekstrakcije ulja sjemenki grožđa

U tradicionalne metode ekstrakcije ubrajamo Soxhletovu ekstrakciju. Tijekom te ekstrakcije dolazi do kuhanja, zagrijavanja i refluksiranja pa dolazi do gubitka polifenola zbog hidrolize, ionizacije i oksidacije tijekom procesa (Fontana i sur., 2013).

U Soxhlet ekstrakciji se kao otapalo za ulje koristi *n*-heksan koji nije selektivan te istovremeno uklanja voskove i nehlapljive pigmente (Dimić i sur., 2020). Vrlo je zapaljiv i ima štetne učinke na ljudsko zdravlje (Coelho i sur., 2018). Ovako dobiveni ekstrakti su onečišćeni tragovima otrovnih otapala te su viskozni i tamni (Dimić i sur., 2020). Maksimalni prinos ekstrakcije kojeg su dobili Coelho i suradnici (2018) bio je 12,3 %. Zbog visoke potrošnje otapala, dugog ekstrakcijskog vremena te s ciljem poboljšanja prinosa i kvalitete ekstrakta se sve više koristi ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (UAE) (Da Porto i sur., 2013).

Ako usporedimo metodu hladnog prešanja i metode s otapalom, hladno prešanje daje proizvod dobre kvalitete, ali ima niže prinose. Ekstrakcija s otapalom daje više prinose, no potrebno je destilacijom ukloniti otapalo pa može doći do razgradnje termolabilnih komponentni (Duba i Fiori, 2015).

Kod mnogih suvremenih metoda ekstrakcije nema negativnog utjecaja toplinske razgradnje, troši se manje energije i minimizira se ili čak izbjegava upotreba organskih otapala. Također, suvremene metode skraćuju vrijeme obrade, povećavaju proces prijenosa mase, smanjuju temperaturu, povećavaju prinos ekstrakcije te daju visokokvalitetne ekstrakte. Ekstrakcije potpomognute ultrazvučnom, mikrovalnom ili visokotlačnom obradom su metode za dobivanje ulja sjemenki grožđa sa više ekstrahiranih antioksidansa iz sjemenki grožđa (Dimić i sur., 2020).

Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (UAE) se temelji na fenomenu akustične kavitacije. Tijekom ultrazvučnog tretmana dolazi do stvaranja mjehurića te dolazi do povećanja temperature i tlaka i njihovog naknadnog kolapsa (Kalli i sur., 2018). Kolaps kavitacijskih mjehurića u blizini staničnih stijenki uzrokuje razaranje stanice i bolji ulazak otapala (Da Porto i sur., 2013). Valovi mogu prolaziti kroz medij i pritom dolazi do ekspanzije i kompresije (Kalli i sur., 2018). Širenjem ultrazvučnih valova dolazi do razbijanja staničnih stijenki. Samim time se olakšava prodor otapala u biljne materijale, ali i ispuštanje polifenolnih spojeva pa se na taj način povećava prinos ekstrakcije (Kalli i sur., 2018; Dimić i sur., 2020). Što je veća snaga ultrazvuka, veći su i prinosi ekstrakcije (Kalli i sur., 2018). Porastom snage sa 50 na 150 W, prinos je porastao 11,42 na 14,08 % w/w. Što je veća amplituda ultrazvučnog vala koji putuje

kroz tekući medij, nastane više mjehurića, jače kolabiraju i uzrokuju pucanje tkiva te dolazi do poboljšanja ekstrakcije (Da Porto i sur., 2013). U odnosu na konvencionalnu metodu, ova metoda daje bolje prinose, koncentriraniji ekstrakt i proizvod poboljšane kvalitete (Kalli i sur., 2018; Lucarini i sur., 2018). Prednosti ove metode su pojačavanje prijenosa mase, poboljšano prodiranje otapala u tkivo biljke i kapilarni efekt. Svi ovi procesi olakšavaju ulazak otapala u biljne stanice (Da Porto i sur., 2013). Proces traje kraće i provodi se pri nižim temperaturama što je bitno za očuvanje termolabilnih spojeva (Kalli i sur., 2018; Lucarini i sur., 2018). Korištenjem 150 W 30 min povećava prinos do 14 % što je jednako kada se primjenjuje Soxhlet ekstrakcija 6 sati pri 70 °C. Primjenom ultrazvuka sastav masnih kiselina i polifenola u ulju je gotovo nepromijenjen (Da Porto i sur., 2013).

Ekstrakcija uz pomoć mikrovalovalova (MAE) koji su neionizirajući, elektromagnetski valovi s frekvencijom između 300 MHz i 300 GHz. Elektromagnetski valovi se transformiraju u toplinsku energiju te dolazi do zagrijavanja matrice iznutra i izvana bez toplinskog gradijenta, a zbog zagrijavanja se oštećuje stanična stijenka biljne matrice. Zbog nastalog oštećenja dolazi do istjecanja spojeva u medij za ekstrakciju (Dimić i sur., 2020). Smanjenjem veličine čestica komine se povećava dodirna površina između otapala i komine pa se povećava i učinkovitost ekstrakcije. Prednosti ove metode jesu poboljšani prinosi ekstrakcije, smanjeno vrijeme trajanja ekstrakcije i manja potrošnja otapala. Dodatno, proces je jeftiniji i jednostavniji (Kalli i sur., 2018). Na ovaj način se mogu vrlo dobro ekstrahirati biološki aktivne tvari koje imaju antioksidacijska svojstva iz sjemenki grožđa (Dimić i sur., 2020).

Superkrična tekućinska ekstrakcija (SFE) daje prinose koji su usporedivi sa konvencionalnom metodom (Dimić i sur., 2020). Ovaj se postupak sastoji od dva koraka. Prvi korak je ekstrakcija topljivih tvari iz čvrstog matriksa pomoću superkričnog otapala. Drugi korak je separacija ekstrahiranih spojeva iz superkričnog otapala nakon ekspanzije. Na početku ekstrakcije čvrsti matriks apsorbira superkrično otapalo i dolazi do proširenja staničnih struktura. Time se olakšava tok otapala kroz uzorak smanjujući otpor prijenosu mase, a topljive komponente su otopljene u otapalu i difuzijom se prenose na čvrstu površinu. Na kraju procesa se spojevi prenose otapalom i uklanjaju iz ekstraktora. Da bi se razvio učinkoviti proces, više se čimbenika mora uzeti u obzir, a to su priprema uzorka, odabir superkričnog fluida, korištenje modifikatora i uvjeti reakcije (Fontana i sur., 2013). Superkrične tekućine imaju viskoznost i difuzivnost slično plinovima (Bordiga i sur., 2019) te gustoću i snagu otapanja poput tekućina (Kalli i sur., 2018; Dimić i sur., 2020). Baš iz tih razloga su superkrične tekućine otapala koja se mogu koristiti u industriji za proizvodnju termolabilnih visokovrijednih proizvoda (Coelho i sur., 2018). Posebno se ovo odnosi na CO₂, jer je jeftino,

netoksično, zeleno, nezapaljivo otapalo i vrlo je visoke čistoće, nema okusa ni mirisa te ima GRAS status (Jokić i sur., 2016). Kritični tlak mu je 73 bara, a temperatura 31 °C što je vrlo važno za očuvanje bioaktivnih spojeva u ekstraktima. Njegovim korištenjem se smanjuju ukupni energetske troškovi budući da se može ponovno koristiti u preradi. U potpunosti se može ukloniti smanjenjem tlaka pa ostaci otapala ne ostaju u konačnom proizvodu (Kalli i sur., 2018; Dimić i sur., 2020). Zbog svega gore navedenog ekstrakcija s nadkritičnim CO₂ je metoda koja se koristi u industrijskim razmjerima za ekstrakciju proizvoda visoke vrijednosti iz prirodnih materijala (Kalli i sur., 2018).

Na prinos i sastav ekstrakta najviše utječu tri čimbenika, a to su tlak, temperatura i brzina protoka CO₂. Gustoća CO₂ se mijenja ovisno o temperaturi i tlaku. U kritičnoj regiji, male promjene tlaka i temperature uzrokuju velike promjene u gustoći CO₂, a ekstrakcijska moć CO₂ je određena gustoćom. Dakle, povećanjem gustoće se povećava i prinos procesa. Primjenom intenzivnog pritiska se povećava snaga otapala CO₂ i postižu se visoki prinosi, ali u isto vrijeme i rastu operativni troškovi. Pri konstantnoj temperaturi, porastom tlaka raste i gustoća nadkritičnog CO₂ pa se povećava i njegova moć otapanja te je posljedično i prinos veći. Što je veći tlak pri kojem se ekstrahira ulje, veća je i antioksidacijska aktivnost ulja. Porastom tlaka do 350 bara značajno raste antioksidacijska aktivnost ulja dok daljnjim porastom dolazi do pada antioksidacijske aktivnosti (Jokić i sur., 2016). Dakle, povećanjem tlaka se povećava prinos ulja, udio ekstrahiranih polifenola i antioksidacijski kapacitet. Utjecaj temperature na proces ekstrakcije je vrlo složen. Temperatura nema značajan utjecaj na prinos ulja, ali porastom temperature raste antioksidacijska aktivnost. Pri niskim tlakovima (20 MPa), viši prinos se postiže pri nižim temperaturama -313 K. Ako tlak poraste na 30 do 40 MPa onda je utjecaj temperature na prinos neznatan (Coelho i sur., 2018). Kako raste temperatura od 75 do 104 °C tako raste i prinos, a porastom temperature iznad 104 °C dolazi do pada prinosa. Što se tiče sastava polifenola, pri 120 °C je najmanje ekstrahiranih polifenola. To se može objasniti ili degradacijom polifenola ili njihovoj slabij topljivosti pri toj temperaturi. Porastom protoka sa 5 na 17 kg CO₂/h prinos raste sa 5,7 na 17,2 %. Također i sastav ulja ovisi o protoku (Rombaut i sur., 2014). Prema Coelho i suradnicima (2018) maksimalni prinos ulja ovom metodom bili su od 12 do 12,7 % osim ekstrakcije koja je provedena pri tlaku nižem od 20 MPa. Prinosi dobiveni u ovom istraživanju se slažu sa prinosima koje su dobili drugi autori. Još neki važni čimbenici koji utječu na prinos su podrijetlo i predtretman sjemenki grožđa. Prinos raste smanjenjem veličina mljevenih čestica sjemenki grožđa odnosno, mljevenjem čestica se ubrzava proces ekstrakcije. Što je manja veličina čestica, veća je dodirna površina i više je ulja na površini te je i prinos veći. No, ako su čestice premale dolazi do smanjenja

prinosa i gubitka učinkovitosti. S druge strane, zbog mljevenja se povećavaju troškovi proizvodnje. S obzirom da bi različita veličina čestica mogla utjecati na prinos, veličine čestice su održavane konstantnima. Što se tiče sorte grožđa, različite sorte iz iste regije Italije su podvrgnute istom tlaku i temperaturi te su dobiveni prinosi od 9 do 16 % (Jokić i sur., 2016).

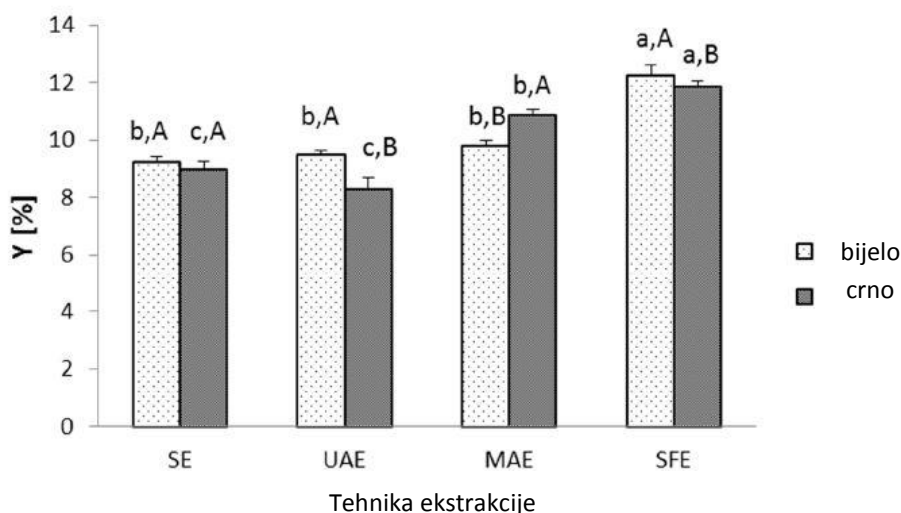
U odnosu na ekstrakciju s *n*-heksanom, zabilježene su veće koncentracije dinezasićenih masnih kiselina, ali iste razine mononezasićenih masnih kiselina (Coelho i sur., 2018). Jokić i suradnici (2016) su nakon istraživanja došli do zaključka kako su optimalni ekstrakcijski uvjeti za dobivanje ulja, tlak od 400 bara i temperatura od 41 °C, a pri tim uvjetima prinos ulja iznosi 14,49 %, a antioksidacijska vrijednost 37,06 %. Ova metoda je trenutno ekološki prihvatljiva alternativa konvencionalnoj industrijskoj ekstrakciji s otapalom, jer ima smanjeni utjecaj na okoliš (Bordiga i sur., 2019). Prednosti ove metode su što se ne koriste velike količine organskog otapala te je brza i automatizirana. Također, smanjena je oksidacija i procesi razgradnje budući da tijekom procesa nema svjetlosti i zraka. S druge strane, nedostatak metode je otežano ekstrahiranje polarnih spojeva i spojeva iz kompleksa matrice (Kalli i sur., 2018). SFE daje bolje rezultate u ekstrakciji nepolarnih spojeva poput masnih kiselina i u mogućnosti je ekstrahirati neke važne spojeve koji se ne mogu detektirati u konvencionalnim ekstraktima (Fontana i sur., 2013). Također, ulja dobivena ovom metodom odlikuju se kvalitetom sličnom onom koja se dobije mehaničkim prešanjem. Dodatkom modifikatora nadkritičnom fluidu, poput metanola, može se mijenjati njegova polarnost i dobiti veća selektivna snaga ekstrakcije. Dodatkom 3 % metanola u ekstrakcijski sustav se povećava prinos SFE ekstrakcije (Fontana i sur., 2013). Važno je da u ulju bude što niži udio vode, jer doprinosi hidrolizi ulja tijekom procesiranja pa nastaju slobodne masne kiseline i proizvodi glicerola. Niska koncentracija slobodnih masnih kiselina i vode je važna da bi kvaliteta ulja bila visoka i da bi se ulje moglo skladištiti. U ulju dobivenog ovom metodom je viša razina polifenola nego kod ulja dobivenog vijčanim prešanjem. Ulje dobiveno ovom metodom je žuto-zelene boje te ima karakterističnu aromu, a može se koristiti kao prehrambeni proizvod te u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Jokić i sur., 2016).

Kod SFE metode se ekstraktor sastoji od šupljeg cilindra koji je zatvoren sa obje strane sa metalnim poklopcem. Gornji je zadužen za ravnomjernu raspodjelu otapala, a donji je potpora krutim česticama i služi kao filter medij. Supstrat je stacionaran i u obliku samljevenih čestica. Kroz supstrat prema dolje prolazi CO₂ dok se čvrsta tvar ne iskoristi do kraja. Za dobro provođenje ekstrakcije se moraju odabrati vrijednosti tlaka, temperature, brzine protoka CO₂, veličina čestica, omjer duljine i promjera ekstraktora, stupanj sabijanja sloja mljevenih čestica, popunjava li se ekstraktor do kraja ili se ostavlja praznog mjesta (Duba i Fiori, 2015).

Razvijena je još jedna metoda s ciljem smanjenja energetske troškova. To je mehanička ekstrakcija potpomognuta plinom (GAME). Princip metode se bazira na djelomičnom istiskivanju ulja pomoću CO₂ tijekom prešanja. Na taj način se povećava prinos ulja. Što se tiče samog postupka obrade, prvi korak je kondicioniranje sjemenki u nadkritičnom CO₂. Drugi korak je ekstrakcija ulja jednoosnom kompresijom. Industrijalizacija ovog procesa bi se postigla korištenjem stalnog protoka CO₂. Mehanički tlak koji se koristi u ovoj metodi ne utječe na sastav polifenola (Rombaut i sur., 2014).

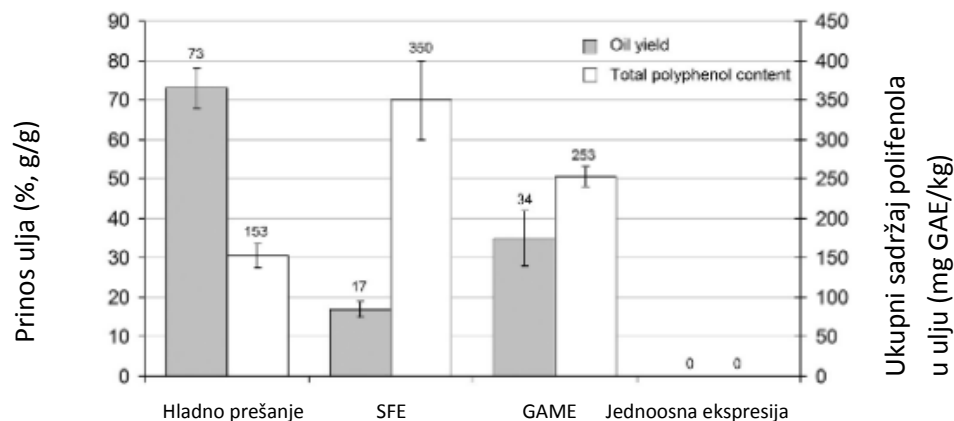
Tijekom proizvodnje ulja važno je odabrati odgovarajuću metode ekstrakcije. Optimalna metoda je ona koja daje maksimalne prinose ciljanih spojeva (Lucarini i sur., 2018). Prinos ulja ovisi o tehnici i uvjetima ekstrakcije, vrsti otapala, sorti grožđa i okolišnim uvjetima. U literaturi se prinosi kreću u rangu od 3,95 do 16,6 % (Duba i Fiori, 2015).

Od svih gore nabrojanih metoda, ekstrakcija s nadkritičnim CO₂ (SFE) je dala najveće prinose (12,23 % za sjemenke crnog i 11,86 % za sjemenke bijelog grožđa). MAE daje dobre prinose ekstrakcije te ima prednost nad Soxhlet ekstrakcijom zbog smanjenog vremena ekstrakcije i mogućnosti provođenja metode pri nižim temperaturama čime se sprječava razgradnja termolabilnih spojeva (Slika 7, Dimić i sur., 2020).



Slika 5. Ukupni prinosi za različite metode ekstrakcije (različita mala slova označavaju razliku $p \leq 0,05$) između tehnika ekstrakcije, a različita velika slova označavaju značajnu razliku između sjemenki crnog i bijelog grožđa (Dimić i sur., 2020)

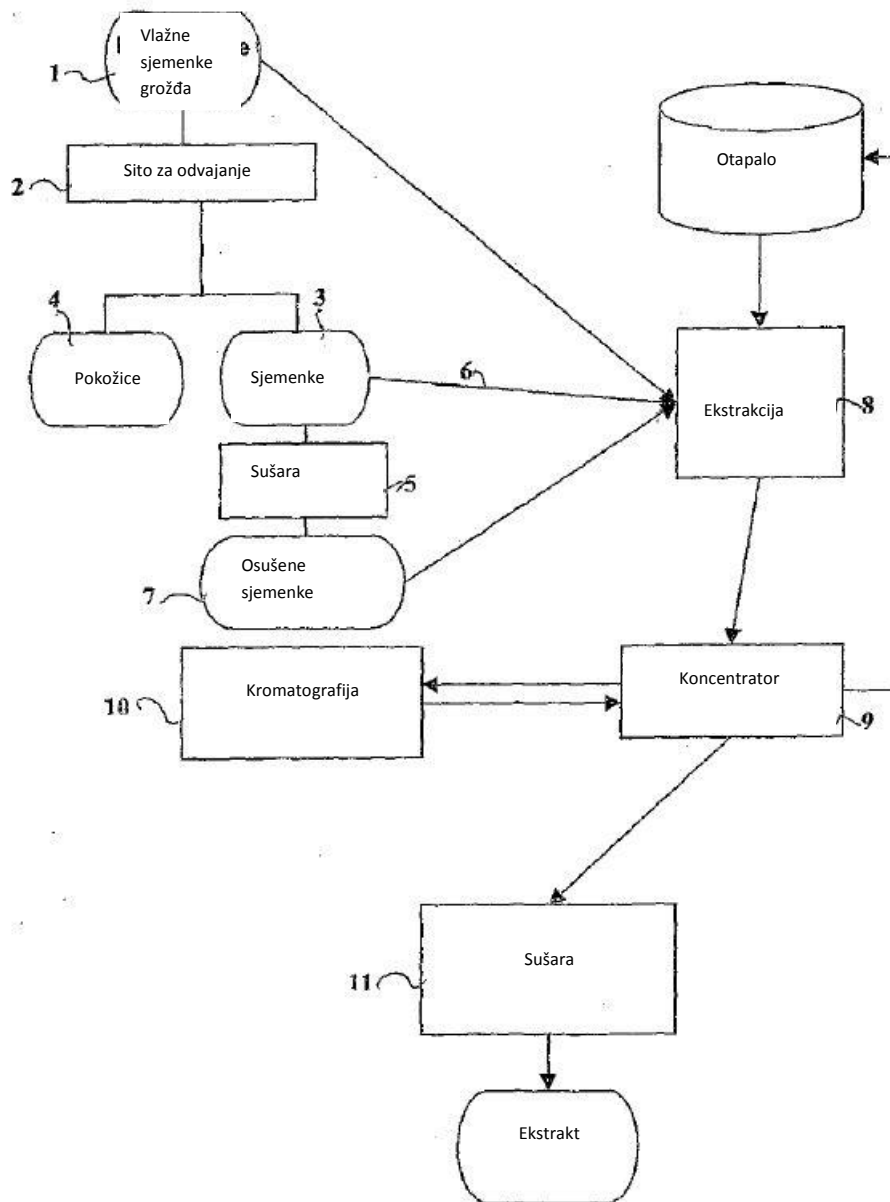
Na Slici 8. prikazana je usporedba prinosa i ukupnog sadržaja polifenola u uljima dobivenim hladnim prešanjem, SFE metodom i GAME metodom (Rombaut i sur., 2014).



Slika 6. Usporedba prinosa i ukupnog sadržaja polifenola u uljima dobivenim hladnim prešanjem, SFE metodom i GAME metodom (Rombaut i sur., 2014)

Kao što je već spomenuto, primijenjena tehnologija ekstrakcije snažno utječe na kvalitetu i kvantitetu konačnog proizvoda. Neki važni čimbenici kod ekstrakcije polifenola su temperatura i promjena pH, ali i mnogi drugi. Kako bi se ekstrahirala većina flavonoida iz sjemenki grožđa, primijenjena metoda mora omogućavati vrlo preciznu separaciju, pogotovo ako se trebaju izdvojiti pojedinačne grupe molekula. Razvijeno je nekoliko patenata za ekstrakciju polifenola iz sjemenki grožđa, a jedan od najboljih je onaj kojeg u svom radu opisuju Angeletti i suradnici (2005). S jedne strane omogućuje selektivnu ekstrakciju polifenola, a s druge strane uklanja većinu monomera koji imaju neželjena svojstva. Dobiveni ekstrakt je bogat procijanidnim oligomerima. Tijekom procesa se kao primarna otapala koriste metanol i aceton te metilenklorid, diklormetan i etilacetat. Nažalost, ovaj patent ima i svoje mane. Zbog korištenja otapala ne dolazi do ekstrakcije brojnih važnih proantocijanida te je sama procedura vrlo dugotrajna jer se sastoji od nekoliko koraka (npr. filtracija i inkubacija). Dodatni problemi su korištenje kancerogenih kloriranih otapala, ali i činjenica da potpuno uklanjanje metanola, acetata ili acetona nije moguće bez tvorbe azeotropne smjese. Na početku ekstrakcijskih procesa komina sadržava sjemenke i pokožicu koji se odvođe u dealkoholizator u kojem se uklanja alkohol. Potom se šalje u sušaru gdje se suši do razine vlažnosti od 4% i zatim ide na

sito gdje se odvajaju sjemenke od pokožice. Tijekom sušenja može doći do porasta monomernih frakcija što je još jedna mana procesa. Kako bi se smanjili troškovi i vrijeme procesa, sušenje se provodi pri visokim temperaturama kroz kratko vrijeme. Kako bi se riješili ti problemi, osmišljen je novi patent. Osnovni princip jest da se sjemenke i pokožica razdvoje odmah nakon prerade grožđa prije nego li dođe do fermentacije, jer se fermentacijom mogu smanjiti razine polifenola. Dodatnu prednost predstavlja činjenica da onda nije potreban korak dealkoholiziranja i preventivnog sušenja. Na taj način, dobije se ekstrakt koji ima visok udio polifenola i nizak sadržaj monomernih spojeva pa se taj patent koristi za proizvodnju ulja sjemenki. Proces počinje tako što se komina grožđa razdvoji na osnovne komponente (sjemenke i pokožicu), za to se koristi jedno- ili višefazno tresući separator ili uređaj za separaciju sjemenki. Sjemenke prolaze kroz sušaru na vrući zrak pri temperaturi između 30 i 120 °C, sve dok razina vlage ne bude između 2 i 30%. Smanjenjem udjela vlage se zapravo sprječava rast bakterija, plijesni i drugih mikroba koji mogu dovesti do fermentacije ili degradacije proizvoda. Sjemenke se potom tretiraju smjesom vode i etanola (maseni omjer je 30:70). Ekstrakcija se provodi u atmosferi s niskim udjelom kisika i pod pritiskom. Potom se sjemenke odvajaju filterima, a tekuća faza se koncentrira kako bi se uklonio alkohol. Vodena faza koja sadržava osnovni ekstrakt se stavlja u sušaru s raspršivanjem i dobije se primarni proizvod koji ima manje od 35% polifenola. Može se pročistiti na smolama, HP-20 Supelco i potom eluirati sa 70%-tnim alkoholom. Dobivena koncentrirana tekućina se stavlja u sušnicu s raspršivanjem i konačno se dobije proizvod sa više od 70 % polifenola. Sjemenke dobivene ovim procesom se koriste u proizvodnji ulja sjemenki grožđa (Slika 9.) (Angeletti i Sparapani, 2005).



Slika 7. Proces ekstrakcije (Angeletti i Sparapani, 2005)

U posljednje vrijeme se sve više istraživanja bavi temom iskorištavanja groždane komine u svrhu proizvodnje proizvoda visoke vrijednosti. Iako je komina zapravo otpad koji nastane tijekom proizvodnje vina, bogata je bioaktivnim spojevima pa se smatra vrijednom sirovinom. Njeno zbrinjavanje je zapravo ekološki i ekonomski problem, a do sada se većinom koristila kao gnojivo. S obzirom da je grožđe najznačajnija voćarska kultura u svijetu te se proizvode velike količine komine, njeno iskorištavanje je vrlo bitno (Kalli i sur., 2018).

Više je metoda kojima se može dobiti ulje. Metoda hladnog prešanja je metoda koja ima niz prednosti i ona se najviše koristi. Prilikom hladnog prešanja nema kemijske i toplinske obrade pa nema razgradnje polifenola i konačni proizvod je dobre kvalitete. Također, nema ostatka otapala pa je proizvod siguran. Posljednjih nekoliko godina istražuju se nove tehnike dobivanja ulja. Svrha istraživanja je razviti ekonomski isplative tehnike, ali i tehnike koje će davati ulje vrhunske kvalitete. S obzirom da se ljudi sve više okreću korištenju prirodnih proizvoda, važno je da nove metode imaju smanjeni utjecaj na okoliš i da ulju budu u potpunosti sigurna za ljudsku upotrebu, bez tragova otrovnih otapala i slično.

Ako se gledaju hladno prešana ulja, ulje sjemenki grožđa je među prvima po udjelu nezasićenih masnih kiselina. Isto tako, sadrži velike količine polifenola. Provedeno je više istraživanja u kojem su potvrđena hepatoprotektivna, antikancerogena, protuupalna, antidijabetička, kardioprotektivna, antimikrobna i neuroprotektivna svojstva proizvedenih ulja (Kalli i sur., 2018; Manca i sur., 2020).

Buduća istraživanja bi trebala biti usmjerena ka razvoju postojećih metoda s ciljem dobivanja visokih prinosa ulja te dobivanja ulja koja su bogata polifenolima i nezasićenim masnim kiselinama.

Na inozemnom tržištu je korištenje ovog ulja sve popularnije dok je u Hrvatskoj njegovo korištenje na slaboj razini, iako ono ima više primjena. Može se koristiti u prehrambenoj industriji i kulinarstvu, ali i kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji te medicini. S obzirom da je u Hrvatskoj proizvodnja ulja i dalje nerazvijena i nepoznata, a proizvodnja vina je raširena po mnogim dijelovima kontinentalne i primorske Hrvatske, trebalo bi ulagati u razvoj proizvodnje ulja na određenim vinorodnim područjima koja su od interesa za vinare zbog veličine vinarija i količine proizvodnje vina. Komina je lako dostupna i jeftina sirovina, a ulje je skup i kvalitetan proizvod. Pojedinačni vinari u Hrvatskoj bi teško mogli pokrenuti ovakvu proizvodnju budući da su potrebne velike količine komine, no njihovim udruživanjem bi to bilo isplativo. No, osim razvoja proizvodnje, potrebno je i educirati ljude o pozitivnim učincima na ljudsko zdravlje i mogućnosti korištenja ulja. U Hrvatskoj su se četiri vinara entuzijasta iz istarskog gradića Bibića udružili te su izgradili vlastiti pogon za proizvodnju hladno prešanog ulja iz sjemenki grožđa kojeg skupljaju i od ostalih vinara tog područja.

7. Zaključci

- Groždana komina je otpad iz kojeg se može proizvesti proizvod visoke vrijednosti poput ulja koje je bogato polifenolima, polinezasićenim i mononezasićenim masnim kiselinama i vitaminom E.
- Ulje iz sjemenki grožđa zbog svojih antikancerogenih, hepatoprotektivnih, protuupalnih, antidijabetičkih, kardioprotektivnih, antimikrobnih i neuroprotektivnih svojstava ima primjenu u medicini te farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.
- U Hrvatskoj je proizvodnja takvog ulja tek u začetku.
- Metoda hladnog prešanja pokazala se najboljom i najčešće korištenom metodom za proizvodnju kvalitetnog i zdravstveno sigurnog ulja.
- U posljednje vrijeme se u svijetu ubrzano razvijaju postojeće metode s visokim prinosima ulja bogatim polifenolima i nezasićenim masnim kiselinama.

9. Popis literature

Angeletti M., Sparapani L. (2005) Process for producing a grape seed extract having a low content of monomeric polyphenols. *PCT Int. Appl.* No. WO2005036988A1

Anonimus 1, (2021) <https://www.fitzona.hr/p/ulje-sjemenki-grozda/204/?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_term=ulje%20od%20sjemenki%20gro%C5%BE%C4%91a&utm_content=!acq!v3!38815172765_kwd-60022933851_183294992545_g_c_&utm_campaign=Hladno+Pre%C5%A1ana+Ulja&gclid=CjwKCAjw6vvoBRBtEiwAZq-T1bw-Cx9PG0dcbXHKSffK5S7DvcgnQQ-x08TYDW4qrhnsd71iv8IV3RoCqe4QAvD_BwE> Fit zona, Pristupljeno 5.6.2021.

Anonimus 2, (2021) <<https://www.novolist.hr/life/jeste-li-probali-hladno-presano-ulje-sjemenki-grozda-otkrivamo-gdje-i-kako-ono-nastaje-kod-nas/>> Novi list, Pristupljeno 7.6.2021.

Barba F.J., Zhu Z.Z., Koubaa M., Sant'Ana A.S., Orlie V. (2016) Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 49, 96–109.

Bordiga M., Travaglia F., Locatelli M., Arlorio M., Coisson J.D. (2015) Spent grape pomace as a still potential by-product. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50, 2022–2031.

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.

Coelho J.P., Filipe R.M., Robalo M.P., Stateva R.P. (2018) Recovering value from organic waste materials: Supercritical fluid extraction of oil from industrial grape seeds. *J. Supercrit. Fluids* 141, 68–77.

Da Porto C., Porretto E., Decorti D. (2013) Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera L.*) seeds. *Ultrason. Sonochemistry* 20, 1076–1080.

Duba K.S., Fiori L. (2015) Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics. *J. Supercrit. Fluids* 98, 33–43.

Dwyer K., Hosseinian F., Rod M. (2014) The market potential of grape waste alternatives. *J. Food Res.* 3, 91-106.

Dimić I., Teslić N., Putnik P., Bursać Kovačević D., Zeković Z., Šojić B., Mrkonjić Ž., Čolović D., Montesano D., Pavlić B. (2020) Innovative and conventional valorizations of grape seeds from winery by-products as sustainable source of lipophilic antioxidants. *Antioxidants* 9(7), 568-572.

Fontana A.R., Antonioli A., Bottini R. (2013) Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 61, 8987-9003.

Gupta M., Dey S., Marbaniang D., Pal P., Ray S., Mazumder B. (2019) Grape seed extract: Having a potential health benefits. *J. Food Sci. Technol.* 57, 1205–1215.

Jokić S., Bijuk M., Aladić K., Bilić M., Molnar M. (2016) Optimisation of supercritical CO₂ extraction of grape seed oil using response surface methodology. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 403–410.

Kalli E., Lappa I., Bouchagier P.A., Tarantilis P., Skotti E. (2018) Novel application and industrial exploitation of winery by-products. *Bioresour. Bioprocess.* 5, 46-67.

Konuskan D.B., Kamiloglu O., Demirköser O. (2019) Fatty acid composition, total phenolic content and antioxidant activity of grape seed oils obtained by cold-pressed and solvent extraction. *Indian J. Pharm. Educ. Res.* 53, 144–150.

Lachman J., Hejtmánková A., Hejtmánková K., Horníčková Š., Pivec V., Skála O., Dedina M., Pribyl J. (2013) Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Ind. Crop. Prod.* 49, 445–453.

Lachman J., Hejtmánková A., Táborský J., Kotíková Z., Pivec V., Stralková R., Vollmannová A., Bojnanská T., Dedina M. (2015) Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *Lwt Food Sci. Technol.* 63, 620–625.

Lucarini M., Durazzo A., Romani A., Campo M., Lombardi-Boccia G., Cecchini F. (2018) Bio-based compounds from grape seeds: a bioraffinery approach. *Molecules* 23, 1888.

Mammadova S.M., Fataliyev H.K., Gadimova N.S., Aliyeva G.R., Tagiyev A.T., Baloglanova K.V. (2019) Production of functional products using grape processing residuals. *Food Sci. Tech.* 40, 422-428.

Manca M.L., Casula E., Marongiu F., Bacchetta G., Sarais G., Zaru M., Escribano-Ferrer E., Peris J.E., Usach I., Fais S., Scano A., Orrù G., Maroun R.G., Fadda A.M., Manconi M. (2020) From waste to health: sustainable exploitation of grape pomace seed extract to manufacture antioxidant, regenerative and prebiotic nanovesicles within circular economy. *Scientific reports*, 10, 14184.

Rombaut N., Savoie R., Thomasset B., Bélliard T., Castello J., Van Hecke É., Lanoisellé J.-L. (2014) Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. *C. R. Chim.* 17, 284–292.

Teixeira A., Baenas N., Dominguez-Perles R., Barros A., Rosa E., Moreno D.A., Garcia-Viguera C. (2014) Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 15638–15678.

Valjak, M. (2019) Proizvodnja hladno prešanog ulja iz sjemenki grožđa sorte Syrah. Završni rad. Veleučilište u Požegi.

Vanhanen L., Savage G.P. (2002) The potential of production of grape seed oil in New Zealand. [researchgate.net/publication/262451967_The_potential_for_production_of_grape_seed_oil_in_New_Zealand](https://www.researchgate.net/publication/262451967_The_potential_for_production_of_grape_seed_oil_in_New_Zealand)

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

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

Anita Galović

ime i prezime studenta