

PROIZVODNJA ULJA IZ SJEMENKI VINOVE LOZE NA OPG IVAN CMREČNJAK

Kranjčec, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Križevci college of agriculture / Visoko gospodarsko učilište u Križevcima**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:185:812526>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Križevci University of Applied Sciences](#)



REPUBLIKA HRVATSKA
VISOKO GOSPODARSKO UČILIŠTE U KRIŽEVCIMA

Ivana Kranjčec, studentica

PROIZVODNJA ULJA IZ SJEMENKI VINOVE LOZE NA
OPG IVAN CMREČNJAK

ZAVRŠNI RAD

Križevci, 2016.

REPUBLIKA HRVATSKA
VISOKO GOSPODARSKO UČILIŠTE U KRIŽEVCIMA

Preddiplomski stručni studij Poljoprivreda

Ivana Kranjčec, studentica

**PROIZVODNJA ULJA IZ SJEMENKI VINOVE LOZE NA
OPG IVAN CMREČNJAK**

ZAVRŠNI RAD

Povjerenstvo za obranu i ocjenu završnog rada:

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. Dr. sc. Ivka Kvaternjak, prof. v.š. | - Predsjednica povjerenstva |
| 2. Dragutin Kamenjak, dipl. ing., v. pred. | - Mentor i član povjerenstva |
| 3. Mr. sc. Vlado Kušec, v.pred. | - Član povjerenstva |

Križevci, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Struktura grozda	3
2.2. Kemijski sastav grožđa	3
2.2.1. Peteljka	3
2.2.2. Bobica.....	4
2.2.3.Sjemenka	5
2.2.4. Kožica.....	8
2.2.5. Meso	9
2.3. Komina	9
2.4. Ulje od sjemenki grožđa.....	11
2.4.1. Masne kiseline	11
2.4.2. Tokoferol	15
2.5. Ekstrakcija ulja sjemenki grožđa	18
2.5.1. Ekstrakcija otapalom heksanom	18
2.5.2. Ekstrakcija superkritičnim ugljičnim dioksidom (CO ₂)	19
2.5.3. Ekstrakcija hladnim tiještenjem	20
3. MATERIJALI I METODE	24
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	34
5. ZAKLJUČAK.....	38
6. LITERATURA	40
7. SAŽETAK.....	43

1. UVOD

Vinova loza (*Vitis vinifera L.*) autohtona je vrsta Europe i zapadne Azije. Svaka pojedina biljka vinove loze naziva se trs, panj, čokot, girica, a ponekad i drukčije. Trs ima nadzemne i podzemne organe kao i svaka druga biljka. Svaki od tih organa ima svoju zadaću, kao što je proizvodnja asimilata, usvajanje vode i mineralnih hranjiva, skladištenje hranjivih tvari, razmnožavanje. U vegetativne dijelove ubrajaju se korijen, stablo s krakovima i ograncima, pupovi mladice, rozgva i lišće. U generativne organe ubrajaju se cvijet, cvat, grozd, vitica, bobica i sjemenka. Na rast organa loze utječe niz čimbenika, a najvažniji su temperatura i vlažnost tla, opskrbljenost tla hranivima, podloga i sorta, agrotehnika, ampelotehnika. Od ukupno proizvedene količine grožđa u svijetu, dio od oko 25% potroši se u svježem stanju. Najviše stolnog grožđa proizvede se na azijskom kontinentu (oko 50%). Za proizvodnju sušenog grožđa kao i za sokove, marmeladu, ulja od sjemenki, antocijana, etanola, aroma, upotrijebi se tek 10% grožđa, dok se najveći dio grožđa u svijetu (oko 65%) preradi u vino. (Mirošević i sur., 2008.). Vinova loza jedna je od najopjevanijih biljaka, a mogućnost njenog iskorištenja u više svrha, njena hranidbena vrijednost te ljekovitost, poznati su još od davnina. Najpoznatiji proizvod ploda vinove loze je vino. Hrvatska je zemlja duge tradicije proizvodnje grožđa i vina, te predstavlja važan poljoprivredni sektor. Prema podacima iz Državnog zavoda za statistiku (DZS¹), u 2013. godini u Hrvatskoj je proizvedeno 90.000 tona (t) grožđa, odnosno 565.000 hl² vina i 18.000 t otpada u obliku vinske komine. Nepropisno odlaganje vinske komine može predstavljati rizik za okoliš ukoliko se komina ne tretira propisno, počevši od površinskih i dubinskih zagađenja pa do neugodnih mirisa koji se razvijaju tijekom njezina stajanja. Velike nakupine komine privlače štetočine i muhe te mogu dovesti do pojave i širenja raznih bolesti, a njeno zbrinjavanje vinarima predstavlja dodatno ekonomsko opterećenje. Zbog toga se sve više traže rješenja o kvalitetnom korištenju takvog otpada kako bi se dodatno povećala ekonomičnost proizvodnje, stvorila dodatna vrijednost, te u konačnosti smanjila količina otpada te vrste. Vinska komina kao nusprodukt kod proizvodnje vina osim peteljki i kožica sadrži i značajan postotak sjemenki i to 20-30%. Najveći broj sorata vinove loze ima (1-4) sjemenke, a samo manji broj (tzv. apyrene)³ su besjemene (Larrauri i sur., 1996.).

¹ DZS - Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske, Statistički ljetopis 2007., Zagreb

² hl - uobičajena mjerna jedinica u vinarstvu za fizikalnu veličinu obujam (hl je 102 litara ili 100 l)

³ Apyrene - (grč.), zajednički naziv za sorte vinove loze u bobicama kojih nema sjemenki

Izdvojene sjemenke iz vinske komine mogu se koristiti kao proteinski dodaci u prehrani životinja, pa i ljudi, u proizvodnji visoko vrijednog ulja, za dobivanje biognojiva, te kao biomasa za dobivanje energije.

Predmet ovog rada su sjemenke grožđa koje ostanu nakon primarne prerade grožđa, kao izvrsna sirovina za proizvodnju ulja, pri čemu je potrebno poznavati tehnologiju i postupke pri proizvodnji ulja.

Cilj završnog rada je predstaviti proizvodnju tog kvalitetnog ulja postupkom hladnog prešanja, te njegovu moguću primjenu u prehrambene, kozmetičke i mehaničke svrhe. Svrha rada je prikazati kako od nusprodukta koji se u većini vinarija tretira kao otpad koji ponekad može predstavljati i ozbiljno zagađenje tamo gdje se odlaže, dobiti na relativno jednostavan način visoko vrijedan proizvod ulje od sjemenki vinove loze. Postupkom hladnog prešanja, dobije se ulje koje obiluje vitaminom E, oligomernim proantocijanidima i esencijalnom masnom linolnom kiselinom, a njegova uporaba pridonosi povećanju kvalitete života potrošačima koji ga koriste.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Struktura grozda

Struktura grozda predstavlja postotni udio pojedinih dijelova grozda. Karakteristična je za svaku pojedinu sortu vinove loze, pa je ujedno i njeno ampelografsko i tehnološko obilježje. Pod utjecajem je klimatskih uvjeta i primijenjene agrotehnike, što utječe na prinos i kakvoću grozda. Struktura grozda je važna kod određenih tehnoloških postupaka u proizvodnji vina. Odnos između težine bobice i težine peteljke od velikog je značaja ne samo za randman već i za kemijski sastav mošta. Grozd vinove loze se sastoji od dva osnovna dijela: peteljke i bobice. Kod zdravog grozda u stadiju pune zrelosti na peteljku otpada 3 – 8 %, dok na bobice otpada 92 – 97 % od ukupne težine grozda. Grozd je iste građe kao cvat. Sastoji se od glavne osi i ogranaka, a završava sa peteljčicama koje nose bobice. Struktura i tip grozda različiti su ovisno o sorti. Tip grozda ovisi o duljini peteljčica. Ako su duge, bobice su razmaknute jedne od drugih te su grozdovi rastresiti, a ako peteljčice ostaju kratke grozdovi su zbijeni. Rastresiti grozdovi odlike su stolnog grožđa, dok vinske sorte imaju više zbijene grozdove (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

2.2. Kemijski sastav grožđa

2.2.1. Peteljka

Peteljka predstavlja skelet grozda. Sastoji se od osnovnog dijela koji se više ili manje grana. Završava sa peteljčicama koje nose cvijet, a nakon oplodnje i bobicu. Peteljčica se nastavlja u bobicu snopom zvanim metlica, sastavljenim od lika, a tim putem dolaze asimilati u bobicu. U toku vegetacije peteljka je zeljasta i kao takva provodi hranjive tvari, koje dolaze iz mladica i lišća u bobicu. Krajnji oblik peteljka postiže u fazi šare bobice, gubi klorofil ali ostaje zelena i nakon zriobe grožđa. Kod nekih sorata se oboji. U stadiju pune zrelosti grožđa peteljka je više ili manje lignificirana što otežava njeno odvajanje od izboja. Udio peteljke u grozdu vinskih sorata kreće se između 2 - 8 %, dok kod stolnih sorata može biti i 1.5 %. Takav odnos peteljke prema bobicama u grozdu može imati utjecaja na randman mošta i vina. Sorte s manjom zastupljenošću peteljke u grozdu imaju veći randman i obrnuto. Po kemijskom sastavu peteljka je slična listu i vitici vinove loze. Važna je ne samo za randman mošta već i za kemijski sastav vina. Siromašna je šećerom i ne sadrži više od 10 grama šećera na kg peteljke. Na mineralni dio otpada 5 – 6 % suhe tvari, dok kalij čini polovinu toga.

Peteljka se odlikuje niskom realnom kiselošću, čija se vrijednost pH kreće iznad 4. Kod vinifikacije crnih vina, maceracijom masulja s peteljkom, dolazi do smanjenja kiselosti.

Peteljka je bogata polifenolima, naročito kod crnih sorata. Ako se tijekom prerade peteljka ne odvajaju, ukupna količina polifenola u budućem vinu, osobito tanina, može biti povećana i do 25 %. Najzastupljeniji polifenol leukocijanidol, ekstrahiran iz peteljke bijelog grožđa značajan je i za formiranje okusa. Do 1/3 ukupnog leukocijanidola u crnim vinima potječe iz dodane peteljke u maceraciji masulja. Vrlo važan sastojak peteljke su i tanini. Najznačajniji predstavnici zelenih tanina su procijanidini iz skupine leukoantocijana čije su molekule više ili manje polimerizirane. Stupanj polimerizacije vezuje se uz gorčinu, koja ima velik utjecaj na okus budućeg vina. Ovakvim kemijskim sastavom peteljka može imati velikog utjecaja na kvalitetu vina. Korištenjem strojeva za preradu grožđa koji lome i gnječi peteljku, kao i pri fermentaciji mošta u kojem se nalazi izlomljena peteljka, pojedine tvari u većoj ili manjoj mjeri prelaze u vino. Ovakva vina su na okus opora, zelena i gorka. Zato se pri preradi grožđa vodi računa da se što manje oštećuje peteljka (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

2.2.2. Bobica

Glavni dio grozda čini bobica kao plod vinove loze, dok je grozd zapravo skup plodova. U toku vegetacije bobica je kod većine sorata zelene boje i obavlja proces fotosinteze. Sa pojavom šare zelena se boja gubi i prelazi u zeleno žutu, crvenkastu ili tamno crvenu, čiji intenzitet postaje sve jači prema periodu pune zrelosti. Osim po obliku, veličini i boji bobica, pojedine se sorte međusobno razlikuju i po krupnoći svojih bobica kao i po većoj ili manjoj zbijenosti na grozdu. Od značaja je i čvrstoća bobica koja ovisi o debljini kožice. Sorte sa debljom kožicom podnose bolji transport. Osim čvrstoće bobice važno svojstvo je i otkidanje bobice sa peteljke. Rast bobice traje od završene oplodnje pa do fiziološke zrelosti, tj. kad su sjemenke sposobne za klijanje. Težina bobice u grozdu se povećava u toku vegetacije i dostiže najveću vrijednost u punoj zrelosti, kada čini 92 – 97 % težine grozda. Poslije ove faze odnos se mijenja, jer se prestankom dotoka hranjivih tvari kroz odrvenjelu peteljku izvjestan dio vode gubi isparavanjem, a samim time smanjuje se i težina bobice. Ovakvo grožđe koristimo kod izbornih berbi. Do promjena u odnosu između težine bobice i peteljke može doći uslijed većeg priliva vode, naročito u fazi pune zrelosti grožđa kao i elementarnih nepogoda, primjerice tuče.

Posebnu pažnju zaslužuje pojava različitih plijesni na grožđu, kao što je siva plijesan (*Botrytis cinerea*)⁴. Bobicu čine sjemenke, kožica i meso sa grožđanim sokom. Količinski odnos navedenih dijelova bobice različit je za različite sorte, ali ima razlika i kod iste sorte, npr. ovisno o vremenskim prilikama naročito u doba cvatnje, oplodnje, razvoja i dozrijevanja bobica (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

2.2.3.Sjemenka

Najveći

dio sastojaka u sjemenki su rezervni sastojci potrebni za ishranu klice, a značajni su i za tehnologiju vina (tablica 1. i 2.). Sjemenka se sastoji od masne jezgre, koju okružuje drvena ljuska prekrivena taninskom kutikulom. Prešani kom sadrži 20 do 30 % sjemenki. Osim vode i ugljikohidrata, od kojih ima najviše celuloze, u kemijskom sastavu sjemenke ima potom najviše eteričnog ulja do prosječno 16 %. Ulje sadrži 65 – 70 % linoleinske kiseline i 0,1 % tokoferola. Na 1 hl vina može se otapalima iz sjemenki ekstrahirati 0.5 l ulja, a koristi se u proizvodnji kozmetičkih preparata i za podmazivanje preciznih strojeva. Najviše tanina, od svih čvrstih dijelova grozda, nalazi se u sjemenki. Sazrijevanjem grožđa sadržaj taninskih spojeva opada. Locirani su u vanjskom dijelu sjemenke (taninska kutikula) i lako prelaze u vino tijekom maceracije. Tehnološki postupak proizvodnje vina (osobito kod crvenih, dužinom maceracije i vrenja masulja) utječe na njihovu ekstrakciju.

Tablica 1: Prosječni kemijski sastav sjemenke loze

SASTOJCI	u 100 g
Voda	25-45
Ugljikohidrati	34-36
Ulja	13-20
Tanini	4-6
Dušični spojevi	4-6.5
Minerali	2-4
Masne kiseline	1

Izvor: Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.

⁴ Siva plijesan (*Botrytis cinerea*)- bolest koja se pojavljuje naročito pred berbu, izazivajući sivu trulež bobica odnosno čitavih grozdova. Može se pojaviti i ranije, no najopasniji je njezin napad u stadiju dozrijevanja grožđa.

Kada sjemenka dostigne fiziološku zrelost započinje prelazak dušika u sok. Neki od sastojaka kutikule sjemenke, fenolni sastojci, dušični spojevi i fosfati djelomično su topivi u procesu vinifikacije, naročito kod crnih vina.

Zato se u tijeku prerade grožđa osobita pozornost mora obratiti uporabi strojeva. O jačini gnječenja ovisi u kojoj će mjeri određeni sastojci preći u mošt. Oštete li se pritom sjemenke, počinje ekstrakcija tanina, pa se dobiju opora i gorka vina (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

Tablica 2: Sadržaj polifenola u sjemenki

SASTOJCI	% u grozdu
Ukupni polifenoli	22-56
Procijanidini	28-56
Katehini	67-86
Galna i kava kiselina	-

Izvor: Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.

Svaka bobica bi u pravilu trebala imati 4 sjemenke. Međutim uslijed nepotpune oplodnje broj sjemenki kod pojedinih sorti varira od 1 – 4 (tablica 3). Postoje i besjemene sorte, kod kojih se ne razvija sjemenka, a namijenjene su za sušenje (grožđice) i za jelo u svježem stanju (stolno grožđe). Razvoj i veličina sjemenke utječu na veličinu i sastav bobice. Broj sjemenki u međuodnosu je s težinom bobice, sadržajem šećera i kiselina (Peynaud i dr. 1970.). Sjemenke grožđa imaju prepoznatljivu kvalitetu zbog visokih razina nezasićenih masnih kiselina, ponajviše linolne i oleinske, kao i prisutnost antioksidansa. Njihov sadržaj u ulju varira ovisno od sorte grožđa, stupnja zrelosti, tla, klime i drugih faktora (Crews i sur., 2006).

Tablica 3: Odnos broja sjemenki i sastava bobice

SASTOJCI	1 sjemenka	2 sjemenke	2 sjemenke	4 sjemenke
Postotak	56.3	33.9	7.8	2.0
Prosječna težina bobice (g)	1.91	2.52	2.96	3.25
Kiseline (meq)	134	142	154	-
Vinska kiselina (meq)	111	110	94	-
Jabučna kiselina (meq)	66	78	98	-
Limunska kiselina (meq)	12.8	5.1	4.2	-
Dušik (meq)	774	740	595	-
Šećer (g)	188	160	153	-

Izvor: Peynaud i dr. 1970

Čiste i suhe sjemenke grožđa mogu se duže čuvati bez utjecaja na promjenu kvalitete ulja. Ukoliko se čuva vlažno sjeme, uslijed intenzivnih mikrobioloških procesa kvarenja, sadržaj ulja se smanjuje, a kiselost ulja se povećava. Za sjemenke grožđa je karakterističan veoma veliki udio čvrste ljuske, čak 75%, dok udio jezgre iznosi 25%. Sastav sjemenki grožđa prikazan je u tabeli 5. Sadržaj ulja u sjemenkama europskih sorti grožđa je 12 – 18%, dok je domaćih oko 13% (Domokos i Kiss, 2002.).

Tablica 4: Sastav sjemenki grožđa

POKAZATELJ	VLAŽNO SJEME (%)	SUHO SJEME (%)
Vlaga	30-52	-
Ulje	8-12	-
Pepeo	1.2-2.0	-
Sirovi proteini	-	12
Sirova vlakna	-	46-48
Od toga celuloza	-	10-12
Polisaharidi	-	8-10
Ugljikohidrati	-	3.0-8.5
Tanini	-	5.7
Lecitin	-	0.12
Fitin	-	0.72

Izvor: Domokos i Kiss, 2002.

2.2.4. Kožica

Kožica predstavlja vanjski omotač bobice koji se sastoji od 6 – 10 slojeva stanica. Na vanjskom su dijelu stanice manje, a prema unutrašnjosti veće dok su im pregrade vrlo tanke. Zahvaljujući elastičnosti staničnih stjenki u toku porasta i sazrijevanja bobice kožica povećava svoj volumen. U punoj zrelosti čini 8 – 11% težine bobice. Epiderma se sastoji od jednog reda stanica debljine 1.3 – 3.8 μ^5 . Prekrivena je kutikulom koja ima značajnu ulogu u burnoj fermentaciji (oslobađajući ekstrakte voska i oleinsku kiselinu kutikule ubrzava se i rast kvasaca). Kožica bobice je prekrivena slojem pruina. Voštani sloj čini pretežito oleinska kiselina (2/3) dok ostatak (1/3) čine esteri, masne kiseline i aldehidi. Karakteristične je boje, a naziva se i voštani mašak. Ova voštana prevlaka sprečava prodiranje vode i čuva bobicu od evaporacije, a sa dozrijevanjem joj propusnost opada. Ako epidermu ošteti bolest (npr. Oidium), povećavaju se šećeri, stanice suberiziraju, opada elastičnost i kožica puca. Svaka bobica sadrži 25 – 40 stoma oko kojih se formira aureola mrtvog staničja, preko kojeg *Botrytis cinerea* može penetrirati u unutrašnjost bobice. Kod većine sorti kožica je jedino mjesto gdje se nalaze tvari boje (brzom preradom od crvenih sorti može se dobiti bijelo vino), osim kod bojadisera i nekih direktno rodnih hibrida koji imaju obojeni sok. Boja se počinje javljati u šari dok maksimum postiže u punoj zrelosti. Antocijani su sakupljeni u pokožici i zauzimaju 3 – 4 sloja stanica ispod epiderme. Slabo su topivi u vodi, a naročito na niskoj temperaturi. Uz stvoreni alkohol i povišenu temperaturu pojavom alkoholne fermentacije prelaze (tvari boje) u vino. U sastavu antocijana postoje razlike između europske i američke loze. U kemijskom sastavu kožice značajno mjesto zauzimaju i mineralni spojevi. Prijelaz istih u vino dijelom ovisi o načinu prerade, a najviše o načinu vinifikacije. Ukoliko kožica ostaje duže u kontaktu sa vinom, utoliko će vino biti bogatije u mineralnim sastojcima (bijelo vino je siromašnije od rosé i crnih vina⁶). Kožica sadrži dosta aromatskih spojeva, koji daju nekim sortama izražen i karakterističan miris (primarne – sortne arome), zatim bogata je pigmentima, naročito žutim i crvenim. Ostale pigmente (klorofil, ksantofil, karotenoidi) sadrži dok je još zelena, a u punoj zrelosti ima ih vrlo malo (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

⁵ μ - simbol označava „mikro“, jedinica u metričkom sustavu, a označava milijunti dio (10^{-6})

⁶ rosé - (od francuskog Rose, također poznat kao Rosado u Portugalu i zemljama španjolskog govornog područja i Rosato u Italiji) je vrsta vina koja uključuje neke od boja iz kožice grožđa, ali ne dovoljno da ga se kvalificira kao crno vino

2.2.5. Meso

Glavni dio bobice grožđa je meso sa grožđanim sokom. Meso bobice čine velike stanice čiju unutrašnjost ispunjava sok - mošt (zajedno se epidermom i endokarpom bobica sadrži 25 – 30 slojeva stanica). Rast bobice je rezultat povećanja volumena stanica, a ne njihovog udvostručenja. U punoj zrelosti meso predstavlja 75 – 85 % težine bobice. Anatomski je bobica putem provodnih snopova povezana preko peteljke sa lišćem odnosno korijenovim sustavom. Pomoću njih se grožđe snabdijeva asimilatima i mineralnim tvarima. Peteljčica koja nosi bobicu, nastavlja se u bobici snopom zvanim metlica, sastavljenim od 10 – 12 snopova lika. Tim putem u bobicu dolaze asimilati. Ti se snopovi granaju po unutrašnjosti bobice u pravcu pojedinih zona bobice. Kod bijelih sorata sok je žuto zelen do zlatno žut, kod crnih malo obojen. Gustoća ovisi o sadržaju šećera i kreće se od 1.065 – 1.110 i najviša je kod prezrelog grožđa (Ribéreau – Gayon i Peynaud, 1986.).

2.3. Komina

Komina je kruti dio što zaostaje nakon cijedenja ili tiještenja masulja grožđa ili drugog voća, odnosno slada (u proizvodnji piva). Komina može biti neprevrela (u pravilu takva se komina dobije neposredno nakon tiještenja grožđa odnosno masulja bijelog grožđa), djelomice prevrela (npr. neposredno nakon otakanja mošta u vrenju s masulja crnog grožđa) ili prevrela. I neprevrela i djelomice prevrela komina se na odgovarajući način skladišti, eventualno sulfitira i ostavlja određeno vrijeme da zaostali šećer provrije. Nakon toga komina se destilira. Prema Pravilniku o jakim alkoholnim pićima od 8.12.2004., (članak 19), komini je dopušteno dodati i određenu količinu vinskog taloga (25 kg na 100 kg komine) kada se proizvodi rakija komovica. Komina se najčešće koristi za spravljanje rakije (rjeđe i alkohola), nakon čega ostane predestilirana komina. Iz nje se mogu izdvojiti sjemenke (za proizvodnju ulja), za proizvodnju soli vinske kiseline (koristi se u prehrani i farmaciji), proizvodnju bojila iz kože (za slastičarsku industriju), dok se ostatak dodaje stočnoj hrani ili smjesi za proizvodnju komposta. Preradom grožđa pri proizvodnji vina zaostaje od 13.5 do 14.5 % komine, a taj se udio može povisiti i do 20 % ovisno o sortimentu i pritisku prešanja. Ekonomski gledano, komina se još ne iskorištava na najbolji mogući način. Međutim, njena upotreba u prehrambenoj industriji može doprinijeti smanjenju troškova proizvodnje kao i za razvoj novih proizvoda (Baydar i Akkurt., 2001.). Oko 20 – 26 % komine čine sjemenke koje su bogate proteinima te sadrže od 8 do 15 % ulja s visokim sadržajem vitamina E (Baydar i Akkurt., 2001.; Passos i sur., 2008.).

Groždanu kominu karakterizira i relativno veliki sadržaj fenolnih spojeva zbog loše ekstrakcije tokom proizvodnje vina (Arvanitoyannis i sur., 2006.). Oprezno, ali brzo sušenje komine nakon proizvodnje vina nužno je kako bi se postigla visoka kvaliteta groždanog ulja sa svojim karakterističnim mirisom i okusom, kao i sadržajem polifenolnih spojeva (Bail i sur., 2008.).

U tablici 5 prikazano je na koje sve načine se može dodatno iskoristiti otpad koji zaostaje nakon prerade grožđa, njihovi produkti te njihova upotreba.

Tablica 5: Postupci obrade otpada grožđa, produkti i njihova upotreba

VRSTA OTPADA OD GROŽĐA	POSTUPAK OBRADE	PRODUKT	UPOTREBA
Otpad od grožđa	Kompostiranje komine grožđa i stajnjaka	Organske tvari	Gnojivo za uzgoj kukuruza
Ekstrakti sjemenke i kožice grožđa	Frakcioniranje ekstrakata sjemenki i kožice iz otpada grožđa	Fenolne tvari	Dodatak prehrani za prevenciju bolesti
Otpad od grožđa	Nastajanje plinova iz otpadnih produkata grožđa	Koncentrirani neiskorišteni ostatak	Proizvodnja plina za grijanje
Prešana kožica grožđa	Kompostiranje krutog otpada i otpadnih voda	Organske tvari	Gnojivo
Komina i sjemenke grožđa	Liofilizacija i ekstrakcija flavanola	Flavanoli	Dodatak prehrani, proizvodnja fitokemikalija
Komina i stabljika grožđa te vinski talog	Liofilizacija i ekstrakcija polifenola	Polifenoli	Dodatak prehrani
Kožica, sjemenke i peteljke grožđa	Kiselinska hidroliza polimernih proantocijanidina komine grožđa u prisustvu cistamina	Flavanoli	Izvor flavanola
Ekstrakt sjemenki grožđa	Pre- i post-mortem upotreba u hrani za životinje	Fenolne tvari	Hrana za životinje sa svrhom
Pulpa kožice grožđa	Fermentacija pomoću <i>Auerobasidium pullulan</i>	Fermentirani bujon	Proizvodnja pullulana
Sjemenke grožđa	Uzgoj <i>Trametes hirsuta</i> na krutim nosačima	Lignoceluloza	Proizvodnja lakaze
Komina grožđa	Uzgoj <i>Pleurotus</i> sp na krutim nosačima	Fenoli i ukupni šećeri	Hrana za životinje
Otpadna voda	Elektrodijaliza	Vinska kiselina	Aditiv u medicini i kozmetici, sredstvo za zakiseljavanje u proizvodnji bezalkoholnih pića
Otpadna voda	Elektrodijaliza pri 60°C	Vinska i jabučna kiselina	Prehrambena i farmaceutska industrija

Izvor: Arvanitoyannis i sur., 2006.

2.4. Ulje od sjemenki grožđa

Prema Pravilniku Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske, na temelju članka 94. stavka 2. Zakona o hrani (»Narodne novine« br. 81/13, 14/14, 30/15) ulja su 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 digliceridi i slobodne masne kiseline. Ulje sjemenki grožđa je ulje dobiveno iz groždanih sjemenki (*Vitis vinifera L.*), gustoće 0.920-0.926, jodni broj 92-125, broj osapunjenja 68-184.

Ovisno o tehnološkom postupku koji se primjenjuje u proizvodnji, ulja se razvrstavaju u sljedeće kategorije:

1. rafinirana ulja,
2. hladno prešana ulja,
3. nerafinirana ulja.

Groždano ulje se u prosjeku sastoji od 90 % polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, koje čine njegovu nutritivnu vrijednost, posebice linolna kiselina (58 – 78 %), zatim oleinska kiselina (3 – 15 %) uz nizak sadržaj zasićenih masnih kiselina oko 10 % (Bail i sur., 2008.).

Tablica 6: Sastav masnih kiselina groždanog ulja prema nekim autorima (% m/m)

MASNA KISELINA	Baydar i sur., 2001.	Ohnishi i sur., 1990.	Barron i sur., 1988.	Mattick i Rice, 1976.	Sabir i sur., 2012.
Palmitinska (16:0)	6.5 – 9.7	6.7 – 8.9	9.56; 9.22	5.78 – 7.64	6.9 – 12.9
Stearinska (18:0)	3.5 – 7.3	1.1 – 5.3	4.37; 4.33	2.50 – 3.49	1.44 – 4.69
Oleinska (18:1)	17.8 – 26.5	9.7 – 17.5	22.87; 19.75	13.69 – 21.47	16.2 – 31.2
Linolna (18:2)	60.1 – 70.1	69.2 – 80.5	62.85; 66.40	66	53.6-69.6

2.4.1. Masne kiseline

Masne kiseline tako su imenovane jer su strukturne komponente masti i ulja. U prirodi je nađeno više od 70 masnih kiselina. Vrlo rijetko se nalaze u slobodnom stanju, i tada u vrlo malim količinama. Masne kiseline obično su nerazgranate dugolančane karboksilne kiseline:

njihove molekule obično sadržavaju paran broj ugljikovih atoma, od 12-24 C-atoma (Amić, 2008.).

Masne kiseline razlikuju se po broju ugljikovih atoma u molekuli, zasićenosti, broju dvostrukih veza, prostornom rasporedu kiselinskih ostataka oko nezasićene veze. S obzirom na broj ugljikovih atoma razlikujemo masne kiseline kratkog lanca (broj ugljikovih atoma do 8), masne kiseline srednjeg lanca (broj ugljikovih atoma od 8-12), masne kiseline dugog lanca (broj ugljikovih atoma iznad 12). Što je lanac masnih kiselina kraći, to je masnoća u više tekućem obliku, odnosno snižava se njezino talište. S obzirom na stupanj nezasićenosti masne kiseline dijele se na zasićene masne kiseline i nezasićene masne kiseline. Zasićene masne kiseline ne sadržavaju dvostruke veze, dok monozasićene masne kiseline sadržavaju jednu dvostruku vezu u molekuli, a polinezasićene masne kiseline sadržavaju dvije ili više dvostrukih veza u molekuli. Zasićene masti sadržavaju visok udio zasićenih masnih kiselina, a polinezasićena ulja sadržavaju uglavnom nezasićene masne kiseline (Swern, 1972). Nedostatak polinezasićenih masnih kiselina uzrokuje promjene na staničnim membranama. Stanične membrane građene su od dvostrukog sloja fosfolipida sa masnim kiselinama okrenutim prema unutrašnjosti dva sloja. Lanci masnih kiselina su u stalnom pokretu, a stupanj molekularnog gibanja unutar membrane, "pokretnost" membrane je određena prirodom masnih kiselina (zasićene, nezasićene, cis ili trans oblici), ugrađenim vitaminima, proteinima, kolesterolu itd. Zasićene masne kiseline stvaraju gotovo kristalnu strukturu u kojoj je molekularno gibanje svedeno na minimum. Za pravilno funkcioniranje staničnih membrana potreban je relativno visok stupanj nezasićenih masnih kiselina, posebno polinezasićenih masnih kiselina, u samoj strukturi. U zapadnim zemljama, gdje je hrana bogata mastima, masne kiseline unesene hranom skladište se u adipocitima, dok iz hrane bogate ugljikohidratima adipociti sami sintetiziraju masne kiseline (uglavnom palmitinsku, stearinsku i oleinsku). Samo u mliječnim žlijezdama mogu se sintetizirati kratkolančane i srednjelančane masne kiseline, dok sva ostala tkiva sintetiziraju dugolančane masne kiseline. Obzirom da su polinezasićene masne kiseline najzastupljenije u staničnim membranama mijelina (79%), eritrocita (43%), stanicama jetre (52%), unutrašnjoj membrani mitohondrija (24%), ova tkiva su i najizložena promjenama uzrokovanim nedostatkom polinezasićenih masnih kiselina. Promjene na staničnim membranama očituju se kao promjene u propusnosti (vode, nisko molekularnih esencijalnih nutrijenata i elektrolita) promjenama provodljivosti električnih impulsa, gubitku sposobnosti komunikacije sa drugim stanicama i slabljenju odgovara na podražaj hormona itd.

Tako su npr. beta oksidacija i oksidativna fosforilacija u jetrenim mitohondrijima manje djelotvorne u slučaju nestabilnih membrana, što dovodi do smanjene mogućnosti pretvorbe hrane u energiju. Stabilnost i integritet membrane stvaraju uvjete za efikasno funkcioniranje enzima, receptora i drugih proteina ugrađenih u lipidni dvosloj. Koliko su važne polinezasićene masne kiseline govori i činjenica da je oko 50% suhe tvari mozga sastavljeno od masnoća, od kojih su gotovo 50% polinezasićene masne kiseline (arahidonska i dokozaheksaenska masna kiselina, DHA). Dugotrajnim deficitom polinezasićenih masnih kiselina dolazi do metaboličkih promjena na nivou stanične membrane što za posljedicu ima niz promjena u organizmu. Za razliku od mogućnosti odabira unosa masnih kiselina, neke masne kiseline ipak moramo unositi u organizam. Takve masne kiseline nazivamo esencijalnim masnim kiselinama, a one su neophodne za normalno funkcioniranje organizma i moraju se unijeti hranom jer se u organizmu ne mogu sintetizirati. To su dvostruko nezasićena linolna i trostruko nezasićena alfa linolenska masna kiselina, koje su polazne tvari za sintezu dugolančanih trostruko i više nezasićenih masnih kiselina (Katalenić, 2007.).

- PALMITINSKA KISELINA

Palmitinska kiselina (franc. palmitine, prema palme: palma), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$, najčešća je zasićena masna kiselina u prirodi, važan sastojak svih skladišnih i membranskih lipida. U većini masti i ulja zastupljena je s 20 do 30%, posebno u palminu ulju, po kojem je i nazvana, s 35 do 45%. Palmitinska kiselina je bijela krutina netopljiva u vodi, a dobiva se hidrolizom iz biljnih i životinjskih lipida. Upotrebljava se u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (pri proizvodnji sapuna)⁷.

Slika 1: Struktura palmitinske masne kiseline.

(https://hr.wikipedia.org/wiki/Palmitinska_kiselina)



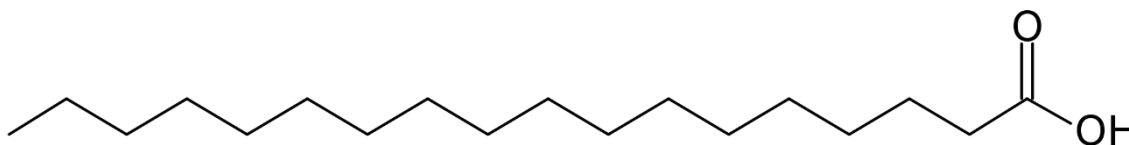
⁷ Hrvatska enciklopedija, Broj 8 (O-Pre), str. 239. Za izdavača: Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb 2000.g. https://hr.wikipedia.org/wiki/Palmitinska_kiselina, (15.10.2016.)

- STEARINSKA KISELINA

Stearinska kiselina (oktadekan-kiselina) je viša masna zasićena kiselina, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$. To je bijeli zrnasti prah masna opipa, netopljiv u vodi, topljiv u organskim otapalima. U obliku estera s glicerolom pojavljuje se praktički u svim biljnim i životinjskim mastima. Njezine soli i esteri su stearati. Alkalijski stearati sastojci su sapuna. Smjesa stearinske i palmitinske kiseline (stearin) koristi se u proizvodnji svijeća, zatim u farmaciji i za pripremu apretura.^{8 9}

Slika 2: Struktura stearinske masne kiseline,

(https://hr.wikipedia.org/wiki/Stearinska_kiselina)



- OLEINSKA KISELINA

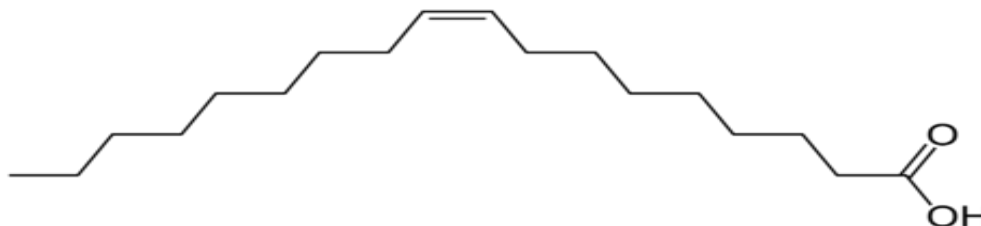
Oleinska kiselina (ili uljna kiselina) (prema fran.:olein, oleum, od lat.:ulje), karboksilna kiselina, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$. Vezana s glicerolom u ester triolein sastavni je dio gotovo svih masti i ulja; njezine soli i esteri nazivaju se oleati. U promet dolazi kao žuta do crvenkasta uljasta tekućina, koja oksidacijom na zraku tamni. Tehnička kiselina pod nazivom olein služi kao pomoćno sredstvo u tekstilnoj industriji i stabilizator u proizvodnji polivinil-klorida¹⁰.

⁸ Apretura - apretura (franc.), postupak kojim se proizvodu (koži, papiru, krznu, tkanini) daje ljepši izgled (sjaj) i poboljšava njegova kakvoća (čvrstoća, nepromoćivost i sl.)

⁹ Gunstone, F. D., John L. Harwood, and Albert J. Dijkstra "The Lipid Handbook with Cd-Rom. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 0849396883 | ISBN 978-0849396885
https://hr.wikipedia.org/wiki/Stearinska_kiselina (15.10.2016.)

¹⁰ Hrvatska enciklopedija, Broj 8 (O-Pre), str. 71. Za izdavača: Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb 2000.g. ISBN 953-6036-29-0 (cjelina) i 953-6036-32-0 https://hr.wikipedia.org/wiki/Oleinska_kiselina (15.10.2016.)

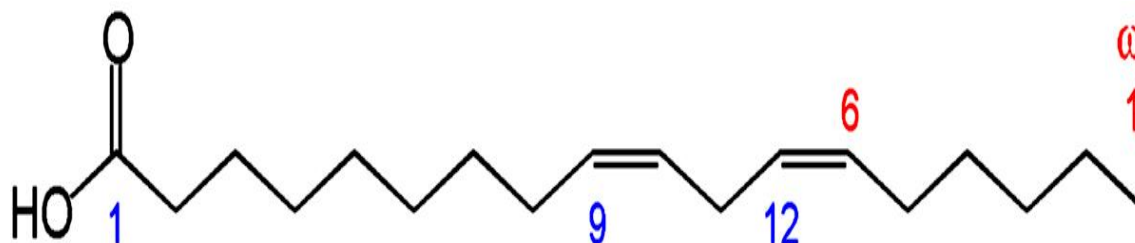
Slika 3: Struktura oleinske masne kiseline,
(https://hr.wikipedia.org/wiki/Oleinska_kiselina)



LINOLNA KISELINA

Ljudsko tijelo može sintetizirati sve masne kiseline koje treba za rast i život osim triju, a to su arahidonska, linolna i linolenska kiselina. Esencijalne masne kiseline su višestruko nezasićene masne kiseline i od njih se u organizmu stvaraju nizovi omega-6 i omega-3 masnih kiselina. Ljudski organizam može jednostavno proizvesti zasićene masne kiseline ili jednostruko nezasićene masne kiseline s dvostrukom vezom na devetom atomu ugljika brojeći od kraja molekularnog lanca (omega-9 kiseline), ali ne može stvoriti dvostruku vezu na šestom ili trećem atomu ugljika zbog nepostojanja enzima koji bi tome pripomogao.¹¹

Slika 4: Struktura linolne kiseline,
(<https://www.google.hr/search?q=linolna+masna+kiselina+wikipedia>)



2.4.2. Tokoferol

Prirodni antioksidansi mogu se naći među amino kiselinama i dipeptidima, hidrolizatima proteina, među proteinima topljivim u vodi, fosfolipidima, anorganskim solima, tokoferolima i njihovim derivatima, karotenoidima i askorbinskoj kiselini (Wijerante i sur., 2006).

¹¹ Food Standards Agency (1991). "Fats and Oils", McCance & Widdowson's The Composition of Foods, Royal Society of Chemistry. https://hr.wikipedia.org/wiki/Masne_kiselina (15.10.2016.)

Tokoli (tokoferoli i tokotrienoli) su najpoznatiji i najčešće korišteni prirodni antioksidansi u biljnim uljima. Dolaze kao neosapunjivi sastojci skoro u svim prirodnim uljima i mastima, ali znatno više u onima biljnog podrijetla.

Po kemijskom sastavu su visoko molekularni ciklički alkoholi, metil derivati tokola. Postoji osam tokola – četiri tokoferola koji se međusobno razlikuju po rasporedu metilnih grupa i četiri tokotrienola koji su slični tokoferolima, ali imaju tri nezasićene veze u lancu. Biljna ulja prirodno sadrže tokole u količini od 200 do 800 ppm pa njihovo dodavanje pokazuje manji učinak (Gunstone, 2004.). Tokotrienoli imaju snažnije antioksidacijsko djelovanje od tokoferola (Shahidi i Zhong, 2005.). Najvažniji tokoferoli su α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol i δ -tokoferol. Oni se razlikuju po svom biološkom i antioksidacijskom djelovanju. Najbolje vitaminsko djelovanje ima α -tokoferol koji je dobio naziv vitamin E. Vitamin E se degradira na povišenoj temperaturi i u prisustvu UV svjetlosti (Sabliov i sur., 2009). Najbolje antioksidacijsko djelovanje pokazuju γ -tokoferol i δ -tokoferol. Sastav i postotak pojedinih vrsta tokoferola u sjemenkama grožđa prikazan je u tablici 7.

Tablica 7: Sastav tokoferola u ulju od sjemenki grožđa

SASTAV TOKOFEROLA IZRAŽEN KAO	(%)	(mg/kg)
α tokoferol	26-39	16-38
β tokoferol	2-14	ND*-89
γ tokoferol	10-34	ND-73
α tokotrienol	10-26	18-107
γ tokotrienol	14-34	115-205
Triterpen alkoholi (mg/100g):		
• Eritrodiol	>2	-

Izvor: Dimić, 2005

Visok sadržaj vitamina E (sprečava rizika od arterioskleroze) i niske vrijednosti kolesterola čine ovo ulje korisnim pri sprečavanju kardiovaskularnih bolesti i krvnih žila.

2.4.3. Polifenoli

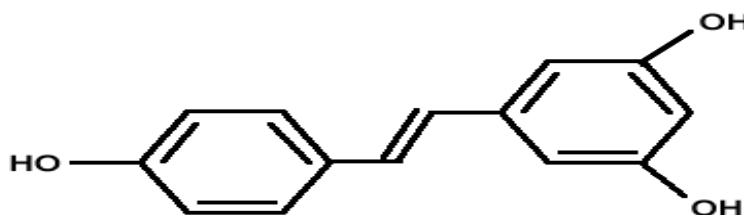
Polifenoli

su spojevi široko rasprostranjeni u biljnom svijetu. Posjeduju više aromatskih skupina –OH.

U tu skupinu spadaju spojevi, za koje se procjenjuje da ih u prirodi ima više od milijun (jer se općenito javljaju kao glikozidi), svrstavaju se fenoli, fenolne kiseline, flavonoidi, tanini i lignini. Pokazalo se da su polifenoli prirodni antioksidansi i to tako da hvataju slobodne radikale i inhibiraju oksidaciju bio molekula. Funkcija antioksidansa je da reagiraju sa slobodnim radikalima brže nego što slobodni radikali reagiraju sa supstratom (Amić, 2008.).

RESVERATROL (3,5,4'-trihidroksi-trans-stilbene) je stilbenoid, vrsta prirodnog fenola prirodno proizveden od strane samo nekoliko biljaka kao odgovor na ozljedu ili kada je biljka pod napadom od strane patogena kao što su bakterije ili gljive. Istraživanja pokazuju da resveratrol ima brojna biološka djelovanja koja mogu spriječiti razvoj raka i da ima određena biološka djelovanja koja utječu na sprječavanje kardiovaskularnih bolesti. Općenito, resveratrol se ne smatra toksičnim niti uzrokuje značajne posredne nuspojave kod ljudi¹².

Slika 5: Struktura resveratrola (Amić, 2008.)



Izvor: Amić, 2008.

OLIGOMERNI PROANTOCIJANIDINI (OPC) – su stabilni spojevi koji sadrže dva, tri, četiri ili rijetko pet flavan-3-ol molekula. Monomeri kao takvi nisu biološki aktivni, ali postaju kad se vežu u oblike dimernih, trimernih, ustvari oligomernih spojeva. OPC pripada jednoj velikoj skupini biljnih tvari polifenola, konkretno visoko specifičnoj podgrupi flavanola. Profesor Masquelier je 1955. godine dokazao prisustvo navedenih OPC molekula u crvenom vinu koje potječu iz sjemenki grožđa.

Nakon ovog otkrića počelo se raditi na patentiranju metode dobivanja OPC iz sjemenki grožđa i kore drveta bora (kod kojeg je već ranije otkrivena prisutnost OPC-a u kori). Ta se metoda dobivanja OPC ekstrakta primjenjuje i danas i to pod pokroviteljstvom francuskog

¹² Higdon i sur.: Resveratrol, 2016., <https://en.wikipedia.org/wiki/Resveratrol> (15.10.2016.)

ministarstva zdravstva. OPC posjeduje iznimno izraženo antioksidacijsko svojstvo i to 18 puta jače od vitamina C i 40 puta jače od vitamina E¹³.

2.5. Ekstrakcija ulja sjemenki grožđa

Ekstrakcija je jedan od temeljnih separacijskih procesa u pojedinim granama prehrambene industrije, kao što su proizvodnja ulja i šećera, ali se koristi i za dobivanje različitih aromatičnih sastojaka iz biljnih sirovina. Ekstrakcija se definira kao proces izdvajanja neke tvari iz krute ili tekuće smjese prikladnim otapalom u kojem je ta tvar topljiva ili ima bolju topljivost od preostalih sastojaka smjese. Princip ekstrakcije je sadržan u pojavi molekulske difuzije, koju karakterizira izjednačavanje otopljenih tvari u sustavima koji dođu u međusobni dodir, a matematički se opisuje prvim zakonom Adolfa Ficka:

$$N = -D \times dc/dx$$

gdje je N (kgs⁻¹ ili kmols⁻¹) brzina prijelaza mase, c (kmolm⁻³) količinska ili množinska koncentracija, x (m) udaljenost, a D (m²s⁻¹) koeficijent difuzije ili difuznost (Lovrić, 2003). Procesi ekstrakcije mogu se provesti diskontinuirano (šaržno), pseudokontinuirano i kontinuirano. Diskontinuirani postupci koriste jedan uređaj za ekstrakciju, dok se međusobnim povezivanjem takvih uređaja u bateriju postiže proces koji ima značajke kontinuiranog procesa, a naziva se pseudokontinuirani proces. Danas se proces ekstrakcije najčešće provode u kontinuiranim uređajima različitih izvedbi, prilagođenim zahtjevima u pogledu sirovine, kapacitetu i drugim uvjetima (Lovrić, 2003.).

2.5.1. Ekstrakcija otapalom heksanom

Heksan (C₆H₁₄) je zasićeni tekući ugljikovodik sa šest ugljikovih atoma u molekuli, te je šesti član homolognoga niza alkana. Heksan postoji u pet izomernih oblika. Važan je sastojak lakoga benzina i nafte. Normalni (ravno lančasti) heksan, pri sobnoj temperaturi je bezbojna zapaljiva tekućina, vrelišta između 50 i 70°C, a mirisa nalik benzinu. U širokoj je upotrebi kao jeftino, relativno sigurno, vrlo inertno i lako hlapivo nepolaro otapalo. Koristi se kao sredstvo za ekstrakciju ulja i masti. Dokazano je da heksan kod čovjeka izaziva ovisnost.

Ako se u zraku nalazi između 1.1 i 7.5% heksana može doći do eksplozije. U organizmu heksan metabolira u 2.5-heksadion, koji može utjecati na oštećenja živci, a izlučuje se preko

¹³ Šošević, S. (2013.): Zdraviji život uz oligomerne proantocijanidine, Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku, broj 2, str. 24-27 (<http://hrcak.srce.hr/112896>) 01.10.2016.

urina¹⁴. Ekstrakcija otapalom daje visok postotak iskorištenja antioksidacijskih fitokemikalija iz različitih uzoraka, međutim, korištenje velike količine organskih otapala povećava zdravstveni rizik i nepovoljno djeluje na okolinu. Zbog toga se sve više razvijaju alternativne metode ekstrakcije i pomoćne metode u ekstrakciji otapalom koje znatno smanjuju ili eliminiraju potrebnu količinu ekstrakcijskog otapala, a daju istu ako ne i bolju učinkovitost, uz niže troškove procesa (Tsao i sur., 2004.).

2.5.2. Ekstrakcija superkritičnim ugljičnim dioksidom (CO₂)

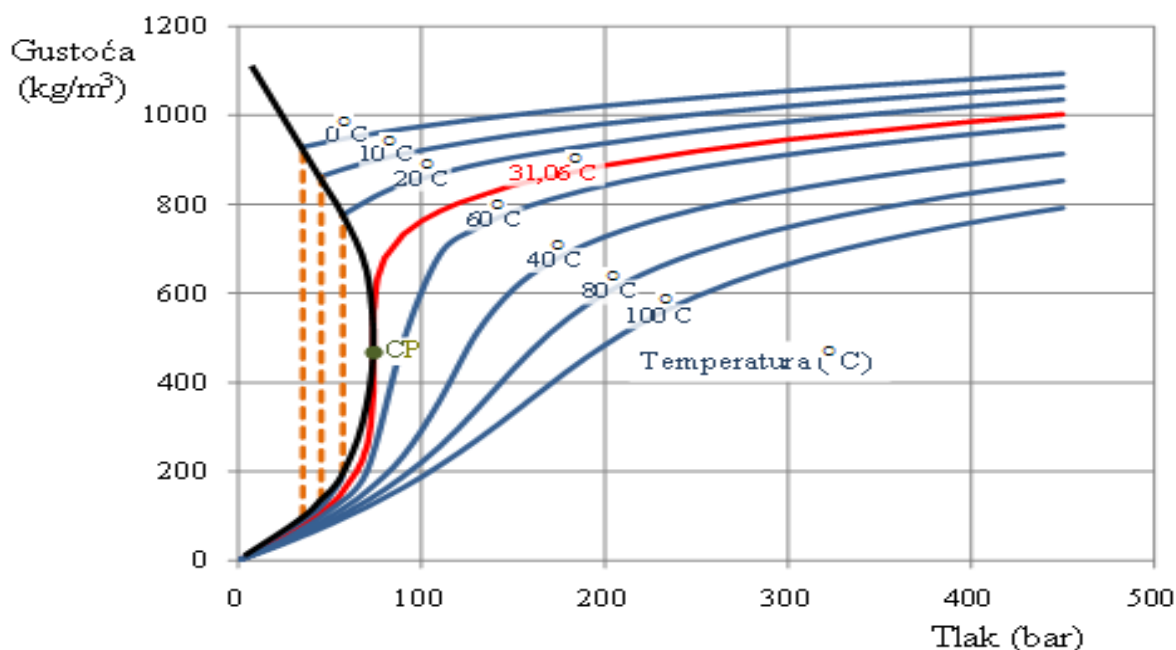
Ugljični dioksid (CO₂) predstavlja najzanimljiviji fluid za ekstrakciju prirodnih tvari i u tehnologiji pojedinih prehrambenih proizvoda. Relativno je jeftin, lako dostupan, netoksičan, neškodljiv za okolinu, GRAS¹⁵ otapalo i dobrih svojstava otapanja većine sastojaka koji se koriste u proizvodnji hrane, uz nisku kritičnu temperaturu (31.3 °C pri kritičnom tlaku 72.9 bara). Štoviše, u preko 90 % slučajeva SFE¹⁶ koristi se superkritični CO₂ kao otapalo upravo zbog svojih prednosti. Moć otapanja komprimiranog CO₂ može se opisati preko gustoće tekućine. Gustoća CO₂ se kreće od 0.15 do 1.0 gcm⁻³ i ovisi o tlaku i temperaturi (Slika 6). Svojstva CO₂ i superkritičnog CO₂ prikazana su pomoću prikaza ovisnosti gustoće CO₂ o promjeni tlaka pri konstantnoj temperaturi. U superkritičnoj stanju, iznad kritične vrijednosti temperature i tlaka, gustoća se može podešavati promjenom tlaka ili temperature (Aladić, 2015.).

¹⁴ Hrvatska enciklopedija, Broj 4 (Fr-Ht), str. 505.. Za izdavača: Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb 2002.g. ISBN 953-6036-34-7, <https://hr.wikipedia.org/wiki/Heksan>

¹⁵ GRAS - generalno prihvaćen kao sigurno otapalo

¹⁶ SFE- engl. Supercritical fluid extraction, ekstrakcija superkritičnim fluidima ili SFE je operacija prijenosa tvari bazirana na činjenici da pojedini plinovi postaju izuzetno dobra otapala za određene vrste kemijskih spojeva u blizini svoje kritične točke, ili u superkritičnom području (Aladić, 2015.).

Slika 6: Ovisnost gustoće CO₂ o tlaku i temperaturi



Izvor: Jokić, 2011

Promjenom tlaka i temperature, omogućeno je da se iz biljnog materijala dobiju eterična i biljna ulja, začini i druge komponente, kao i komponente s antioksidacijskim, antibakterijskim i farmakološki aktivnim djelovanjem (Aladić, 2015.).

2.5.3. Ekstrakcija hladnim tiještenjem

Prešanje (tiještenje) sjemenki je jedan od najstarijih tehnoloških procesa kojim se isključivo mehaničkom ekstrakcijom, primjenom tlaka, izdvaja i proizvodi ulje. Uz ulje, nakon prešanja zaostaje i čvrsti dio, odnosno pogača. Ulje nakon prešanja zadrži svoja prirodna svojstva, a miris i okus ostaju karakteristični za sirovinu iz koje je ulje izdvojeno. Tehnološki proces prešanja provodi se na hidrauličnim ili kontinuiranim pužnim prešama (Dimić, 2005.). Najstariji strojni uređaji u proizvodnji biljnih ulja su hidraulične preše, a danas se koriste uglavnom za obradu maslina i bundevinih koštica (Rac, 1964.). Hidrauličke preše se koriste za hladno prešanje sjemenki bundeve, suncokreta, konoplje, lana, grožđa, oraha, lješnjaka itd. Serija za male proizvođače obično je kapaciteta 10 kg sirovine/sat, 20 kg sirovine/sat, 40 kg sirovine/sat. Radi bolje učinkovitosti strojeva neke proizvode je potrebno samljeti prije prešanja. Tlak u hidrauličkom sustavu je podesiv do 300 bara.

Pritisak se automatski održava dok se ulje ulijeva u spremnik za prikupljanje (Pletikosa, 2014.)¹⁷. Kako su hidraulične preše zahtijevale veliku radnu snagu, čija je produktivnost zbog malog kapaciteta bila slaba, konstruirane su kontinuirane pužne preše. Pužnica je glavni element ovih preša, a smještena je na glavnoj osovini. Ona gura sjemenke iz većeg prostora u manji čime se smanjuje volumen, a raste tlak i dolazi do cijedenja ulja. Ostali elementi su kućište preše, uređaj za punjenje i doziranje materijala za prešu te uređaj za reguliranje debljine isprešane pogače. Različita debljina pogače regulira radni tlak u preši, a regulira se odgovarajućom konstrukcijom izlaznog konusa (Rac, 1964.). Kontinuirane pužne preše mogu biti konstruirane za predprešanje pri čemu se iz sirovine uklanja samo dio ulja, a stupanj djelovanja je 50 - 60% u odnosu na sadržaj ulja. Za uklanjanje skoro cjelokupne količine ulja primjenjuju se kontinuirane pužne preše za završno prešanje sa stupnjem djelovanja 80-90 % (Dimić i Turkulov, 2000.). Temperatura sirovog ulja na izlazu iz preše je jako važna i kod hladno prešanih ulja ne bi smjela biti iznad 50°C. Prilikom kretanja materijala kroz prešu dolazi do trenja unutar samog materijala te između materijala i preše što može povisiti temperaturu materijala. Tada se prešanje mora provesti na nižem tlaku, odnosno pri blažim uvjetima pri čemu se dobije manji prinos ulja jer je zaostatak ulja u pogači veći (Bockisch, 1998.). Postupak hladnog prešanja ne zahtijeva korištenje organskog otapala, dobiva se mehaničkim putem, prešanjem na kontinuiranim pužnim prešama, a tako dobiveno ulje konzumira se kao nerafinirano ulje. Proizvodnja biljnog ulja postupkom hladnog prešanja osigurava maksimalno zadržavanje aktivnih spojeva kao što su esencijalne masne kiseline, fenolne i flavonoidne tvari, tokoferoli i dr. (Teh i Birch, 2013.). zadržana su i senzorska svojstva ulja jer ovdje nema termičke pripreme sirovine prije prešanja. Ovim postupkom hladnog prešanja sjemenki, koštica ili jezgre dobiva se sirovo ulje koje ide na pročišćavanje (sedimentaciju, filtriranje, centrifugiranje) radi dobivanja finalnog proizvoda hladno prešanog ulja (Moslavac i sur., 2014.). Jokić i sur. (2011.) istraživali su optimizaciju proizvodnje hladno prešanog orahovog ulja te su utvrdili da procesni parametri prešanja (pužna preša) utječu na iskorištenje ulja.

¹⁷ Pletikosa, B., (2014.), (<http://www.pakiranje.net/procesni-strojevi-oprema-i-komponente/prese-za-hladno-presanje-ulja/>), 27.10.2016.

2.6. Primjena ulja od sjemenki grožđa u prehrani i kozmetici

Ekstrakt sjemenki grožđa izuzetno je bogat antioksidantima i oligomernim proantocijanidima. Taj se ekstrakt povezuje sa nizom terapijskih učinaka. Postoji sve više medicinskih dokaza na koji način ekstrakt sjemenki grožđa pozitivno utječe na zdravlje. Može pomoći u liječenju stanja kao što su visoki kolesterol, arterioskleroza, makularne degeneracije, loše cirkulacije i oštećenja živaca. Ekstrakt sjemenki grožđa dostupan je kao dodatak prehrani u tekućem obliku, kao tablete ili kapsule. Zbog svog sastava proantocijanidina, istraživanja na životinjama su pokazala učinkovitost u liječenju bolesti srca, te kao kemoprevencijski potencijal u borbi protiv karcinoma. Studija koja je objavljena u časopisu „Free Radical Biology and Medicine“, opisuje primjenu proantocijanidina u tretiranju rana na leđima miševa. Otkriveno je su da su tretirani miševi imali znatno brže zacjeljenje rana. Ovim pokusima utvrđeno je da upravo GSPE (procijanimidin iz sjemenki grožđa) utječe na stvaranje vaskularnog endotelnog faktora rasta, tj. spoja zaslužnog za zarastanje rana. Prema studiji objavljenoj u časopisu „Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions“ koja ispituje učinke kalcija i proantocijanidina na strukturu kostiju miševa koji su bili hranjeni s niskom količinom kalcija dokazan je blagotvoran učinak na formiranje kostiju i čvrstoću kostiju za liječenje koštanih bolesti uzrokovane niskom razinom kalcija. Studija objavljena u časopisu „Molecular Nutrition & Food Research“, pokazala je da proantocijanidini iz sjemenki grožđa imaju svojstvo sprječavanja pojave raka kože. Koristeći laboratorijske miševe bez dlake, istraživački tim testirao je sposobnost proantocijanidina na usporavanje razvoja nastanka tumora kože. Smatra se da upravo zaštitna priroda proantocijanidina utječe na smanjenje oksidativnog stresa i imuno supresije mijenjanjem djelovanje citokina. Također, prema jednoj studiji, objavljenoj u časopisu „Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis“, proantocijanidin iz sjemenki grožđa (GSPE) pruža vrhunsku antioksidativnu učinkovitost u odnosu na vitamine C, E i beta-karoten. Postoji također studija koja prepoznaje ulogu GSPE kao neuroprotektora u hipokampusu i prevencija kognitivnog gubitaka starenjem. U časopisu je također spomenuto pozitivno djelovanje GSPE kod sprečavanja pojave karijesa, zaštiti protiv napada patogena, poboljšanje noćnog vida, kod liječenja Alzheimerove bolesti, olakšanje simptoma kronične venske insuficijencije te izuzetno pozitivna svojstva protiv starenja kože (štiti elastin i kolagen u koži).

Kod konzumiranja ekstrakta sjemenki grožđa, neki nutricionisti vjeruju da proantocijanidini inhibiraju (dihidrotestosteron) DHT, jedan od hormona koji se povezuje sa gubitkom kose, ali te tvrdnje su tek u postupku dokazivanja¹⁸.

¹⁸ Joseph Nordqvist: Grape seed extract: Medical news today: 06.07.2016., <http://www.medicalnewstoday.com/articles/263332.php> (01.10.2016.)

3. MATERIJALI I METODE

Od materijala za potrebe ovog rada bile su korištene prikupljene sjemenke grožđa iz komine na OPG Ivan Cmrečnjak. Ono se nalazi u vinogradarskom području kontinentalne Hrvatske, vinogradarska podregija je Zagorje-Međimurje, zona B vinogradarske proizvodnje, međimursko vinogorje (Štrigova, Selnica, Sv. Juraj na bregu).

Za potrebe izrade završnog rada bila su pripremljena dva uzorka sjemenki. Kod prvog uzorka korištene su sjemenke vinove loze sorte Crni pinot iz berbe 2015. godine (Uzorak 1 u daljnjem tekstu). Za drugi uzorak bile su uzete sjemenke vinove loze sorte Rajnski rizling iz berbe 2016. godine (Uzorak 2 u daljnjem tekstu).

Uzorak 1: nakon muljanja-ruljanja grožđa, masulj je bio podvrgnut maceraciji u trajanju od 7 dana, nakon čega se vršilo prešanje masulja, te se tek tada pristupilo skupljanju sjemenki iz komine. Sjemenke s kojih su odstranjene sve strane primjese bile su osušene na vlagu od 7-8% i nakon toga uskladištene na suhom mjestu, te upotrijebljene za dobivanje ulja tek nakon godinu dana.

Uzorak 2: nakon muljanja-ruljanja grožđa, vršilo se prešanje komine i odmah nakon toga pristupilo se skupljanju sjemenki iz komine, postupku sušenja i nakon toga preradi u ulje.

Daljnji postupci odvajanja sjemenki od ostalih dijelova komine i sama ekstrakcija kod Uzorka 1 i Uzorka 2 nisu se razlikovali. Metode kojima se vršilo prikupljanje sjemenki bile su improvizirane, ali pokazale su se učinkovitima, a provođene su sljedećim redom:

1. Prosijavanje komine kroz žičanu mrežu

Prosijavalo se na način da se postavilo postolje preko kojeg je bila stavljena žičana mreža dimenzija 1.5 m x 2.5 m. Na žičanu mrežu stavljala se komina te se prosijavalo na način da su sjemenke i dijelovi zaostale komine padali kroz otvore mrežice na sabirnu foliju koja se nalazila ispod postolja. Ostatci komine većih dimenzija zaostajali su na površini žičane mrežice, te su se na taj način odvajali od prosijanog materijala (slika 7). Prosijani dio materijala bio je opran čistom vodom i ocijeđen te je nakon toga išao na sušenje.

Slika 7: Prvo odvajanje sjemenki od ostalih dijelova komine na OPG Cmrečnjak



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

2. Sušenje prikupljenih sjemenki grožđa iz komine

Sušenje sjemenki se provelo u automatskoj sušari s ventilatorom marke „La Parmigiona“ talijanskog proizvođača. Sušara je namijenjena sušenju tjestenine, voća, sjemenki i bilja, a sadrži 18 kašeta sa metalnom žicom na dnu. Svaka je kašeta dimenzija 60x80 cm. Snaga ventilatora je 0.75 kW, s 3 grijača od 2000 W (380 volti, trofazna struja). Sušilo se u ciklusima po 2 dana na temperaturi 50-60°C (slika 8).

Slika 8: Sušenje sjemenki grožđa u sušari

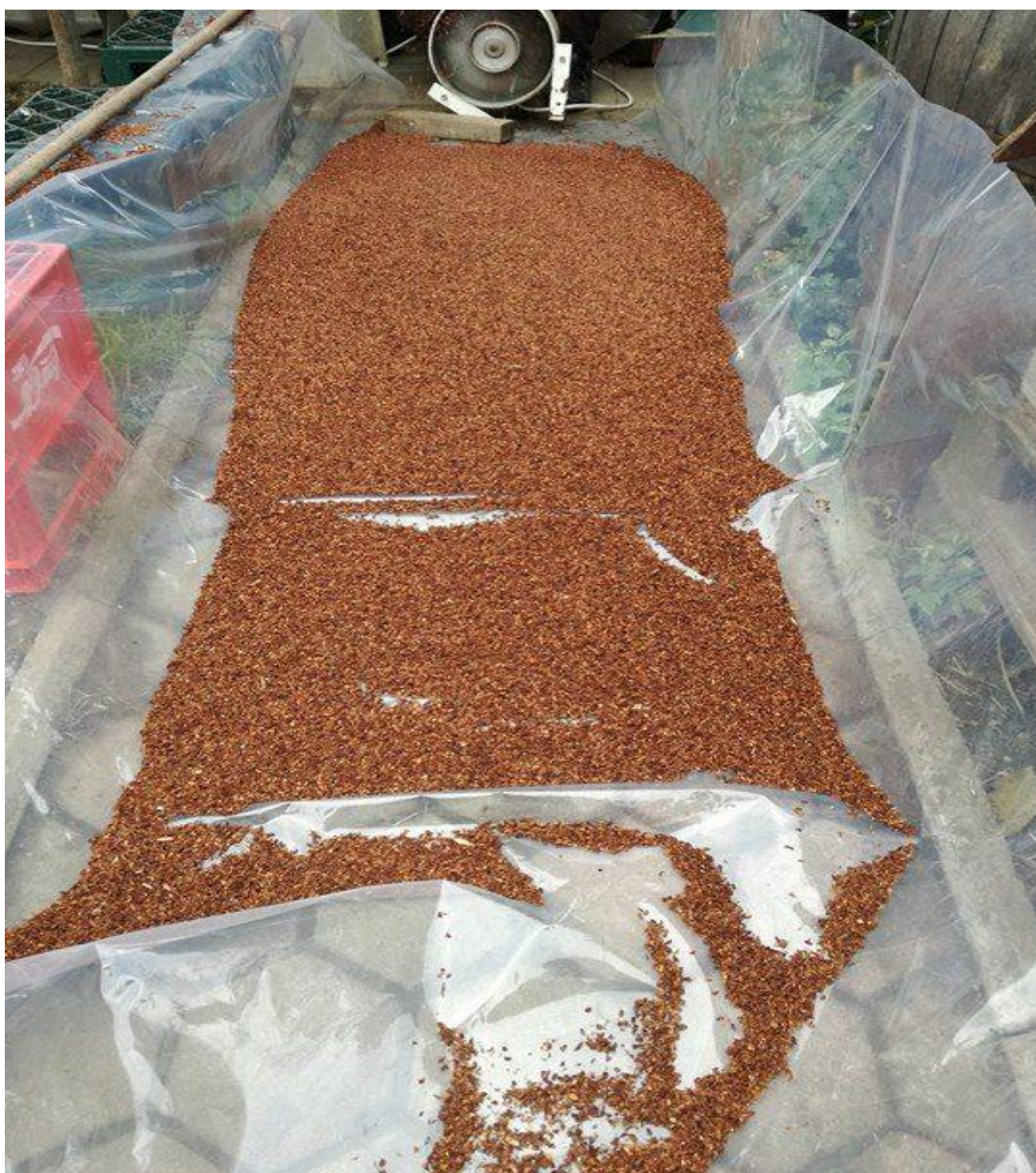


Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

3. Ventiliranje (propuhivanje) osušenih sjemenki grožđa

Nakon što su se osušene sjemenke ohladile, vršilo se propuhivanje istih s ciljem da se dodatno odvoji eventualni zaostali dio komine (prosušene kožice, peteljke i drugo). Sa čvrstom folijom napravio se bazen i sa jedne se strane propuhivalo ventilatorom dok su se odozgo, iznad ventilatora dozirale sjemenke. Na taj način su sjemenke koje su teže padale na sabirnu foliju (bazen), a lagani ostaci sakupljali su se na kraju bazena. Slika 9 prikazuje način na koji su se sjemenke propuhivale ventilatorom, a na slici 10 je prikazan sav otpad koji je zaostao nakon ventiliranja.

Slika 9: Ventiliranje osušenih sjemenki grožđa



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

Slika 10: Otpaci nakon ventiliranja prosušenih sjemenki grožđa



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

Zbog još uvijek velikog postotka primjesa, taj se postupak ventiliranja ponavljao dva puta, a nakon toga pristupilo se završnom prosijavanju na situ (slika 11), gdje su se u konačnosti odvojile čiste sjemenke grožđa bez ikakvih drugih primjesa (slika 12).

Slika 11: Završno prosijavanje sjemenki preko sita



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

Slika 12: Čiste sjemenke nakon prosijavanja kroz sito



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

4. Ekstrakcija ulja iz sjemenki grožđa postupkom hladnog prešanja

Nakon što su sjemenke grožđa bile osušene, ventilirane i prosijane i očišćene od stranih primjesa, bile su spremne za vaganje i konačno za preradu u ulje postupkom hladnog prešanja. Sjemenke Crnog Pinota težile su 22 kilograma i iz njih je ekstrahirano postupkom hladnog prešanja 2 litre ulja. Sjemenke Rajnskog Rizlinga težile su 20 kg te je iz njih ekstrahirano postupkom hladnom prešanja 1.8 litra ulja. Hladno prešanje provedeno je u uslužnoj Uljari Tkalec u Šenkovcu¹⁹, a slika 13 prikazuje taj postupak.

Slika 13: Postupak hladnog prešanja ulja iz sjemenki grožđa



Izvor: Vlastita fotografija, 2016.

¹⁹ <http://www.visitmedimurje.com/backend/opsirnije-enduser.asp?id=816&l=h> (20.10.2016.)

Slika 14: Usipni koš za sjemenke s mlinom na dnu kućišta



Izvor: Vlasita fotografija, 2016.

5. Taloženje ulja

Ulje nakon prerade hladnim prešanjem bilo je spremljeno u tamnu bocu i ostavljeno na tamnom i ne toplom mjestu da se istaloži talog iz ulja. Taloženje je trajalo 7 dana i nakon dekantiranja kao takvo bilo je spremno za konzumiranje.

6. Analitičko izvješće

Za potrebe ovog završnog rada dobiveno ulje bilo je podvrgnuto fizikalno-kemijskoj i mikrobiološkoj analizi. Ove analize bile su rađene od strane Zavoda za javno zdravstvo Varaždinske županije - kemijski laboratorij²⁰.

²⁰ <http://www.zjzzv.hr/?task=group&gid=9&aid=8>

Određivanje slobodnih masnih kiselina:

Kiselost biljnih ulja nastaje kao rezultat hidrolize triacilglicerola djelovanjem lipolitičkih enzima, a izražena je kao udjel (%) slobodnih masnih kiselina. Nastale slobodne masne kiseline u biljnim uljima određene su standardnom metodom (ISO 660: 2010) koja se temelji na principu titracije s otopinom natrij-hidroksida $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$. Rezultat se izražava kao udjel (%) slobodnih masnih kiselina (SMK) izračunat kao oleinska kiselina prema jednadžbi:

$$\text{SMK (\% oleinske kiseline)} = V \cdot c \cdot M / 10 \cdot m$$

V = utrošak otopine natrij-hidroksida za titraciju uzorka (mL)

c = koncentracija otopine natrij-hidroksida za titraciju, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$

M = molekulska masa oleinske kiseline, $M = 282 \text{ g/mol}$

m = masa uzorka ulja za ispitivanje (g)

Određivanje peroksidnog broja:

Peroksidni broj (Pbr) je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja biljnih ulja. Određivanje peroksidnog broja je jedna od najviše primjenjivanih metoda za ispitivanje primarnih produkata oksidacije biljnih ulja. Peroksidni broj ispitivanih biljnih ulja određen je standardnom metodom (ISO 3960:2010). Rezultat je izražen kao mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O_2/kg). Vrijednost peroksidnog broja izračunava se prema jednadžbi:

$$\text{PB} = (V1 - V0) \times 5 / m \text{ (mmol O}_2 \text{ /kg)}$$

V1 = volumen otopine natrij-tiosulfata, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol/L}$ utrošen za titraciju uzorka ulja (mL)

V0 = volumen otopine natrij-tiosulfata utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

m = masa uzorka ulja (g)

Određivanje sadržaja vode:

Sadržaj vode bio je određen standardnom metodom (ISO 1442:1997). Sadržaj vode u nekom uzorku određuje se na način da se uzorak pohrani u dobro zatvorenu posudu te se ga analizira što prije ali ne duže od 24 h nakon otvaranja boce. Izvodi se tako da se najprije osuši i istari posuda skupa s pijeskom i staklenim štapićem te zabilježi masa (m_0). Nakon toga u posudu se izvaže oko 2g uzorka i također zabilježi masa neosušenog uzorka i posude sa pijeskom i štapićem (m_1). Promiješa se sadržaj sa staklenim štapićem. Zagrijati posudu sa sadržajem i staklenim štapićem oko 20-30 min u sušioniku na oko $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posudu sa sadržajem i štapićem staviti u eksikator i kad se ohladi izvagati te zabilježiti masu (m_2).

Izražavanje rezultata prema formuli:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \%$$

m_0 - masa posude, štapića i pijeska

m_1 - masa posude, štapića i pijeska prije sušenja

m_2 – masa posude, štapića i pijeska nakon sušenja

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Sjemenke grožđa bile su prikupljene na Opg Ivan Cmrečnjak. Uzorak 1 bile su sjemenke crnog grožđa sorte Crni pinot iz berbe 2015. godine. Uzorak 2 bile su sjemenke bijelog grožđa sorte Rajnski rizling berbe 2016. godine.

Sjemenke crnog grožđa nakon runjenja bile su podvrgnute maceraciji te nakon 7 dana izdvojene iz komine, sušene i uskladištene godinu dana pa tek tada tiještene, dok su sjemenke bijelog grožđa bile odmah nakon prešanja izdvojene iz komine, sušene i tiještene.

Postupak izdvajanja sjemenki iz komine u oba uzorka bio je isti i to na način da se prvo izdvajanje radilo na žičanom postolju gdje su se u većoj mjeri izdvojene kožice i zaostale peteljke. Nakon što su sjemenke izdvojene iz komine, bile su oprane u čistoj vodi od grožđanog soka iz masulja. Isprani su šećeri kako ne bi došlo do razvoja plijesni na sjemenkama, nakon čega je slijedio postupak sušenja sjemenki u automatskoj sušari u ciklusima po 2 dana pri temperaturi sušenja od 50-60°C.

Po sušenju sjemenki pristupilo se ventiliranju pomoću ventilatora po principu aeracije sjemenki kako bi se potpuno očistio sadržaj sjemenki od kožica i drugih primjesa, te je na kraju uslijedilo prosijavanje sjemenki kroz sito sa ciljem dobivanja čistog uzorka sjemenki od grožđa.

Ekstrakcija sjemenki grožđa izvršena je postupkom hladnog tiještenja u uslužnoj uljari Tkalec. Uzorak 1 (sjemenke grožđa Crnog pinota) težio je 22 kilograma i iz tog uzorka uspjelo se ekstrahirati 2 litre ulja nakon taloženja.

Uzorak 2 (sjemenke grožđa Rajnski rizling) težio je 20 kilograma i iz tog uzorka uspjelo se ekstrahirati 1.8 litara ulja nakon taloženja.

Uzorci ulja nakon toga predani su na fizikalno-kemijsku analizu i to:

- sadržaj masnih kiselina,
- sadržaj vode,
- određivanje peroksidnog broja,
- mikrobiološku analizu (prisustvo aerobnih mezofilnih bakterija, prisustvo kvasaca i plijesni te prisustvo *Listeria monocytogenes*).

Uzorak 1, analitičko izvješće:

a) Fizikalno-kemijska analiza

Slobodne masne kiseline	HRN EN ISO 660:2010	%	0.62
Sadržaj vode	HRN ISO 1442:1997	%	0.15
Peroksidni broj	HRN EN ISO 3960:2010	mmol O ₂ /kg	9.76

Izvor: Zavod za javno zdravstvo Varaždinske županije - kemijski laboratorij

b) Mikrobiološka analiza

Aerobne mezofilne bakterije	HRN EN ISO 4833-1:2013	cfu/g	0
Kvasci i plijesni	HRN ISO 7594:2002	cfu/g	0
Enterobacteraceae	HRN ISO 21528-2:2008	cfu/g	0
Listeria monocytogenes	HRN EN ISO 11290-1:1999		n.n. ²¹

Izvor: Zavod za javno zdravstvo Varaždinske županije - kemijski laboratorij

²¹ n.n. - nije nađeno

Uzorak 2, analitičko izvješće:

a) Fizikalno-kemijska analiza

Slobodne masne kiseline	HRN EN ISO 660:2010	%	0.92
Sadržaj vode	HRN ISO 1442:1997	%	0.4
Peroksidni broj	HRN EN ISO 3960:2010	Mmol O ₂ /kg	3.30

Izvor: Zavod za javno zdravstvo Varaždinske županije - kemijski laboratorij

b) Mikrobiološka analiza

Aerobne mezofilne bakterije	HRN EN ISO 4833-1:2013	Cfu/g	0
Kvasci i plijesni	HRN ISO 7594:2002	Cfu/g	0
Enterobacteriaceae	HRN ISO 21528-2:2008	Cfu/g	0
Listeria monocytogenes	HRN EN ISO 112901:1999		n.n. ²²

Izvor: Zavod za javno zdravstvo Varaždinske županije - kemijski laboratorij

Sve analize su provedene u kemijskom laboratoriju Hrvatskog Zavoda za Javno zdravstvo Varaždinske županije.

²² N.n.-nije nađena

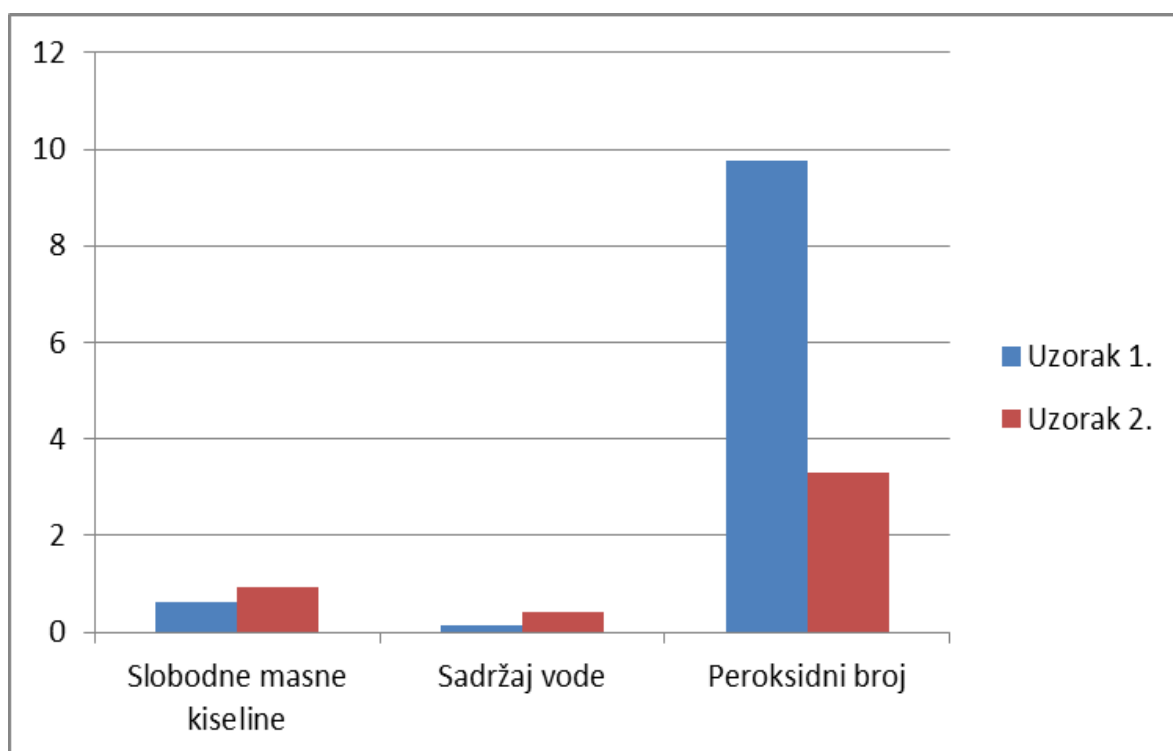
Sadržaj masnih kiselina određivan je po principu titracije s otopinom natrij-hidroksida $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$, prema standardnoj ISO metodi 660:2010 i kao rezultat kod Uzorka 1 dobiveno je 0.62 %, dok je kod Uzorka 2 taj rezultat bio 0.92%.

Peroksidni broj određen je prema ISO standardu 3960:2010 po principu utrošenog natrij tiosulfata $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0.01 \text{ mol/L}$ potrebnog za titraciju uzorka ulja. Postupak je dao sljedeće rezultate: kod Uzorka 1 dobiveni rezultat je 9.76 mmol O_2/kg , a kod Uzorka 2 taj je rezultat 3.30 mmol O_2/kg .

Sadržaj vode određen je prema ISO standardu 1441:1997 po principu razlike u masi posude s uzorkom ulja prije i nakon sušenja na temperaturi $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Dobiveni rezultat Uzorka 1 je 0.15% vode, a kod Uzorka 2 taj je rezultat 0.4%. Ukupno dobiveni rezultati fizikalno-kemijske analize Uzorka 1 i Uzorka 2, prikazani su na slici 15.

Mikrobiološki nalaz u kojem se ispitalo prisustvo aerobnih mezofilnih bakterija, prisustvo kvasaca i plijesni i prisustvo *Listeria monocytogenes* bio je negativan što potvrđuje zdravstvenu ispravnost ulja.

Slika 15. Rezultati fizikalno-kemijske analize ulja



5. ZAKLJUČAK

Na osnovi proizvodnje ulja od sjemenki grožđa i njegovoj analizi mogu se izvesti sljedeći zaključci:

Sadržaj masnih kiselina u oba uzorka odgovara Pravilniku o jestivim uljima, te prema sadržaju istih proizlazi da je ulje nerafinirano i dobiveno postupkom hladnog prešanja.

Analizom sadržaja vode može se zaključiti da je sadržaj vode kod Uzorka 1 unutar dopuštenih granica, dok je sadržaj vode kod Uzorka 2 0.4%, što predstavlja gornju granicu. Iz tog se može zaključiti da sjemenke Uzorka 2 nažalost nisu bile dovoljno sušene.

Kod analize peroksidnog broja velika razlika između uzoraka nastala je uslijed dužeg skladištenja sjemenki Uzorka 1 (jedna godina) što znači da su se pri skladištenju, premda su dobro čuvane od bakterija, kvasaca i plijesni, ipak desila oksidacija primarnih produkata u sjemenkama, te kao takvo ulje iz Uzorka 1 nije prihvatljivo za stavljanje u promet, dok ulje iz Uzorka 2 u potpunosti odgovara zahtjevima.

Prema mikrobiološkoj analizi u kojoj su se ispitivale aerobne mezofilne bakterije, kvasci i plijesni te *Listeria monocytogenes*, nije pronađeno prisustvo istih, te se može zaključiti da je ulje iz Uzorka 1 i Uzorka 2 kao takvo zdravstveno ispravno za ljudsku upotrebu.

Vinogradarstvo kao jedna od bitnih gospodarskih grana u Hrvatskoj, osim sa gledišta proizvodnje grožđa i vina kao glavnog proizvoda, ima dobru perspektivu da se dignu na još višu razinu, koristeći i prerađujući kominu (otpad) koji ostaje nakon glavne proizvodnje.

Otpad ako se ne iskoristi, postaje problem i zagađuje okoliš, a zapravo predstavlja vrijedan izvor organskih tvari koje se mogu upotrebljavati na različite namjene: kao gnojivo u bilinogojskoj proizvodnji, u proizvodnji plina za grijanje, za ekstrakciju fenolnih tvari koje služe kao razni dodaci u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji i dr. Baš zato ne bi se smjelo dopustiti da ostane neiskorišten.

Postojanjem jačih vinogradarskih centara, naročito kada bi se prerada grožđa vršila na zadružnoj ili industrijskoj osnovi, nastala bi veća koncentracija komine na jednom mjestu što bi ekonomski gledano ispunjavalo sve preduvjete za jeftino i efikasno sakupljanje sjemenki grožđa potrebnog za proizvodnju ulja.

Prema istraživanjima razne literature može se zaključiti da ulje sjemenki grožđa spada u ulja kojeg karakterizira sadržaj oleinske kiseline 13-40% i linolne kiseline 40-70%. Te masne kiseline spadaju u esencijalne masne kiseline (omega 6 masne kiseline), što znači da ih organizam ne može sam sintetizirati već se moraju unijeti u organizam prehranom. Za normalnu funkciju organizma, potrebno je izbalansirati omega 6 i omega 3 masne kiseline u omjeru 4:1. Točka vrelišta mu je 216°C, a mirisom podsjeća na razblaženo vino ili vinski ocat pa je zato jako interesantno ulje u kulinarstvo pri pripremi raznih jela i salata.

Za farmaceutske i kozmetičke industrije, ulje je interesantno zbog relativno visokog sadržaja proantocijanidina i tokoferola te je jedno od glavnih ulja koje se koristi pri problemima masne i problematične kože. Koža ga lako upija i nije komodogeno (ne začepljuje pore).

Pri kupnji ulja od sjemenki grožđa treba voditi računa o tome da je nerafinirano, jer su mnoga ulja na tržištu dobivena ekstrakcijom organskim otapalima (heksanom), što ih čini kancerogenima.

6. LITERATURA

1. Aladić, K., (2015.): Optimizacija ekstrakcije konopljinog ulja superkričnim CO₂ iz pogače nakon hladnog prešanja, Doktorska disertacija, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku.
2. Amić, D., (2008.): Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb
3. Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., Mavromatis, A. (2006.): Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, broj 41, str. 475-487.
4. Baydar, N.G., Akkur, M. (2001.): Oil content and oil quality properties of some grape seeds, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, broj 25, str. 163-168.
5. Bockisch, M. (1998.): *Fats and oils Handbook*, Hamburg, Germany
6. Crews, D. E. (2005.): *Evolutionary perspectives on human longevity and frailty*, Springer-Verlag, str. 57-65.
7. Dimić, E. (2005.): *Hladno ceđena ulja*, Tehnološki fakultet Novi Sad.
8. Domokos, J., Kiss, B. (2002.): Néhány szempont a szőlőfeldolgozás melléktermékeinek hasznosításához, *Olaj Szappan Kozmetika*, broj 51, str. 113-115.
9. Državni Zavod za statistiku Republike Hrvatske, *Statistički ljetopis 2007.*, Zagreb
10. Fremont, L., *Biological Effects of Resveratrol*, *Life Sciences*. 66 (2000.): 663–673. doi:10.1016/S0024-3205(99)00410-5. PMID 10680575. Retrieved 6 June 2014.
11. Food Standards Agency (1991.): "Fats and Oils", McCance & Widdowson's *The Composition of Foods*, Royal Society of Chemistry. https://hr.wikipedia.org/wiki/Masne_kiseline (15.10.2016.)
12. Gunstone, F.D. (2004.): *The Chemistry of Oils and Fats*. Blackwell Publishing, UK.
13. Gunstone, F. D., John L. Harwood, and Albert J. Dijkstra, (2007.): *The Lipid Handbook with Cd-Rom*, 3rd ed. Boca Raton, CRC Press
14. Higdon J, Drake VJ, Steward WP (2016.): "Resveratrol". *Micronutrient Information Center*. Linus Pauling Institute, Oregon State University, Corvallis, OR.

15. Hrvatska enciklopedija, Broj 4 (Fr-Ht), str. 505. Za izdavača: Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb 2002.g. ISBN 953-6036-34-7.
16. Hrvatska enciklopedija, Broj 8 (O-Pre), str. 239. Za izdavača: Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb 2000.g. ISBN 953-6036-29-0 (cjelina) i 953-6036-32-0.
17. Jokić, S. (2011.): Matematičko modeliranje ekstrakcije ulja iz zrna soje superkričnim CO₂, Doktorska disertacija, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek.
18. Katalenić, M. (2007.): Masti i ulja u prehrani, Hrvatski časopis za javno zdravstvo, Vol 3, Broj 9.
19. Larrauri, J. A., Ruperez, P. And Calixto, F. S. (1996.): Antioxidant activity of wine pomace, American journal of Enology and Viticulture, broj 47, str. 369-372.
20. Lovrić, T. (2003.): Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, HINUS, Zageb.
21. Moslavac T., Stela Jokić, Pozderović A., Anita Pichler , Barbara Škof (2014.): Glasnik zaštite bilja, broj 6.
22. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE, ŠUMARSTVA I VODNOGA GOSPODARSTVA, Pravilnik o jakim alkoholnim pićima od 8.12.2004., (članak 19), Narodne novine broj 117/03, 130/03, 48/04.
23. MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE REPUBLIKE HRVATSKE, Pravilnik o jestivim uljima i mastima od 5.6.2013., članak 94. stavka 2. Zakona o hrani (Narodne novine br. 46/07, 84/08, 55/11).
24. Nordqvist, J., Medical news today;grape seed extract, how healthful is it, 6.7.2016.
<http://www.medicalnewstoday.com/articles/263332.php>
25. Passos, CP., Silva, RM., Da Silva, FA., Coimbra, MA., Silva, CM. (2008.): Enhancement of the supercritical fluid extraction of grape seed oil by using enzymatically pre-treated seed. The Journal of Supercritical Fluids, broj 160, str. 634-640.
26. Peynaud, E. And Sapis-Domercq (1972.): Connaiss. Vigne Vin 6., str. 72-255.
27. Pletikosa, B., (2014.), (<http://www.pakiranje.net/procesni-strojevi-oprema-i-komponente/prese-za-hladno-presanje-ulja/>), 27.10.2016.

28. Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B., Lonvaud A. (2000.): Handbook of Enology. Volume 1. The microbiology of Wine and Vinifications. John Wiley Sons, LTD, England.
29. Ribereau-Gayon, J., Peynaud, E., P. and Sudraud, P. (1976.): Sciences et Techniques du Vin, Vol. III: Vinifications Transformations du vin.
30. Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud A. (2006.): Handbook of Enology, The Microbiology of Wine and Vinifications, Vol. 1, Wiley&Sons Inc., Chichester, UK
31. Sabliov, C.M, Fronczek, C., Astete, C.E., Khachatryan, L., Leonardi, C. (2009.): Effects of Temperature and UV Light on Degradation of α -Tocopherol in Free and Dissolved Form. J. Am. Oil Chem. Soc., broj 86, str. 895-902.
32. Shahidi, F. (2005.): Bailey's Industrial Oil & Fat Products (Sixth edition), Edible Oil & Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects, EileyInterscience publication, volume 1, str. 269-513.
33. Šošević, S., Zdraviji život uz oligomerne proantocijanidine, Hrana u zdravlju i bolesti : znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku, Vol.2 No.1 Srpanj 2013.
34. Swern, D. (1972.): Industrijski proizvodi ulja i masti po Baileyju, Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
35. Tsao, R., Deng, Z. (2004.): Separation procedures for naturally occurring antioxidant Phytochemicals, Journal of Chromatography broj 812, str. 85-99.
36. Wijerante, S.K.S., Amarowicz, R., Shahidi, F.(2006.): Antioxidant Activity of almonds and Their Byproducts in Food Model Systems. J. Am. Oil Chem. Soc., broj 83, str. 223-230.

7. SAŽETAK

Na svakom poljoprivrednom gospodarstvu koje se bavi proizvodnjom vina javlja se znatna količina komine kao sporedni proizvod, tzv. biološki otpad. Nažalost na većini gospodarstava u Hrvatskoj on se još uvijek ne iskorištava ili se iskorištava vrlo malo za dobivanje vrijednih proizvoda poput ulja iz koštica vinove loze i dr. U ovom završnom radu obrađena je relativno primitivna metodika i način ekstrakcije ulja iz sjemenki vinove loze na OPG Cmrečnjak. Nakon svih potrebnih postupaka odvojene su čiste sjemenke sorti pinot crni i rajnski rizling, osušene i postupkom hladne ekstrakcije iz njih je ekstrahirano ulje. Nakon analize ulja na Zavodu za javno zdravstvo Varaždinske županije, utvrđeno je da se takvo nerafinirano, hladno prešano ulje iz sjemenki loze može koristiti u prehrani i brojnim drugim namjenama. Na taj način iz otpada nakon procesa proizvodnje vina nastaje dodatni proizvod visoke kakvoće, koji gospodarstvu omogućuje i dodatne prihode.

Ključne riječi: sjemenke vinove loze, ulje iz sjemenki grožđa, postupak hladne ekstrakcije