

PROIZVODNJA I RAFINACIJA VISOKO KVALITETNOG ULJA IZ RIBLJIH NUSPROIZVODA

Vlahović, Jelena

Doctoral thesis / Disertacija

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:226:665903>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of University Department of Marine Studies](#)

**SVEUČILIŠTE U SPLITU, SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU**

Poslijediplomski sveučilišni studij Primijenjene znanosti o moru

Jelena Vlahović

**PROIZVODNJA I RAFINACIJA VISOKO KVALITETNOG
ULJA IZ RIBLJIH NUSPROIZVODA**

Doktorski rad

Split, ožujak, 2023.

Ova disertacija je izrađena u laboratorijima Sveučilišnog odjela za studije mora i Zavoda za organsku tehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Vide Šimat, u sklopu Sveučilišnoga poslijediplomskog studija „Primijenjene znanosti o moru“ pri Sveučilištu u Splitu.

ZAHVALE

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Vidi Šimat na pomoći, usmjeravanju i razumijevanju tijekom svog poslijediplomskog obrazovanja. Zahvaljujem joj na pomoći oko odabira teme, na vremenu i podršci tijekom izrade praktičnog i analitičkog dijela doktorskog rada. Hvala joj na poticanju i ustrajnosti u trenucima kada mi je to trebalo.

Zahvaljujem se gosp. Mislavu Bezmalinoviću i Sardini d.o.o. na danim novčanim sredstvima utrošenim za plaćanje školarine. Zahvaljujem kako za materijalnu tako i za moralnu potporu svom direktoru Mislavu Bezmalinoviću koji me je poticao tijekom čitavog doktorskog studija.

Zahvaljujem se svojim kolegama iz Sardine d.o.o. na pomoći oko prikupljanja uzoraka, te kolegicama iz laboratorija na pomoći pri provedbi potrebnih analiza.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Zavoda za organsku tehnologiju koji su pomogli pri izradi eksperimentalnog dijela rada i svima onima koji su na bilo koji drugi način pripomogli realizaciji ovog doktorskog rada.

Posebno hvala mojoj obitelji što su uvijek bili uz mene.

Jelena Vlahović

SADRŽAJ

Sažetak	V
Abstract	VI
1. UVOD	1
1.1. Proizvodnja ribljeg ulja	6
1.2. Rafinacija ribljeg ulja	7
1.3. Parametri kakvoće ulja/Standardi za proizvodnju ulja	8
2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA	13
2.1. Kratki pregled dosadašnjih istraživanja	13
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	16
4. MATERIJALI I METODE	17
4.1. Prikupljanje uzoraka (sirovine) za proizvodnju ulja	17
4.2. Karakterizacija nusproizvoda za proizvodnju ulja	19
4.3. Proizvodnja sirovih ulja	19
4.4. Parametri kakvoće ribljih ulja	20
4.5. Rafinacija i karakterizacija ulja po svakoj fazi	24
4.5.1. Kemijski proces rafinacije ulja	24
4.5.2. Karakterizacija ulja po svakoj fazi	26
4.6. Statističke metode	28
5. REZULTATI	29
5.1. Analiza sirovina za proizvodnju ulja	29
5.2. Sirova ulja	29
5.3. Usporedba ulja cijele srdele i otpada srdele	36
5.4. Usporedba ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta	44
6. RASPRAVA	54
6.1. Sirova ulja	54
6.2. Usporedba ulja srdele i otpada srdele	59
6.3. Usporedba ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta	64
7. ZAKLJUČCI	70
8. LITERATURA	73
9. ŽIVOTOPIS	81
10. POPIS OBJAVLJENIH RADOVA	82

Sveučilište u Splitu, Sveučilišni Odjel za studije mora
Sveučilište u Dubrovniku
Poslijediplomski sveučilišni studij: Primijenjene znanosti o moru

Doktorski rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Interdisciplinarne biotehničke znanosti

PROIZVODNJA I RAFINACIJA VISOKO KVALITETNOG ULJA IZ RIBLJIH NUSPROIZVODA

Jelena Vlahović

Rad je izrađen na Sveučilištu u Splitu, Sveučilišnom Odjelu za studije mora i Zavodu za organsku tehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Sažetak

Hrana morskog podrijetla je ukusna, hranjiva i zdrava zbog čega potražnja za njom raste na globalnoj razini. U tom pogledu riboprerađivačka industrija i akvakultura postaju jedni od najvažnijih sektora proizvodnje hrane. Trend prema proizvodnji gotovih visokokvalitetnih proizvoda zahtijeva više obrade pri čemu se stvaraju velike količine nusproizvoda, a umjesto njihovog bacanja, iskorištavanje nusproizvoda postaje važna industrijska zadaća. Nusproizvodi koji zaostaju u riboprerađivačkoj industriji sadrže mnoge visokovrijedne komponente poput višestruko nezasićenih masnih kiselina, bioaktivnih peptida, kolagena, enzima, minerala, vitamina i sl. Plavoperajna tuna (*Thunnus thynnus*), srdela (*Sardina pilchardus*), lubin (*Dicentrarchus labrax*) i komarča (*Sparus aurata*) važne su gospodarske vrste u preradi i uzgoju ribe u Republici Hrvatskoj, a njihovom preradom nastaju nusproizvodi koji su potencijalno kvalitetna sekundarna sirovina za proizvodnju ribljeg ulja. Cilj ovog rada bio je proizvesti i karakterizirati sirova ulja od nusproizvoda navedenih ribljih vrsta te ih pročistiti bez značajnijeg gubitka vrijednih komponenti. Najveći udio masti i najveći prinos ulja su zabilježeni za nusproizvode tune. U sirovim uljima i tijekom pojedinih faza rafinacije određeni su parametri kakvoće ulja i sastav masnih kiselina. Svi izmjereni parametri sirovih i rafiniranih ulja bili su unutar standardnih vrijednosti za kvalitetna riblja ulja. Kemijska rafinacija kroz četiri faze pokazala se učinkovita u smanjenju nečistoća u uljima, što je rezultiralo smanjenim vrijednostima sadržaja slobodnih masnih kiselina, peroksidnog broja, anisidin vrijednosti, malondialdehida i poboljšanjem oksidacijske stabilnosti ulja. Ulja su nakon rafinacije zadržala sadržaj visoko nezasićenih masnih kiselina i pogodan omjer $n-6/n-3$ te se poboljšao sastav hlapivih spojeva odgovornih za osjetni profil ulja. Korištenjem alternativnih sirovina za proizvodnju ribljeg ulja doprinosi se održivosti sektora ribarstva. Proizvodnja ulja iz nusproizvoda ribarske industrije može ponuditi rješenje koje će poboljšati gospodarenje otpadom i ekološki aspekt prerade ribe te dodati vrijednost otpadu.

(82 stranice, 15 slika, 14 tablica, 91 literaturni navod, hrvatski jezik)

Rad je pohranjen u Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Sveučilišnoj knjižnici u Splitu i u arhivi Sveučilišnog odjela za studije mora u Splitu.

Ključne riječi: nusproizvodi ribarstva, riblje ulje, kemijska rafinacija, visoko nezasićene masne kiseline, *Thunnus thynnus*, *Sardina pilchardus*, *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata*, nutraceutici

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Vida Šimat

Ocjenjivači: 1. Izv. prof. dr. sc. Mirela Petrić
2. Doc. dr. sc. Danijela Skroza
3. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić

Rad prihvaćen: 13. veljače 2023.

University of Split, University Department of Marine Studies
University of Dubrovnik
Postgraduate university study Applied Marine Sciences

Ph.D. thesis

Ph.D. in Biotechnical sciences, research field Interdisciplinary Biotechnical Sciences

PRODUCTION AND REFINEMENT OF HIGH-QUALITY OIL FROM FISH BYPRODUCTS

Jelena Vlahović

Thesis performed at University of Split, University Department of Marine Studies and Department of Organic Technology, Faculty of Chemistry and Technology

Abstract

Fish and seafood is tasty, nutritious and healthy, increasing its demand on a global level. In this regard, the fish processing industry and aquaculture are becoming the most important sectors of food production. The trend towards the production of ready-to-eat high-quality products requires more processing, where large amounts of by-products are created, and instead of throwing them away, the use of by-products is becoming an important industry. By-products produced in the fish processing industry contain many high-value components such as polyunsaturated fatty acids, bioactive peptides, collagen, enzymes, minerals, vitamins, etc. Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*), sardine (*Sardina pilchardus*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*) are important economic species of Croatian fish industry, and their processing produces by-products that are potentially high-quality secondary raw materials for the production of fish oil. The aim of this work was to produce and characterize crude oils from by-products of the mentioned species and to purify them without losing important components. The highest proportion of lipid and the highest yield of oil were recorded for tuna by-products. In crude oils and during individual stages of refining, oil quality parameters and fatty acid composition were determined. All measured parameters of crude and refined oils were within the standard values for high-quality fish oils. Chemical refining through four stages proved to be effective in reducing impurities in oils, which resulted in reduced values of free fatty acids, peroxide number, anisidine value, malondialdehyde, and improved oxidation stability of the oil. After refining, the oils retained their content of highly unsaturated fatty acids and a favorable $n-6/n-3$ ratio, and the composition of volatile compounds responsible for the sensory profile of the oil improved. The use of alternative raw materials for the production of fish oil contributes to the sustainability of the fishing sector. The production of oil from the by-products of the fishing industry can offer a solution that will improve waste management and the ecological aspect of fish processing and add value to the waste.

(82 pages, 15 figures, 14 tables, 91 references, original in Croatian)

Thesis deposited in the National and University Library in Zagreb, Split University Library and archives of the University Department of Marine Studies in Split.

Keywords: chemical refining, *Dicentrarchus labrax*, fish oil, fishery by-products, polyunsaturated fatty acids, nutraceuticals, *Sardina pilchardus*, *Sparus aurata*, *Thunnus thynnus*

Supervisor: Vida Šimat, PhD, Associate professor

Reviewers: 1. Mirela Petrić, PhD, Associate professor
2. Danijela Skroza, PhD, Assistant professor
3. Ivana Generalić Mekinić, PhD, Associate professor

Thesis accepted: 13th February 2023.

1. UVOD

Potražnja za ribom pokazuje kontinuiran rast još od 1990. godine, a u 2018. godini konzumacija ribe *per capita* je prešla 20 kg (FAO, 2020). Povećana proizvodnja ribljih proizvoda na globalnoj razini rezultirala je povećanjem količine nusproizvoda. Prema Uredbi (EZ) br. 1069/2009, riblji nusproizvodi se vode kao otpad treće kategorije, tj. dijelovi životinja koji nisu prikladni za prehranu ljudi. Stoga, nusproizvode zapravo ne bi trebali tretirati kao otpad jer se otpad ne može koristiti za prehranu ljudi i životinja ili za proizvodnju proizvoda dodane vrijednosti (Rustad i sur., 2011).

Nusproizvodi koji nastaju u riboprerađivačkoj industriji sadrže brojne visokovrijedne komponente, kao što su višestruko nezasićene masne kiseline (PUFA), kolagen i želatina, bioaktivni peptidi, enzimi, minerali, vitamini, karotenoidi, hitin, hitosan i drugi. Navedeni spojevi mogu se ekstrahirati iz nusproizvoda i koristiti kao nutraceutici i farmaceutici, u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji ili za proizvodnju biodizela.

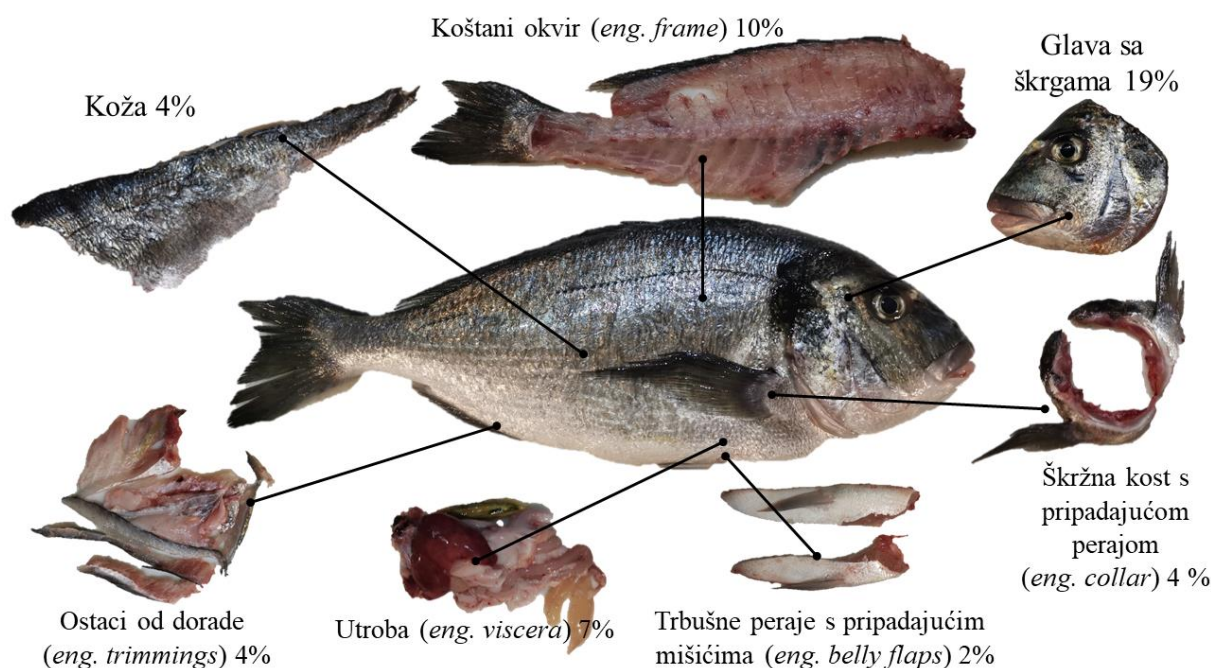
Prema FAO podacima u 2018. godini, od 178.5 milijuna tona ukupne količine proizvedene ribe, čak 88% ili više od 156 milijuna tona iskorišteno je za prehranu ljudi. Preostalih 12%, odnosno 22 milijuna tona, iskorišteno je u neprehrambene svrhe. Od toga, čak 82% ili 18 milijuna tona koristio se za proizvodnju ribljeg brašna i ulja, dok je ostatak od 4 milijuna tona utrošen za proizvodnju hrane za životinje, u farmaceutskoj industriji i sl. (FAO, 2020). Također, procjenjuje se da na proizvodnju ribljeg brašna i ulja od nusproizvoda riboprerađivačke industrije otpada 25 do 35%.

Vrijednost ribljih nusproizvoda je u porastu posljednjih 20-ak godina otkad se počela posvećivati sve veća pažnja njihovom učinkovitom iskorištavanju. Količina ribljih nusproizvoda iz godine u godinu sve više raste zbog stalnog povećanja akvakulturne proizvodnje u Mediteranu i Jadranu, ali i zbog kontinuiranog porasta ulova srdele koja se koristi za preradu ili prehranu tune tijekom uzgoja. Tuna (*Thunnus thynnus*), srdela (*Sardina pilchardus*), lubin (*Dicentrarchus labrax*) i komarča (*Sparus aurata*) važne su gospodarske vrste u preradi i uzgoju ribe u Republici Hrvatskoj (RH). Također, one su i visokokvalitetna sirovina, čiji nusproizvodi predstavljaju kvalitetnu sekundarnu sirovinu za proizvodnju ribljeg brašna i ulja. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku (DZS, 2020) RH, u ukupnom ulovu male plave ribe, 77,8% čini ulov srdele (45 095 t), ukupni uzgoj plave ribe čini tuna (2 747 t), a 95% od ukupnog uzgoja bijele ribe u RH otpada na uzgoj lubina (6 089 t) i komarče (6 774 t). Uzgoj ribe u kontinuiranom je porastu. Osim u RH, trend rasta ahvakulturne proizvodnje ribe vidljiv je i u drugim mediteranskim zemljama poput Malte, Cipra, Turske,

Egipta, Tunisa, Italije i Španjolske. Upravo zbog navedenog povećanja uzgoja i ulova te posljedično povećanja količine nastalih nusproizvoda, ove gospodarski važne vrste su izabrane za proizvodnju i rafiniranje ribljeg ulja u ovom istraživanju.

FAO procjenjuje da se u većini svjetskih regija između 30 i 35% ili 50 i 60 milijuna tona proizvoda ribarstva ili akvakulture izgubi ili završi kao otpad, dok riboprerađivačka industrija generira preko 20 Mt nusproizvoda (FAO, 2020; Marti-Quijal i sur., 2020). Gubitci su značajni i generiraju se kroz cijeli lanac opskrbe. Znatna količina otpada nastaje i prilikom ulova jer se u mreže ulove i vrste koje nisu ciljane ili su ispod minimalno dopuštene veličine.

Nusproizvodi riboprerađivačke industrije nastaju u velikim količinama i njihovo zbrinjavanje predstavlja golem ekonomski i ekološki problem. Konzerviranjem srdele, kao i filetiranjem tune, dobije se 25% nusproizvoda od ukupne mase ribe. Prilikom filetiranja komarči koje spadaju u veličinski razred od 0,5 kg, na filet otpada samo 34% ukupne mase, što znači da tijekom proizvodnje jedne tone fileta komarče nastane 660 kg nusproizvoda. Udio pojedinih nusproizvoda u odnosu na ukupnu težinu komarče je prikazan na Slici 1.1. (Šimat, 2021).



Slika 1.1. Nusproizvodi (%) u odnosu na ukupnu težinu komarče (preuzeto iz Šimat, 2021).

U RH od 68 do 75% industrijske proizvodnje ribe čini konzervirana srdela. Općenito, nusproizvodi koji nastaju tijekom prerade ribe su glava (od 9 do 12% ukupne težine ribe), utroba (od 12 do 18%), koža (od 1 do 3%), kosti (od 9 do 15%) i ljuske (oko 5%) (FAO, 2020). U akvakulturi gubitci se akumuliraju kroz smrt riba zbog problema s opremom ili pogrešnog

rukovanja, smrt riba uslijed djelovanja vanjskih utjecaja (napad životinja ili cvjetanje algi) te pojave zaraznih bolesti (Karadeniz & Kim, 2014). S obzirom da se uzgojna riba hrani kontrolirano, sastav nusproizvoda je relativno jednoličan što može riješiti problem raznovrsnosti, dostupnosti i sezonalnosti ove sirovine.

Stupanj iskorištenosti nusproizvoda ovisi o vrsti ribe obzirom na razlike u procesu proizvodnje pri čemu se generiraju različite količine nusproizvoda. Također, ovisi i o higijeni te načinu rukovanja nusproizvodima. Ova sirovina zahtijeva hladni lanac prilikom skladištenja i prijevoza jer je vrlo kvarljiva i ima jako kratak rok trajanja. Nusproizvodi poput glava, kože i kostiju relativno su stabilni pri niskim temperaturama, dok je utroba izrazito podložna kvarenju čak i pri niskim temperaturama zbog prisutnosti velike količine različitih bakterija i enzima (Rustad i sur., 2011). Stoga je prikupljanje, kao i pravilno skladištenje nusproizvoda od iznimne važnosti za njihovu daljnju uporabu.

Ukoliko se generiranje nusproizvoda ne može spriječiti, najpoželjniji način za njihovo iskorištenje je proizvodnja farmaceutika, dodataka prehrani i proizvoda namijenjenih prehrani ljudi. Nadalje, proizvodnja hrane za životinje, proizvoda za industrijsku upotrebu i energije su prihvatljivi dok je kompostiranje manje poželjno, a odlaganje i spaljivanje bi trebali biti zadnja opcija (Slika 1.2.) (EPA, 2020).

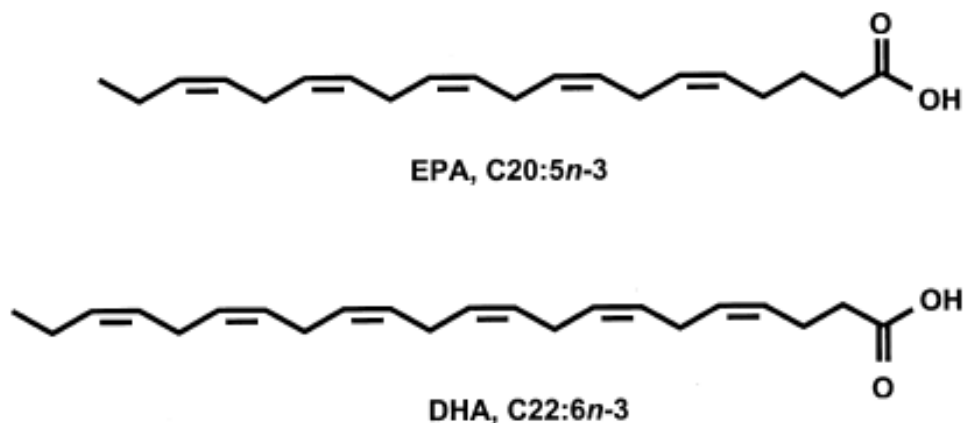


Slika 1.2. Hijerarhijska shema gospodarenja nusproizvodima (prilagođeno iz EPA, 2020).

Nastali nusproizvodi, koji nisu prikladni za ljudsku konzumaciju, imaju potencijal u proizvodnji kvalitetnog ribljeg ulja. U prosjeku je potrebno od 10 do 50 kg ribe kako bi se proizveo 1 kg ribljeg ulja (Stevens i sur., 2018). Riblja ulja dobivaju se metodom ekstrakcije iz ribe ili ribljih nusproizvoda prilikom proizvodnje ribljeg brašna. Zbog potražnje za kvalitetnim ribljim brašnom i uljem na svjetskom tržištu, ovakav način iskorištavanja ribljih nusproizvoda ima dugoročnu isplativost ukoliko je sirovina kvalitetna i osigurana u dostatnim količinama (Tacon & Metian, 2008). Preradom nusproizvoda izbjegava se njihovo odlaganje u okoliš, najčešće u morski ekosustav, prilikom čega se potencira nastanak štetnih vodikovih sulfida koji dovode do toksičnih uvjeta (Lopes da Silva i sur., 2018; Rizliya & Mendis, 2014). Stoga, osim financijskog opterećenja riboprerađivačima i uzgajivačima riba, riblji nusproizvodi predstavljaju i ekološko opterećenje. Danas je u svijetu sve više prerađivača ribljih nusproizvoda u ulje i brašno. Ovi proizvodi se kao sekundarna sirovina dodatno pročišćavaju od nečistoća, te imaju široku primjenu u kozmetičkoj, farmaceutskoj industriji za pripremu krema, sapuna, glicerola, dodataka prehrani, kao i u prehrambene svrhe za izradu masti, maslaca i jestivih ulja (Jayathilakan i sur., 2012). Ipak, najveće količine ribljeg ulja koriste se u proizvodnji ekstrudirane riblje hrane za prehranu riba u uzgoju. Dodatak ribljeg ulja u prehranu riba i ostalih životinja pozitivno djeluje na imunitet i stopu preživljavanja jedinki te smanjuje nastanak deformacija. Riblja ulja su lako probavljiva što pogoduje povećanju prirasta uzgajanih životinja (Kim, 2013).

Tijekom prerade ribljih nusproizvoda u procesu kuhanja i prešanja sirovine ne koriste se nikakve kemikalije koje bi negativno utjecale na ekosustav. Stoga, osim što navedeno predstavlja efikasan način zbrinjavanja nusproizvoda, proizvodnja ribljeg brašna i ulja je i ekološki prihvatljiva. Proizvodnja ribljeg brašna i ulja je najzastupljenija u zemljama s razvijenom ribarskom industrijom kao što su Peru, Čile, Tajland, Vijetnam, Danska, Norveška, Island i Indonezija. Ukupna količina proizvedenog ribljeg ulja u svijetu u 2018. godini je iznosila 1.283.300 tona, što je porast od 290.800 tona u odnosu na 2017. godinu (FAO, 2021).

Riba, tj. riblja ulja izvor su PUFA u prehrani ljudi. U sastavu ribljih ulja najznačajnije su omega-3 (*n-3*) masne kiseline, od kojih eikozapentaenska (EPA) i dokozaheksaenska (DHA) kiselina imaju veliku važnost u očuvanju i zaštiti ljudskog zdravlja (Slika 1.3.), stoga je i trenutna nutricionistička preporuka njihov povećan unos.



Slika 1.3. Kemijska struktura eikozapentaenske (EPA) i dokozaheksaenske (DHA) kiseline (preuzeto iz Semb, 2012).

PUFA se koriste za jačanje imuniteta i fetalnog razvoja ploda stoga se preporučuje njihov dodatan unos trudnicama, djeci i starijim osobama (Rizliya & Mendis, 2014; Swanson i sur., 2012). Također, unos PUFA je povezan sa zaštitom od demencije, Alzheimerove i Parkinsonove bolesti te smanjenjem rizika od kardiovaskularnih bolesti kroz smanjenje krvnog tlaka i pulsa, rizika od tromboze i aritmije te povećanja efikasnosti miokarda i vazodilatacijskog odgovora (Lange, 2020a, 2020b; Shahidi & Ambigaipalan, 2018). Također, pokazalo se i kako dodatan unos smanjuje rizik od nastanka raka inhibiranjem kancerogeneze (Larsson i sur., 2004).

Kod primjene ovih blagotvornih masnih kiselina s vremenom se kao predmet rasprave počeo isticati stupanj čistoće njihovih prehrambenih izvora. Masnoće koje dobivamo ekstrakcijom iz riblje sirovine jesu sirova riblja ulja. Ona sadrže slobodne masne kiseline (SMK), produkte oksidacije, hlapljive spojeve, fosfolipide i druge nečistoće koje smanjuju nutritivnu vrijednost, kvalitetu i rok trajanja ulja (Huang & Sathivel, 2010). Uspostavljenjem pogodnih postupaka za pročišćavanje (rafinaciju) podiže se komercijalna vrijednost ulja te se poboljšavaju njegova kvalitativna svojstva, uz zadržavanje optimalnog sastava masnih kiselina (Chakraborty & Joseph, 2015b). Otklanjanje nečistoća iz ribljeg ulja utječe i na produljenje njegova roka trajanja (Huang & Sathivel, 2010).

Kvaliteta sirovine ili nusproizvoda za proizvodnju ribljeg ulja ovisi o fizikalno-kemijskim svojstvima sirovine, ribljoj vrsti, sezoni ulova, načinu hranjenja, geografskoj lokaciji i uvjetima okoliša (Kara i sur., 2018), kao i primjenjenim metodama ekstrakcije ulja iz ribljeg otpada (Chakraborty & Joseph, 2015a; Nazir i sur., 2017).

1.1. Proizvodnja ribljeg ulja

Proizvodnja ribljeg brašna i sirovog ribljeg ulja tradicionalno se provodi metodom mokrog prešanja (Chakraborty & Joseph, 2015a), kod koje su osnovni koraci kuhanje i separacija. Kuhanje potiče koagulaciju bjelančevina pri čemu se izlučuju voda i ulje dok se tijekom separacije odvajaju kruti dio, koji je po sastavu suha tvar bogata bjelančevinama, i tekući dio koji sadrži vodu, ulje, otopljene bjelančevine, vitamine i minerale. Tekući dio se centrifugira kako bi se odvojio talog od vode u dekanteru (odvajanje uljne faze), dok se kruti dio dodatno suši i predstavlja gotov proizvod, tj. riblje brašno. Važan preduvjet za učinkovito odvajanje ribljeg ulja je visoka temperatura kuhanja, minimalno 95 °C.

Osim metode proizvodnje ribljeg ulja mokrim prešanjem, u proizvodnji sirovih ribljih ulja koriste se i metode hidrolize, autolize, suhog prešanja, ekstrakcija pomoću otapala i superkrična tekućinska ekstrakcija (Šimat i sur., 2017), a posljednjih godina dodatno se razvijaju i metode ekstrakcije ulja potpomognute mikrovalovima ili ultrazvukom (Khawli i sur., 2019).

Različite metode ekstrakcije kao rezultat imaju različitu količinu nečistoća i primjesa u ribljem ulju (Chakraborty & Joseph, 2015b). Sirovo riblje ulje dobiveno metodom mokrog prešanja može se primjenjivati u proizvodnji stočne hrane ili kao dodatak u akvakulturi te u industriji za proizvodnju boja, lakova i pesticida. Ova metoda ima široku primjenu zbog svoje jednostavnosti i lake primjene na industrijskoj razini, a ulja su dosta dobre kvalitete. Tako na primjer sirova riblja ulja srdele dobivena metodom mokrog prešanja imaju veći sadržaj masti, manji udio slobodnih masnih kiselina, niži saponifikacijski broj, niži kiselinski broj, nižu *p*-anisidin vrijednost, nižu TOTOX vrijednost i nižu TBARS vrijednost u usporedbi s konvencionalnom metodom proizvodnje (Chakraborty & Joseph, 2015a).

Riblja ulja dobivena metodom mokrog prešanja su izrazito gusta i mutna. Sadrže nečistoće i različite spojeve poput slobodnih masnih kiselina, monodiglicerida, diglicerida, fosfatida, steroida, vitamina, ugljikovodika, pigmenata, ugljikohidrata, bjelančevina i njihovih produkata koji riblje ulje čine neprikladnim za ljudsku konzumaciju (Morais i sur., 2001). Prisutnost PUFA čini riblje ulje iznimno podložnim oksidativnom kvarenju što utječe na promjenu njegovih organoleptičkih karakteristika i nutritivnih vrijednosti osobito ako su izložena različitim temperaturama i utjecaju svjetlosti tijekom procesa skladištenja (Moretto & Fett, 1998). Odabir pogodne metode u proizvodnji sirovog ribljeg ulja osigurava kvalitetu, no treba uzeti u obzir i kvantitativnu iskoristivost ribljih nusproizvoda. Riblje ulje treba pravilno skladištiti na tamnom mjestu unutar pogodnog temperaturnog režima, kako bi se očuvala

njegova kvalitativna svojstva. Za ljudsku prehranu nužno je dodatno pročistiti ulje, tj. odstraniti sve nečistoće koje mogu potencijalno potaknuti proces njegova kvarenja ili mogu biti prekursori nastanku spojeva koji imaju štetno djelovanje na zdravlje ljudi. Proces pročišćavanja ribljeg ulja naziva se rafinacija.

Sirovo riblje ulje se procesom kemijske rafinacije može pročistiti do visokokvalitetnog ulja pogodnog za ljudsku konzumaciju. Osim pročišćavanja cilj rafinacije je i produljenje roka trajanja ulja, te poboljšavanje njegovih kvalitativnih svojstava, a tijekom ovog procesa izuzetno je važno da ne dođe do narušavanja oksidacijske stabilnosti ulja. Proces rafinacije trebao bi predstavljati kompromis između uklanjanja nepoželjnih spojeva i zadržavanja spojeva koji pridonose kvaliteti ulja, stoga odabir odgovarajuće metode rafinacije zahtijeva veliku pažnju, obzirom da on nosi ključnu ulogu u očuvanju kvalitete ulja. U konačnici, ukoliko je loše provedena, rafinacija može pridonijeti kvarenju ribljeg ulja.

1.2. Rafinacija ribljeg ulja

Proces rafinacije ribljeg ulja sastoji se od nekoliko faza. Prva faza rafinacije je degumiranje, proces u kojem se sirovo riblje ulje podvrgava djelovanju vode i fosforne kiseline pri čemu se iz ulja odstranjuju fosfolipidi, bjelančevine i lipoproteini te ostale tvari koje stvaraju talog. Degumirano ulje se dodatno centrifugira radi uklanjanja nepoželjnih „gumastih“ materijala (Chakraborty & Joseph, 2015b). Tijekom neutralizacije koja je sljedeća faza rafinacije, degumiranom ulju dodaje se lužina (NaOH) s ciljem odstranjivanja slobodnih masnih kiselina koje nastaju hidrolizom triglicerida (Crexi i sur., 2010). Osim slobodnih masnih kiselina u ovoj fazi se odstranjuju i drugi spojevi koji reagiraju s lužinom poput zaostalnih fosfolipida, aromatičnih tvari, sluzavih tvari, lipokroma i sl. Neutralizirano ulje se dodatno centrifugira kako bi se odvojili nastali sapuni te se ispiru deioniziranom vodom (Chakraborty & Joseph, 2015b). Rezultat ove faze je smanjenje kiselinskog broja (sadržaja slobodnih masnih kiselina) ulja. Nakon toga slijedi faza izbjeljivanja kod koje se neutraliziranom ulju dodaje apsorbens (aktivni ugljen, Fullerova zemlja, celulozni prah ili hitin purificirani prah) s ciljem odstranjivanja pigmenata, tragova metala, hidroperoksida te tragova sapuna i drugih neželjenih sastojaka. Najučinkovitiji apsorbenzi su aktivni ugljen i Fullerova zemlja ili njihova kombinacija u različitim omjerima (Chakraborty & Joseph, 2015b). Apsorbens djeluje tako da na sebe veže nepoželjne sastojke. Ulje se zagrijava te nakon hlađenja centrifugira radi odvajanja taloga. Ulje i dalje ima tamno obojenje i potrebno ga je dodatno filtrirati. Posljednja faza rafinacije ulja je deodorizacija. Ovim postupkom uklanjaju se strani mirisi u ulju na način da se

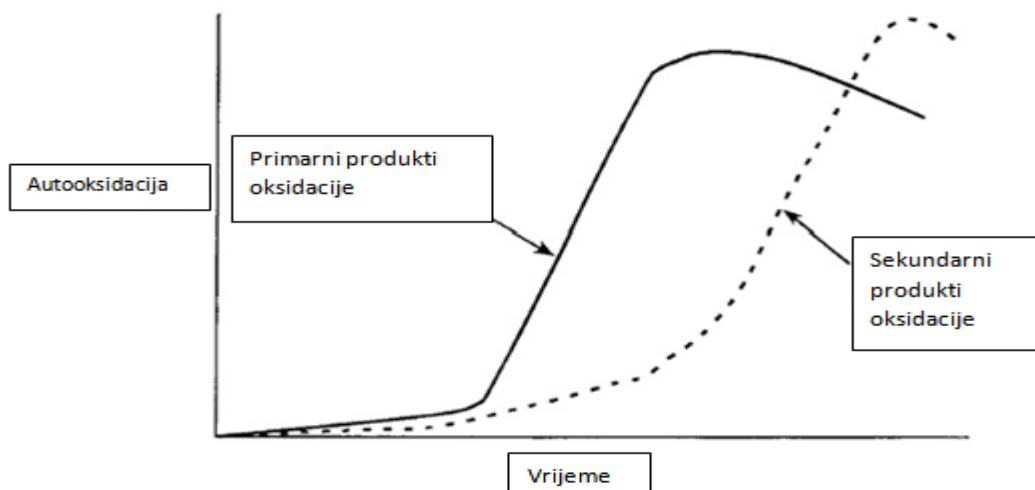
eliminiraju lako hlapljivi spojevi metodom vakuum destilacije. Hlapljivi sastojci u ribljim uljima su: ugljikovodici, aldehidi, ketoni, slobodne masne kiseline i peroksidi (Soldo i sur., 2019). U ovoj fazi se izbijeljenom ribljem ulju dodaje deionizirana voda te se potom destilacijom pod vakuumom uklanjaju hlapljive komponente. Ulje se dodatno zagrijava zbog boljeg otpuštanja hlapivih spojeva. Ovu fazu treba provoditi pažljivo zbog mogućnosti nastanka *trans*-nezasićenih masnih kiselina.

Kao dodatna faza u rafinaciji ribljeg ulja, može se primjeniti faza vinterizacije. Cilj ove faze je odstranjivanje voskova iz ulja dodavanjem sredstava za formiranje kristala. Vinterizacija se koristi u cilju koncentriranja PUFA, osobito EPA i DHA (Ganga i sur., 1998).

1.3. Parametri kakvoće ulja/Standardi za proizvodnju ulja

Testovi i parametri kojima se mjeri stabilnost i kakvoća ribljih ulja su: peroksidni broj (PB), tiobarbiturni test (TBARS), kiselinski broj (KB), *p*-anisidin vrijednost (*p*AV) i oksidacijska stabilnost ili inhibicijski period akcelerirane oksidacije (Rancimat test) (Boran i sur., 2006). Osim navedenih testova i parametara, često se za procjenu parametara kakvoće ulje analizira i sastav masnih kiselina te sadržaj tokoferola i hlapivih spojeva.

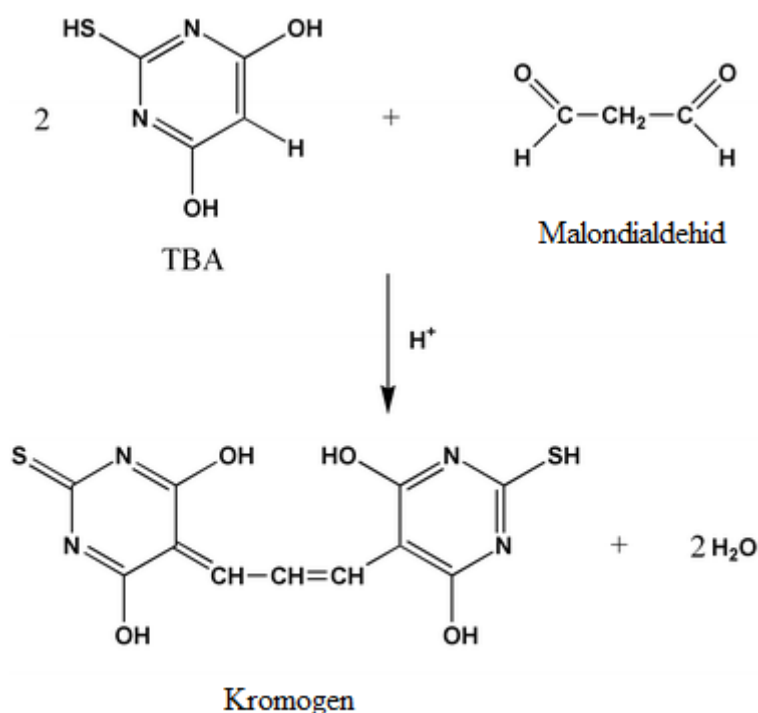
Nakon proizvodnje i tijekom skladištenja dolazi do procesa autooksidacije ribljeg ulja i stvaranja nepoželjnih spojeva. Na početku oksidacijskog procesa u ribljim uljima akumuliraju se primarni produkti oksidacije (peroksidi i hidroperoksidi). Oni ne mijenjaju senzorske karakteristike ulja stoga se ne mogu detektirati organoleptički, već njihovu prisutnost i nastanak možemo pratiti mjerenjem parametara kakvoće ulja. Nakon primarne oksidacije dolazi do sekundarne oksidacije ulja pri čemu nastaju aldehidi i ketoni koji rezultiraju stvaranjem neugodnog, kiselkastog mirisa ulja (Slika 1.3.1.).



Slika 1.3.1. Teoretska kinetika razvoja primarnih i sekundarnih produkata oksidacije kao funkcije vremena tijekom oksidacije masti (preuzeto iz Semb, 2012).

Peroksidni broj je parametar koji pokazuje razinu primarne oksidacije masnih kiselina, odnosno količinu nastalih hidroperoksida. Vrijednost peroksidnog broja izražava se u miliekvivalentima (mekv) O_2/kg . Određivanje peroksidnog broja je metoda detekcije primarne faze oksidacije, a peroksidni broj je najčešće određivan parametar kakvoće masti i ulja. Prema standardima farmaceutske industrije prihvatljiva granična vrijednost za peroksidni broj iznosi 8 mekv O_2/kg ulja (Boran i sur., 2006).

Tiobarbiturni test (TBARS) je metoda mjerenja produkata sekundarne oksidacije (μmol TBARS/g uzorka) formiranjem kompleksa nastalog reakcijom tiobarbiturne kiseline (TBA) i produkta oksidacije nezasićenih masnih kiselina, primarno malondialdehida, pri čemu nastaje ružičasti kompleks jake apsorpcije na valnim duljinama od 532 do 535 nm. Na Slici 1.3.2. je prikazana reakcija tiobarbiturne kiseline i malondialdehida. Prihvatljiva granična vrijednost za tiobarbiturni test je od 7 do 8 mg malondialdehida/kg ulja.

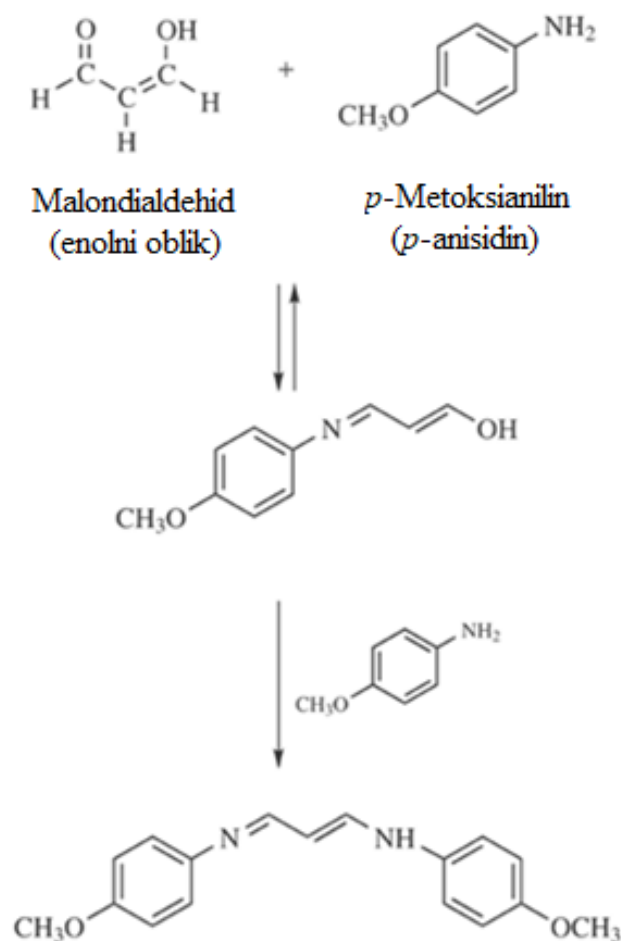


Slika 1.3.2. Reakcija tiobarbiturine kiseline (TBA) i malondialdehida (MDA) (preuzeto iz Antolovich i sur., 2002).

Stupanj hidrolize se mjeri kiselinskim brojem ili brojem neutralizacije koji se definira kao miligrami kalijeva hidroksida (mg KOH) potrebni za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina u 1 g masti ili za neutralizaciju 1 g masnih kiselina. Slobodne masne kiseline se stoga određuju se titracijom s otopinom kalijeva hidroksida (Sadasiyam & Manickam, 2008).

Povećani udio slobodnih masnih kiselina u uljima karakterizira ulje lošije kvalitete i ubrzava proces kvarenja u ulju. Postotak slobodnih masnih kiselina je često obrnuto proporcionalan sa sadržajem svih ostalih sastojaka koji pridonose kvaliteti (aromatski spojevi, vitamini, polifenoli i drugi), a time i njegovoj prehrambenoj vrijednosti.

Određivanje *p*-anisidin vrijednosti (*p*AV) u uljima prikazuje količinu ne hlapljivih karbonilnih spojeva, koji predstavljaju sekundarne produkte oksidacije (aldehide), nastalih razgradnjom nestabilnih primarnih produkata oksidacije. Metoda se temelji na reakciji između *p*-anisidina i aldehidnih spojeva (uglavnom 2-alkenali i 2,4-alkadienali) prisutnih u uzorku ulja u kiselim uvjetima (Slika 1.3.3.). Reakcijom nastaje žuto obojeni spoj maksimalne apsorpcije pri 350 nm (Semb, 2012). *p*AV se definira kao 100 puta vrijednost optičke gustoće otopine koja sadrži 1 g ulja u 100 mL mješavine otapala i reagensa. Ukoliko je vrijednost sirovog ribljeg ulja manja od 20 smatra se da je ulje prihvatljive kakvoće (Crexi i sur., 2010).



Slika 1.3.3. Prikaz reakcije između *p*-anisidin reagensa i malonaldehida (preuzeto iz Shahidi & Wanasundara, 2002).

Holm (1972) je predložio TOTOX vrijednost kao kombinirani izraz sume primarne i sekundarne oksidacije proizvoda potvrdom da povećanje jedne peroksidne vrijednosti (PB) odgovara povećanju dviju *p*AV. Stoga TOTOX vrijednost ($2PB + pAV$) predstavlja vrijednost ukupnog oksidacijskog statusa ulja.

Rancimat test se zasniva na izlaganju uzorka ulja struji vrućeg zraka pri temperaturama od 50 do 200 °C. Hlapljivi produkti oksidacije, uglavnom mravlja kiselina, nošeni strujom vrućeg zraka prelaze u posudu za mjerenje napunjenu destiliranom vodom i tu se apsorbiraju. Rancimat krivulja se izrađuje temeljem praćenja provodljivosti destilirane vode koja se kontinuirano prati. Točka infleksije dobivene krivulje se naziva indukcijski period i mjera je oksidacijske stabilnosti uzorka ulja, a dobivena vrijednost indukcijskog perioda (vrijeme u satima) ukazuje na otpornost ulja prema oksidaciji. Podatci o oksidacijskoj stabilnosti ribljeg

ulja su važni za određivanje vijeka trajanja ulja bez vidljivih senzorskih karakteristika kvarenja (Šimat i sur., 2017).

Za analiziranje sastava masnih kiselina, masti i ulja se moraju pretvoriti u metilne estere masnih kiselina, a nastali esteri masnih kiselina se identificiraju i kvantificiraju metodom plinske kromatografije FID detekcijom (ISO 2966-2:2017, 2017) uz korištenje dostupnih standarda za njihovu potvrdu.

2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

2.1. Kratki pregled dosadašnjih istraživanja

Nastavno na zahtjeve tržišta za iskorištenjem nusproizvoda i proizvodnjom visokokvalitetnih ribljih ulja, posljednjih godina se provode brojne studije koje imaju za cilj valorizirati nusproizvode ribarstva i odbačene vrste riba. Karakterizirano je ulje dobiveno iz nusproizvoda haringe (Aidos i sur., 2001), nusproizvoda lososa (Huang & Sathivel, 2010), nusproizvoda i utrobe šarana (Crexi i sur., 2010; Honold i sur., 2016b), nusproizvoda nilske tilapije (Menegazzo i sur., 2014), nusproizvoda tune (Ahmed i sur., 2017; Fang i sur., 2019; Ferdosh i sur., 2015; Khoddami i sur., 2012; Nazir i sur., 2017), nusproizvoda oslića (Rubio-Rodríguez i sur., 2012), nusproizvoda gofa (Franklin i sur., 2020) i odbačenih batoglavaca, srdela, šaruna mediteranskih i bukvi (García-Moreno i sur., 2013). Ulja spomenutih nusproizvoda su ekstrahirana korištenjem nekoliko metoda: ekstrakcije superkritičnim CO₂, ekstrakcije superkritičnim dimetil-eterom, Soxhlet ekstrakcijom, mokrim prešanjem, enzimskom ekstrakcijom i ribljom silažom. Zaključci studija se razlikuju ukoliko se uspoređuju korištene ekstrakcije. Npr. u nekim studijama bolji prinos je dobiven prilikom korištenja ekstrakcije superkritičnim CO₂ u odnosu na druge ekstrakcije dok su pojedini autori dobili suprotne rezultate. Međutim, svi autori su zaključili da se nusproizvodi korištenih ribljih vrsta te odbačene vrste mogu koristiti za proizvodnju ribljeg ulja visoke kvalitete i udjela PUFA. U nastavku je dan prikaz odabranih studija koje su valorizirale nusproizvode i odbačene vrste za proizvodnju ulja (Tablica 2.1.). Chakraborty i Joseph (2015a) su proveli šest različitih ekstrakcija ulja iz indijske uljne srdele (*Sardinella longiceps*) i to ekstrakciju Bligh i Dyer metodom, ekstrakciju 40% etanolom, ekstrakciju 95% etanolom, ekstrakciju destiliranom vodom, kuhanje pa zatim ekstrakciju Bligh i Dyer metodom te kuhanje i prešanje. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti kako je kuhanje i prešanje učinkovita i ekološki prihvatljiva metoda ekstrakcije ulja koje je imalo bolje parametre kvalitete i dužu oksidacijsku stabilnost od ulja proizvedenih drugim tehnikama. Nakon kuhanja i prešanja, sirovo ulje je podvrgnuto modificiranom postupku rafinacije kroz četiri faze kako bi se proizvelo ulje veće nutritivne kvalitete obzirom na veći udio PUFA (Chakraborty & Joseph, 2015b). Rafinirano ulje kojem su postupkom rafinacije uklonjeni neželjeni spojevi je pogodno za korištenje u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Pregledom objavljenih istraživanja je utvrđeno kako do sada još nema

istraživanja o proizvodnji i rafinaciji ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta iako se akvakulturna proizvodnja ubrzano povećava.

Tablica 2.1. Prikaz dosadašnjih studija ekstrakcije ulja iz nusproizvoda i odbačenih ribljih vrsta.

Nusproizvod	Metoda ekstrakcije	Rezultat	Referenca
Gof (<i>Seriola quinqueradiata</i>)	Ekstrakcija SC-CO ₂ i Soxhlet ekstrakcija	SC-CO ₂ ekstrakcija je imala manji prinos, ali ulje je imalo bolja fizikalno-kemijska svojstva	Franklin i sur., 2020
Jetra tunja prugavca (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	Ekstrakcija superkritičnim dimetil-eterom, mokro prešanje, enzimatska ekstrakcija i SC-CO ₂ ekstrakcija	SC-CO ₂ ekstrakcija i ekstrakcija superkritičnim dimetil-eterom su imale veći prinos ulja, spriječile oksidaciju lipida i smanjile degradaciju PUFA i vitamina	Fang i sur., 2019
Glave dugorepe tune (<i>Thunnus tonggol</i>)	SC-CO ₂ ekstrakcija	Ulje ekstrahirano sa SC-CO ₂ ostaje prihvatljive kvalitete za konzumaciju na obje testirane temperature (4 °C i -18 °C) do 60 dana	Sahena i sur., 2014
Trbušni dio, ostaci mišića, kosti i koža lososa (<i>Salmo salar</i>)	SC-CO ₂ ekstrakcija i ekstrakcija heksanom	Ekstrakcija heksanom je imala veći prinos ulja dok je SC-CO ₂ ekstrakcija rezultirala uljem s većim udjelom PUFA	Haq i sur., 2017
Glave, koža i utroba dugorepe tune (<i>Thunnus tonggol</i>), trupca (<i>Auxis thazard</i>) i indopacifičkog luca (<i>Euthynnus affinis</i>)	SC-CO ₂ i Soxhlet ekstrakcija	Ulje dobiveno SC-CO ₂ ekstrakcijom je imalo niže PB i SMK vrijednosti. Najveći udio PUFA je potvrđen u uljima dobivenim iz glava za obje metode	Ferdosh i sur., 2015
Koža, ljuške i kosti velikooke tune (<i>Thunnus obesus</i>)	SC-CO ₂ i Soxhlet ekstrakcija	Sastav masnih kiselina nije varirao između korištenih metoda ekstrakcije, osim za EPA i DHA. Ulje dobiveno SC-CO ₂ ekstrakcijom je bilo bolje kvalitete, tj. bolje oksidacijske stabilnosti i s većom količinom PUFA	Ahmed i sur., 2017
Odbačena riba sapunar	Riblja silaža (zagrijavanje na 50 °C, centrifugiranje i	Ulja dobivena ovim procesom su imala PB, TBARS, pAV i TOTOX	Özyurt i sur., 2019

<i>(Equulites klunzingeri)</i>	odvajanje gornjeg sloja ulja)	vrijednosti u prihvatljivim granicama što ih čini pogodnima za konzumaciju. Također su imala i visok udio PUFA	
Odbačeni batoglavci (<i>Pagellus acarne</i>), srdele (<i>Sardina pilchardus</i>), šaruni mediteranski (<i>Trachurus mediterraneus</i>), mačke bljedice (<i>Scyliorhinus canicula</i>) i bukve (<i>Boops boops</i>)	Prešanje u tri koraka	EPA i DHA su značajno varirale kroz sezone po vrstama. Svih odbačenih pet vrsta je prepoznato kao sirovina za proizvodnju ribljeg ulja s visokim udjelom EPA i DHA	García-Moreno i sur., 2013
Koža, glave, kosti i utroba lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Riblja silaža	Riblja ulja dobivena silažom su visoke kvalitete čak i prije rafinacije	Ozyurt i sur., 2017

SC-CO₂ - superkritični CO₂; PB – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; pAV – anisidinski broj; TBARS – tiobarbiturni test; TOTOX – ukupna oksidacija; PUFA - polinezasićene masne kiseline; EPA - eikozapentaenska kiselina; DHA - dokozaheksaenska kiselina.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Dosadašnja istraživanja usmjerena na proizvodnju ulja iz nusproizvoda riboprerađivačke industrije ili odbačene ribe su dokazala da se navedene sirovine mogu učinkovito koristiti za proizvodnju kvalitetnog ribljeg ulja.

Svrha ovog rada je proširiti spoznaje o pogodnosti nusproizvoda proizvoda ribarstva za proizvodnju visokokvalitetnog ribljeg ulja s posebnim naglaskom na gospodarski važne vrste Jadrana, uzgojnu plavoperajnu tunu (*Thunnus thynnus*), lubina (*Dicentrarchus labrax*), komarču (*Sparus aurata*) i srdelu (*Sardina pilchardus*) čijom se obradom/preradom generiraju velike količine nusproizvoda.

Specifični ciljevi istraživanja su kako slijedi:




- Odrediti kemijski sastav nusproizvoda tune, lubina i komarče te srdele i iskorištenje u proizvodnji sirovih ulja;
- Analizom parametara kakvoće ulja ispitati pogodnost nusproizvoda nastalih tijekom izlova uzgojne plavoperajne tune (*T. thynnus*), filetiranja lubina (*D. labrax*) i komarče (*S. aurata*) te prerade srdele (*S. pilchardus*) za proizvodnju sirovih ribljih ulja pogodnih za daljnju rafinaciju;
- Utvrditi kvalitetu ulja dobivenog od nusproizvoda srdele u usporedbi s cijelom srdelom te ispitati, optimizirati (analizom parametara kakvoće ulja kroz faze proizvodnje i rafinacije) i provesti kemijski proces rafinacije sirovih ulja od srdele.
- Utvrditi kvalitetu ulja dobivenog od nusproizvoda uzgojne ribe (tuna, lubin i komarča) za proizvodnju te ispitati, optimizirati (analizom parametara kakvoće ulja kroz faze proizvodnje i rafinacije) i provesti kemijski proces rafinacije sirovih ulja od uzgojnih vrsta;
- Utvrditi razlike u kvaliteti ulja od tune u ovisnosti o korištenim sirovinama (vrstama nusproizvoda kao što su glava, visceralna masa vs. jetra tune).



4. MATERIJALI I METODE

4.1. Prikupljanje uzoraka (sirovine) za proizvodnju ulja

U Tablici 4.1. prikazani su nusproizvodi prikupljeni za proizvodnju sirovih ulja i nazivi proizvedenih ulja. Uzorkovanje je provedeno tijekom prosinca 2016. godine i siječnja 2017. godine u tvornici Sardina d.o.o, Postira O. Brač.

Tablica 4.1. Nusproizvodi prikupljeni za proizvodnju sirovih ulja i nazivi dobivanih ulja.

Masa i vrsta nusporizvoda		Naziv proizvedenog ulja
1000 kg cijelih srdela (<i>S. pilchardus</i>)		Ulje cijele srdele
1000 kg nusporizvoda (glave, visceralna masa, peraje) srdele (<i>S. pilchardus</i>)		Ulje otpada srdele
2000 kg nusproizvoda (škrge, cijela visceralna masa) prikupljeno tijekom evisceracije plavoperajne tune (<i>T. thynnus</i>)		Ulje otpada tune

<p>100 kg jetri plavoperajne tune (<i>T. thynnus</i>), (prosječne težine 930 g)</p>		<p>Ulje jetre tune</p>
<p>1000 kg glava, škrge i utrobe komarči (<i>S. aurata</i>) i lubina (<i>D. labrax</i>)</p>		<p>Ulje otpada lubina i komarče</p>

Cijela (svježa) srdela uzorkovana je u prosincu 2016. godine po dolasku u tvornicu Sardina d.o.o. Temperature ribe na prijemu i pecatura (broj komada u kilogramu ribe) određene su prema protokolu tvornice i iznosili su 3°C i 58. Nusproizvodi od srdele prikupili su se od iste šarže ribe tijekom proizvodnje konzervi. Nusproizvodi uzgojne plavoperajne tune su se prikupljali pri izlovu tuna tijekom siječnja 2017. godine. Dopremljeni su u pogon te razvrstani u dvije grupe. Jedna grupa nusproizvoda sadržavala je cijelu visceralnu masu i škrge (uključujući jetru), dok su iz druge grupe izdvojene samo jetre. Tijekom uzgoja tune su hranjene malom plavom ribom, kao što su srdela i haringa, do prosječne težine od 67 kg. Iz pogona za obradu bijele ribe tvornice Sardina d.o.o. prikupljeni su nusproizvodi lubina i komarče koji su se sastojali od glava, visceralne mase i peraja. Lubini i komarče su uzgojeni na istom uzgajalištu u uvali Maslinova na Braču te su hranjeni suhim peletima. Glavni sastojci suhих peleta navedeni na deklaraciji proizvoda su riblje brašno, pšenica, riblje ulje, brašno uljane repice, minerali i ekstrakt kvasca. Kemijski sastav peleta izražen kao postotak suhe težine je bio 43% bjelančevina, 18% masti, 8% pepela, 22% ekstrakta bez dušika, 2% celuloze i 1,2% fosfora. Vitamini A (7500 internacionalnih jedinica (IU)/kg), D3 (1500 IU/kg), E (360 mg/kg) i C (750 mg/kg) su također deklarirani. Jedinke su za vrijeme izlova težile od 400 do 600 g. Prije proizvodnje ulja sva sirovina je skladištena u rashladnoj komori pri temperaturi od 0 ± 2 °C.

4.2. Karakterizacija nusproizvoda za proizvodnju ulja

Svim nusproizvodima koji su se koristili za proizvodnju ulja određen je kemijski sastav. Oko 500 g od svake sirovine je homogenizirano u laboratorijskom mikseru (GRINDOMIX GM 200, Retsch GmbH, Haan, Njemačka) i korišteno za analize. Određen je sadržaj vlage gravimetrijskom metodom, sadržaj bjelančevina, sadržaj soli i sadržaj pepela (AOAC, 2000). Ukupan sadržaj masti je određen Bligh i Dyer (1959) metodom. Ukratko, 100 g sirovog materijala je homogenizirano s 300 mL otapala kloroform:metanol (2:1, v/v) tijekom 2 do 3 minute. Dodano je 100 mL kloroforma i 100 ml destilirane vode te je zatim mješavina ponovno homogenizirana tijekom 5 minuta. Homogenat je filtriran u vakuumu. Ostatak je još jednom homogeniziran s 100 mL kloroforma, filtriran i spojen s prethodno dobivenim filtratom. Filtrati su zatim preneseni u lijevak za odvajanje faza, iz donje frakcije, koja sadrži masti, višak kloroforma je uklonjen pomoću rotacijskog vakuumskeg isparivača (Laborota 4000, Heidolph, Schwabach, Njemačka), a ekstrahirane masti su izvagane. Sve analize su ponovljene pet puta, a rezultati su iskazani preko mokre težine u postotcima (%).

4.3. Proizvodnja sirovih ulja

Kako je prikazano u Tablici 4.1. proizvedeno je ukupno pet ulja. Ulja su proizvedena u automatiziranom pogonu za proizvodnju ribljeg ulja i brašna u tvornici Sardina d.o.o. Prilikom manipulacije sirovinom posebna pozornost bila je posvećena radnoj temperaturi kako bi se smanjio njen utjecaj na kvalitetu ulja. Sirovina je najprije homogenizirana u industrijskom stroju za mljevenje (MG 250, Scansteel, Slagelse, Danska), zatim kuhana pri 95 °C tijekom 12 minuta u komori za kuhanje (model C2, Alfa Laval, Søborg, Danska). Potom je smjesa prešana i centrifugirana pri 4200 okretaja u minuti u centrifugi tipa AC0303 CentryFish 1000 (Alfa Laval, Søborg, Danska) (Slika 4.3.1.) koja automatski odvaja suhu tvar (riblje brašno), vodu i ulje. Nakon proizvodnje, dobivena sirova ulja su skladištena u tamnim staklenim bocama pri 4 ± 1 °C najdulje mjesec dana prije analiza kvalitete i sastava. Svih pet ulja je proizvedeno u duplikatu, a iskorištenje (%), tj. sadržaj sirovih ulja iskazan je kao ukupan prinos prema formuli:

$$\text{Iskorištenje (\%)} = [\text{masa dobivenog sirovog ulja (kg)} / \text{masa sirovine (kg)}] \times 100.$$

Parametri kakvoće proizvedenih sirovih ulja određeni su korištenjem metode Američkog društva kemičara za ulja (AOCS, 1994). Komercijalno dostupno ulje jetre bakalara (*oleum jecoris aselli*, Kemig d.o.o., Zagreb, Hrvatska) je korišteno kao kontrolno ulje i komercijalni standard.



Slika 4.3.1. Dekanter centrifuga tipa AC0303 CentryFish 1000 (Alfa Laval, Søborg, Danska).

4.4. Parametri kakvoće ribljih ulja

Sirovim ribljim uljima određeni su parametri kakvoće. Kiselinski broj (KB) (Metoda br. Ca 5a-40) (AOCS, 1994) je određen jodometrijskom titracijom prema sljedećem postupku: uzorci ulja su odvagani s točnošću od 0,001 g u tikvicu volumena 250 mL, u tikvicu se dodalo 50 mL prethodno neutralizirane smjese dietil-etera i etanola, te otopina fenolftaleina (1% u etanolu). Smjesa je titrirana 0,1 M otopinom kalijevog hidroksida uz miješanje sve do postojane promjene boje tj. pojave blijedo-ružičastog obojenja. Kiselinski broj je izračunat prema sljedećem izrazu:

$$\text{KB (mg KOH / g)} = (5,6104 \times a \times f) / m$$

gdje je:

- 5,6104 – broj miligrama KOH sadržanih u 1 mL 0,1 M alkoholne otopine;
 a - utrošak 0,1 M otopine KOH za titraciju (mL);
 f - faktor 0,1 M otopine KOH (1);
 m – masa uzorka ulja (g).

Peroksidni broj (PB, Metoda br. Cd 8-53) (AOCS, 1994) je određen jodometrijskom titracijom i izračunat kao miliekvivalent (meq) O₂ / kg masti. Uzorak je odvagano u tikvicu s točnošću od 0,001 g. Zatim je u tikvicu dodano 15 mL octene kiseline, 10 mL kloroforma i 0,5 mL zasićene otopine kalijevog jodida te je tikvica dobro zatvorena i protresena pa ostavljena u tami tijekom 5 minuta. Nakon toga, u tikvicu je dodano 75 mL destilirane vode i škrob kao indikator te se oslobođeni jod uz miješanje titrirao otopinom natrij tiosulfata (c = 2,4818 g/L) sve do nestanka plave boje. Isti postupak je proveden i za slijepu probu. Peroksidni broj je izračunat prema slijedećem izrazu:

$$\text{Peroksidni broj (PB) (mmol O}_2\text{/kg)} = V \times T \times 1000 / 2 \times m$$

gdje je:

V- utrošak otopine tiosulfata za titraciju korigiran s obzirom na slijepu probu (mL);

T - normalitet otopine tiosulfata (0,01);

m - masa uzorka ulja (g).

p-anisidinski broj (*p*AV, Metoda br. Cd 18-90) (AOCS, 1994) je određen spektrofotometrijski. U volumetrijske tikvice od 10 mL su izvagani uzorci težine 0,3 g s točnošću od 0,001 g te im je dodan izooktan do oznake. Tikvice su dobro protresene kako bi se ulje otopilo nakon čega je u staklenu kivetu pipetirano 2,5 mL uljne otopine kojoj je potom izmjerena apsorbancija na spektrofotometru SPECORD 200 Plus (Analytik Jena AG, Jena, Njemačka) pri 350 nm korištenjem izooktana kao slijepe probe. Nakon mjerenja apsorbancije u kivete je dodano 0,5 mL otopine *p*-anisidina u glacijalnoj octenoj kiselini (c = 2,5 g/L) te su kivete ostavljene u tami tijekom 10 minuta nakon čega im je ponovno izmjerena apsorbancija. Rezultati *p*AV izračunati su prema slijedećem izrazu:

$$\textit{p}\text{-anisidinski broj (}\textit{p}\text{AV)} = 10 \text{ mL} \times (1,2 \times (A_{S2}-A_{B2}) - (A_{S1}-A_{B1})) / m$$

gdje je:

1,2 – faktor korekcije zbog razrjeđivanja uzorka;

A_{S1} i A_{S2} - apsorbancija otopine ulja prije i nakon reakcije s *p*-anisidin reagensom;

A_{B1} i A_{B2} – apsorbancija slijepe probe prije i nakon reakcije s *p*-anisidin reagensom;

m - masa uzorka ulja (g).

Ukupna oksidacija (TOTOX) je izračunata pomoću dobivenih vrijednosti peroksidnog (PB) i anisidinskog (*pAV*) broja prema izrazu (Shahidi & Wanasundara, 2002):

$$\text{TOTOX vrijednost} = (2 \times \text{PB}) + pAV.$$

Reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline, tj. tiobarbiturni test (TBARS) je određen spektrofotometrijski korištenjem metode opisane od strane Ke i Woyewoda (1979) kako slijedi: u epruvetu s čepom izvagano je 10 mg ulja i dodano 5 mL otopine tiobarbiturne kiseline (TBA) koja je pripravljena od 180 mL TBA standard otopine ($c = 5,76 \text{ g/L}$), 120 mL kloroforma i 15 mL otopine natrijeva sulfata te je epruveta čvrsto zatvorena. Kako bi se uzorak ulja otopio, epruvete su promiješane 15 sekundi na vortex mješalici, a potom inkubirane tijekom 45 minuta pri $95 \text{ }^\circ\text{C}$ u vodenoj kupelji i ohlađene pod mlazom hladne vode. Potom je sadržaju u epruveti dodano 2,5 mL otopine trikloroctene kiseline (TCA) ($c = 45,74 \text{ g/L}$) nakon čega su ponovno centrifugirane 10 minuta na 2500 okretaja u minuti kako bi se odvojila ružičasto obojena vodena faza od kloroforma. Apsorbancija vodene faze izmjerena je pri 538 nm u odnosu na destiliranu vodu.

Pripremljena je standardna krivulja koja se bazira na 0,1 mM radnoj otopini 1,1,3,3-tetratoksipropana (TEP). Prema proceduri za uzorke provedena je i analiza standarda, samo što je ulje zamijenjeno TEP radnom otopinom prema Tablici 4.4.1.

Tablica 4.4.1. Omjeri TEP i H₂O za izradu standarda.

	S0*	S1	S2	S3	S4	S5
μL TEP	0	25	50	100	150	200
μL H ₂ O	200	175	150	100	50	0
n TEP (nmol)	0	2,5	5	10	15	20

*S – broj standarda

Izrađena je standardna krivulja kao **A = funk(n TEP) => y = ax + b**.

Rezultati su izračunati prema sljedećem izrazu:

$$\mu\text{M TBARS} / \text{g ulja} = (A-b) / (a \times m \times 1000),$$

gdje je:

A = apsorbancija uzorka ulja;

a = kut standardne krivulje;

b = odsječak standardne krivulje (vrijednost zavisne varijable);

m = masa uzorka ulja (g);

1000 = faktor konverzije rezultata u μM / g.

Relativna gustoća preko metode br. Cc 10a-25 (AOCS, 1994) je određena gravimetrijski korištenjem piknometra pri temperaturi od 25 °C.

Saponifikacijski broj (SB) je određen korištenjem metode br. Cd 3-25 (AOCS, 1994), dok je esterski broj izračunat oduzimanjem vrijednosti kiselinskog broja ulja od vrijednosti njegovog saponifikacijskog broja.

Analize KB i PB su urađene u 10 ponavljanja za svaki uzorak ulja, dok su analize pAV, IB, SB, relativna gustoća i TBARS urađene po 5 puta. Svi standardni spojevi, otapala i reagensi su proizvedeni od strane Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, SAD), Fluka (Neu-Ulm, Njemačka), Merck (Darmstadt, Njemačka) i Kemike (Zagreb, Hrvatska).

Rancimat test je proveden korištenjem uređaja Rancimat (model 743, Metrohm, Herisau, Švicarska) koji se sastoji od dva grijača bloka sa po četiri položaja za mjerenje. Test je proveden tako što je odvagano 3,0 g sirovog ulja u epruvete koje su zatim postavljene u uređaj. Stabilnost ulja je testirana pri temperaturama 80 i 100 °C uz stalni protok zraka od 20 L/h. Jedinice za mjerenje vodljivosti sadržavale su 60 mL destilirane vode. Oksidacijska stabilnost automatski je određena kao točka infleksije generiranih dijagrama kinetike promjene vodljivosti vode i izražena kao indukcijski period u satima (h) (Chakraborty & Joseph, 2015a).

Koncentracija α -tokoferola je određena tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC). HPLC sustav je opremljen automatskim uzorkivačem, vakuumskim otplinjačem, binarnom pumpom, fluorescentnim detektorom i pećnicom kolone; svim komponentama Serije 200. Detekcija α -tokoferola urađena je na koloni Ultra Silica, 150 × 4,6 mm (Restek, Bellefonte, PA, SAD), ispunjenoj česticama veličine 5 μm . Uzorak ribljeg ulja težine 0,5 g se otopio u 5 mL heksana nakon čega je 20 μL alikvota uzorka injektirano u kromatografski sustav. Gradijentno ispiranje je postignuto korištenjem heksana i izopropanola pri brzini protoka od 0,9 mL/min. Pumpa je držala izopropanol na 3% prvih 15 minuta analize nakon čega je podigla njegov udio na 80% kroz 5 minuta i zadržala postignuti omjer heksana i izopropanola tijekom 8 minuta. Kroz iduću minutu otapala su vraćena na početni omjer koji je zadržan 11 minuta kako bi se kolona stabilizirala. Temperatura kolone je održavana na 30 °C. Za detekciju je korišten fluorescentni detektorom (ekscitacija 290 nm i emisija 330 nm). α -

tokoferol je izmjeren prema retencijskom vremenu standarda i kvantificiran pomoću kalibracijske krivulje standarda u rasponu od 2,1 do 655,8 $\mu\text{g/mL}$ ($r^2 = 0,9994$). Svaki uzorak je pripremljen samostalno i injektiran dva puta.

Za određivanje sastava masnih kiselina sirovih ulja metilni esteri masnih kiselina (FAME) su pripremljeni transmetilacijom koristeći 2 M KOH u metanolu i heptanu i određeni korištenjem plinskog kromatografa (model 3900; Varian Inc., Lake Forest, CA, SAD) koji je opremljen plameno-ionizacijskim detektorom i kapilarnom kolonom, 100 m \times 0,25 mm; 0,2 μm debljine filma (Restek, Brockville, Kanada). Temperatura pećnice je bila 140 $^{\circ}\text{C}$ kroz 5 minuta, zatim je podignuta na 240 $^{\circ}\text{C}$ brzinom od 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ te održavana 20 minuta. Temperatura injektora je bila podešena na 225 $^{\circ}\text{C}$, a detektora na 240 $^{\circ}\text{C}$. FAME su određeni pomoću smjese standarda (Supelco 37 Component FAME Mix, Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD), a rezultati su izraženi kao postotak detektiranih masnih kiselina, izračunatih kao omjer površine pika i ukupne površine svih pikova. Sastav masnih kiselina je određen dva puta za svaki uzorak.

Kako bi se odredila nutritivna kakvoća ulja izračunati su indeks aterogenosti (AI) koji pokazuje inhibiciju agregacije plaka i smanjivanje razina esterificiranih masnih kiselina, kolesterola i fosfolipida sprječavajući time pojavu mikro- i makro-koronarnih bolesti te indeks trombogenosti (TI) koji pokazuje tendenciju stvaranja ugrušaka u krvnim žilama prema formulama:

$$\text{AI} = (\text{C12:0} + 4 \times \text{C14:0} + \text{C16:0}) / (\sum \text{MUFA} + \sum \text{PUFA}),$$

$$\text{TI} = [(\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / (0,5 \times \sum \text{MUFA} + 0,5 \times \sum \text{n6 PUFA} + 3 \times \sum \text{n3 PUFA} + (\text{n3/n6}))]$$
 (Ulbricht & Southgate, 1991).

Za mjerenje raspada polinezasićenih masnih kiselina se računao polienski indeks (PI) prema formuli (Lubis & Buckle, 1990):

$$\text{PI} = (\text{C20:5} + \text{C22:6}) / \text{C16:0}.$$

4.5. Rafinacija i karakterizacija ulja po svakoj fazi

4.5.1. Kemijski proces rafinacije ulja

Rafinacija proizvedenih sirovih ulja se provela kroz četiri faze:

1. degumiranje,
2. neutralizacija,
3. izbjeljivanje,
4. uklanjanje mirisa.

4.5.1.1. Degumiranje (R1)

Odvagano je 500 g sirovog ribljeg ulja s točnošću od 0,01 g i dodano 5 mL 85% fosforne kiseline te stavljeno u vodenu kupelj pri kontroliranoj temperaturi (70 °C) tijekom 20 min uz miješanje. Ulje je zatim ohlađeno na sobnu temperaturu i centrifugirano (4000 okretaja u minuti, 20 min) kako bi se uklonio precipitirani (istaloženi) dio gume.

4.5.1.2. Neutralizacija (R2)

Degumirano ulje koje ulazi u fazu neutralizacije je odvagano s točnošću od 0,01 g. Zatim mu je dodana otopina 1 M NaOH (otprilike 30 mL), kap po kap, uz konstantno miješanje i zagrijavanje (65 °C) kroz 20 minuta dok se nije postigla pH vrijednost 7,0. Ulje je potom zagrijavano na temperaturu od 70 °C tijekom 20 minuta pa ohlađeno na sobnu temperaturu i centrifugirano (4000 okretaja u minuti, 15 min). Posljedica centrifugiranja je taloženje sapuna koji je odstranjen dekantiranjem. Dobiveno ulje je tri puta isprano s 10 mL deionizirane vode (u odnosu na masu ulja) miješanjem pri 500 okretaja u minuti i grijanjem na 50 °C pod vakuumom. Zatim je ponovo centrifugirano (2500 okretaja u minuti, 10 min) kako bi se dodatno uklonila voda i druge nečistoće te dobilo neutralizirano ulje.

4.5.1.3. Izbjeljivanje (R3)

Neutralizirano ulje je za izbjeljivanje odvagano s točnošću od 0,01 g. Pripremljen je apsorvent od aktivnog ugljena u prahu (AC) i Fullerove zemlje (FE) u omjeru 1:20 te je ulje tretirano s 4 g apsorbenta na 100 g ulja. Ulje je miješano sa smjesom apsorbenta na 300 okretaja u minuti (koristeći magnetsku miješalicu) i zagrijavano na 40 °C tijekom 40 minuta u komori pod vakuumom. Potom je ohlađeno na sobnu temperaturu (22 °C) i centrifugirano tijekom 30 minuta pri 3500 okretaja po minuti. Dobiveni crni nataloženi sloj je dekantiran, a preostali dio ulja filtriran korištenjem vakuum pumpe.

4.5.1.4. Uklanjanje mirisa (R4)

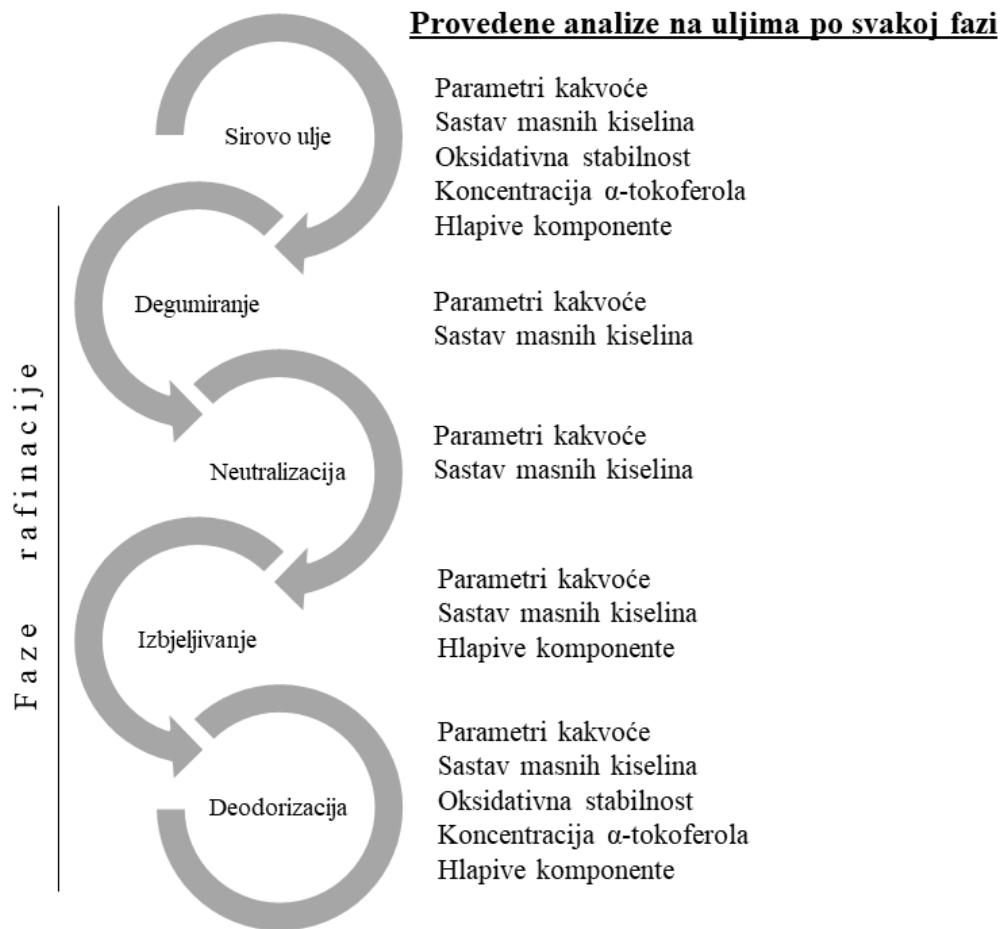
Prije postupka uklanjanja mirisa izbijeljeno ulje je odvagano s točnošću od 0,01 g. Uklanjanje mirisa (deodorizacija) izbijeljenog ulja provelo se metodom laboratorijske

destilacije, vrenjem u tikvici s okruglim dnom (500 mL) koja ima dva otvora. Jedan izlazni otvor je spojen na kondenzator priključen na vakuum, a na drugi je postavljen termometar. Vodenoj otopini octene kiseline (0,25 M, 5 mL) je dodan dio otopine izbijeljenog ulja te je sve zagrijavano na 100 °C pri vakuumu (5 mm Hg) u ukupnom trajanju od jednog sata. Vakuum linija se isključila u različitim vremenskim intervalima (30 i 60 min), a destilati (označeni s DR4₁ i DR4₂) pripremljeni su za analizu vezanim sustavom plinski kromatograf-maseni spektrometar (GC-MS) (model 3900; Varian Inc., Lake Forest, CA, SAD), kako bi se detektirali tragovi hlapljivih komponenti destiliranih tijekom procesa deodorizacije.

4.5.2. Karakterizacija ulja po svakoj fazi

Parametri kakvoće ulja su nakon svake faze rafinacije određeni prema metodama opisanim u poglavlju 4.4. Dodatno su određivane i hlapive komponente (Slika 4.5.2.1.).

Promjene u sastavu hlapljivih komponenta ulja tijekom procesa rafinacije pratile su se metodom temeljenoj na mikroekstrakciji na čvrstoj fazi (HS-SPME) zajedno s plinskom kromatografijom (GC) s plamensko-ionizacijskim detektorom (FID). Uzorci su pripremljeni koristeći 2 cm duga vlakna divinilbenzena/karboksena/polidimetilsiloksana (DVB-CAR-PDMS debljine 50/30 µm) proizvođača Supelco (Bellefonte, PA, SAD). Uzorci ulja (2 g) su stavljeni u zatvorene bočice od 20 mL i termostatirani 5 minuta pri 40 °C u vodenoj kupelji. Ekstrakcija je provedena tijekom 20 minuta nakon čega je uslijedilo izlaganje vlaknima u praznom prostoru tijekom 20 minuta. Ekstrahirani spojevi su desorbirani pri 250 °C u injekcijskom otvoru kroz 1 minutu.



Slika 4.5.2.1. Pregled provedenih analiza prema fazama rafinacije.

Kvantitativne analize glavnih hlapivih komponenti ribljeg ulja provedene su pomoću GC-FID koristeći kolonu CP-WAX 57 CB (50 m \times 0,25 mm, debljine 0,2 μ m; Varian). Helij je korišten kao plin nosač, a njegova brzina protoka je bila 2 mL/min. Početna temperatura peći je bila 40 °C tijekom 4 min, a zatim je podignuta na 190 °C u intervalima po 5 °C/min i ta temperatura je bila konstantna tijekom 11 minuta. Temperatura je tada podignuta primjenom istog temperaturnog intervala do 200 °C te je održavana do kraja analize. Ukupno vrijeme analize svakog uzorka je bilo 67 min. Temperatura detektora se održavala na 250 °C. Analize su provedene u duplikatima.

Ispitivani spojevi identificirani su vremenom retencije odgovarajućeg analitičkog standarda, dok je kvantifikacija provedena vanjskom kalibracijom. Kako primijenjena metoda nije osigurala dobro odvajanje 2,4-heptadienala i pentadekana, rezultati za ta dva spoja prikazani su kao njihova suma, a njihova koncentracija izračunata je prema dobivenoj

kalibracijskoj krivulji za 2,4-heptadienal. Kromatografski softver GC Workstation Version 6.41 (Varian) korišten je za prikupljanje i izračunavanje podataka.

4.6. Statističke metode

Dobiveni rezultati analiza izraženi su kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija. Značajnost mjerenih parametara analizirana je jednosmjernom analizom varijance (one-way ANOVA) koristeći Statgraphics Centurion (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, SAD). Statistički značajnim su se smatrale razlike pri $p < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Analiza sirovina za proizvodnju ulja

U Tablici 5.1.1. prikazan je kemijski sastav i udio soli u sirovinama za proizvodnju ulja korištenima u ovom istraživanju. U uzorcima cijelih srdela zabilježen je najviši udio vlage i bjelančevina te najniži udio masti. S druge strane, najviši udio masti od gotovo 40% zabilježen je u uzorcima jetre tune, što je 8 puta više u usporedbi s uzorcima cijelih srdela. U uzorcima otpada i jetre tune zabilježen je najniži udio vlage i bjelančevina. Najviši udio pepela određen je u otpadu tune, u kojem je zabilježen pet puta veći udio pepela u odnosu na jetru tune koja su imala najniži udio pepela, što je statistički značajno ($p < 0,05$). Uzorci cijele srdele, otpada srdele i otpada tune nisu pokazali statistički značajnu razliku u udjelu pepela ($p > 0,05$).

Tablica 5.1.1. Prosječne vrijednosti udjela vlage, bjelančevina, masti i pepela (% mokre težine) i udio soli (%) u uzorcima cijele srdele, otpada srdele, jetre tune, otpada tune te otpada lubina i komarče korištenih za proizvodnju sirovog ribljeg ulja ($n = 10$).

Sirovina	Vlaga	Bjelančevine	Masti	Pepeo	NaCl
Cijela srdela	72,74 ± 0,10 ^c	18,45 ± 0,37 ^d	4,50 ± 0,36 ^d	3,63 ± 0,58 ^a	0,94 ± 0,03 ^b
Otpad srdele	66,37 ± 1,01 ^b	14,21 ± 0,47 ^{ac}	10,25 ± 1,84 ^c	4,74 ± 0,44 ^a	1,32 ± 0,03 ^c
Otpad tune	51,16 ± 1,60 ^a	13,42 ± 1,47 ^a	26,83 ± 3,11 ^a	4,95 ± 1,05 ^a	1,69 ± 0,09 ^a
Jetra tune	51,77 ± 0,36 ^a	9,84 ± 0,18 ^b	38,92 ± 2,83 ^b	0,90 ± 0,03 ^b	0,91 ± 0,03 ^b
Otpad lubina i komarče	65,53 ± 0,70 ^b	15,97 ± 0,24 ^c	9,67 ± 0,83 ^c	6,70 ± 1,15 ^c	0,72 ± 0,01 ^d

^{a-d} – različita slova u istom stupcu pokazuju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između uzoraka.

5.2. Sirova ulja

Karakteristike dobivenih sirovih ulja te postotak iskoristivosti sirovine prikazani su u Tablici 5.2.1. Kako bi se odredio prinos i kvaliteta ulja uspoređeni su uzorci jetre i otpada tune, te cijele srdele i otpada srdele.

Ulja dobivena od ribljih nusproizvoda uspoređena su s komercijalno dostupnim rafiniranim uljem jetre bakalara, čime je testirana potencijalna konkurentnost sirovih ulja dobivenih od ribljih nusproizvoda.

Tablica 5.2.1. Karakteristike sirovih ribljih ulja ulja dobivenih preradom cijele srdele i otpada srdele, jetre tune i otpada tune te otpada lubina i komarče.

		Ulje otpada tune	Ulje jetre tune	Ulje otpada srdele	Ulje cijele srdele	Ulje otpada lubina i komarče	Ulje jetre bakalara (kontrola)
Ukupan prinos	%	26,10	33,38	9,17	4,13	8,54	
Slobodne masne kiseline (SMK, $n = 20$)	% oleinske kiseline	1,04 ± 0,08 ^a	1,83 ± 0,02 ^b	2,94 ± 0,05 ^c	3,13 ± 0,01 ^c	1,95 ± 0,06 ^b	2,15 ± 0,08 ^d
Peroksidni broj (PB, $n = 20$)	meq O ₂ /kg	2,30 ± 0,73 ^a	2,77 ± 0,89 ^a	4,08 ± 1,53 ^b	5,35 ± 3,60 ^b	4,62 ± 1,06 ^b	8,66 ± 4,05 ^c
<i>p</i>-anisidinski broj (<i>p</i>AV, $n = 10$)		8,30 ± 1,59 ^a	16,97 ± 2,96 ^b	17,08 ± 1,98 ^b	18,16 ± 5,15 ^b	13,98 ± 2,27 ^c	13,27 ± 1,11 ^d
TOTOX		12,90 ± 0,42 ^a	22,51 ± 0,36 ^b	25,24 ± 2,96 ^c	28,86 ± 0,46 ^c	23,22 ± 0,82 ^b	30,59 ± 0,94 ^d
TBARS ($n = 10$)	μM TBARS/g	2,40 ± 0,01 ^a	1,71 ± 0,38 ^b	2,51 ± 0,16 ^a	1,20 ± 0,50 ^b	2,55 ± 0,25 ^a	1,63 ± 0,07 ^b
Kiselinski broj (KB, $n = 10$)	g I ₂ /100 g	156,76 ± 12,53 ^{ab}	160,79 ± 2,41 ^{ab}	191,63 ± 0,49 ^c	166,90 ± 17,90 ^b	141,89 ± 11,18 ^a	144,16 ± 3,44 ^a
Saponifikacijski broj (SB, $n = 10$)	mg KOH/g	175,54 ± 5,89 ^a	179,34 ± 0,19 ^{ab}	174,26 ± 1,74 ^a	182 ± 3 ^b	181,84 ± 3,33 ^{ab}	187,56 ± 2,41 ^d
Esterski broj		173,45 ± 5,89 ^a	175,70 ± 0,24 ^a	168,41 ± 1,65 ^b	171,90 ± 0,37 ^a	176,45 ± 2,44 ^a	186,57 ± 3,05 ^c
Relativna gustoća ($n = 6$)		916,41 ± 0,01 ^a	908,40 ± 0,01 ^a	919,87 ± 0,01 ^a	903,38 ± 0,01 ^b	900,69 ± 0,01 ^b	900,69 ± 0,01 ^b
Indukcijski periodi ($n = 6$)	h pri 80 °C	1,59 ± 0,06 ^a	4,57 ± 0,04 ^b	0,33 ± 0,14 ^c	1,02 ± 0,09 ^d	9,13 ± 0,24 ^e	2,10 ± 0,50 ^f
	h pri 100 °C	0,59 ± 0,17 ^a	1,14 ± 0,13 ^b	0,25 ± 0,02 ^c	0,78 ± 0,03 ^d	1,54 ± 0,63 ^e	0,73 ± 0,01 ^d
α-tokoferol ($n = 4$)	μg/g	75,82 ± 0,45 ^a	79,35 ± 0,07 ^b	36,34 ± 0,23 ^c	28,42 ± 0,09 ^d	70,90 ± 1,26 ^b	147,59 ± 0,33 ^e

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. ^{a-f} različita slova u istom stupcu pokazuju statistički značajnu razliku ($p < 0.05$) između uzoraka ulja; n = broj ponavljanja. TBARS – tiobarbiturni test; TOTOX – ukupna oksidacija.

Najviši prinos ulja dobiven je iz uzoraka jetre tune, kojeg je slijedilo ulje otpada tune, dok su ostala ulja imala prinos ispod 10%. Ukupni prinosi bili su slični rezultatima ukupnih masti dobivenim Bligh i Dyer metodom (Tablica 5.1.1.).

Niže vrijednosti slobodnih masnih kiselina u usporedbi s kontrolnim uljem, zabilježene su u uljima otpada i jetre tune te otpada uzgojne ribe. S druge strane, ulje cijele i otpada srdele bilježi statistički značajno više ($p < 0,05$) vrijednosti od ostalih ulja.

U ovom istraživanju najviša vrijednost PB zabilježena je u kontrolnom ulju, dok su vrijednosti PB u svim proizvedenim sirovim uljima bile za 39 – 73% niže u odnosu na kontrolno ulje. Ulja otpada i cijele srdele te ulje otpada uzgojne ribe nisu pokazala statistički značajnu razliku u vrijednostima PB, međutim značajno su se razlikovala od ulja otpada i jetre tune, koja bilježe najmanje vrijednosti PB.

Najnižu pAV je imalo ulje otpada tune i to za više od 36% od iduće najniže vrijednosti koju je imalo kontrolno ulje. Suprotno tome, najviše vrijednosti pAV imala su ulja srdele i jetre tune, čije se vrijednosti nisu statistički značajno razlikovale.

Nastavno na dobivene vrijednosti peroksidnog i anisidinskog broja, najniža TOTOX vrijednost zabilježena je za ulje otpada tune, zatim za ulje jetre tune, otpada uzgojne ribe te otpada srdele. S druge strane, najviša TOTOX vrijednost je dobivena je za ulje cijele srdele i kontrolno ulje.

Za ulja cijele srdele i jetre tune te kontrolno ulje zabilježene su najniže TBARS vrijednosti te se one nisu statistički značajno razlikovale. Više TBARS vrijednosti imala su ulja otpada tune, otpada srdele i otpada uzgojne ribe čiji se rezultati nisu statistički značajno razlikovali, ali su se značajno razlikovali od prethodne skupine.

Najviši JB imalo je ulje otpada srdele i značajno se statistički razlikovalo od svih ostalih ulja. Najniži SB i esterski broj imalo je ulje otpada srdele dok je najviša vrijednost za oba parametra zabilježena u kontrolnom ulju.

Ulje otpada lubina i komarče i kontrolno ulje imali su istu i najnižu vrijednost relativne gustoće, dok je najviša gustoća zabilježena za ulje otpada srdele.

Najvišu razinu α -tokoferola od proizvedenih sirovih ulja imalo je ulje jetre tune. Također, u ulju otpada tune kao i u ulju otpada lubina i komarče razina α -tokoferola bila je iznad 70 $\mu\text{g/g}$. Ulja cijele srdele i otpada srdele imala su više od dva puta nižu količinu nego ulje jetre tune.

Ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe imala su značajno dulje indukcijske periode od kontrolnog ulja pri 80 °C, dok su ulja otpada tune, otpada srdele i cijele srdele pokazala niže vrijednosti u usporedbi s kontrolnim uljem. Isti odnosi zabilježeni su i pri temperaturi od 100 °C, samo s kraćim indukcijskim periodima.

Sastav masnih kiselina, PI, AI i TI sirovih ulja prikazani su u Tablici 5.2.2. Najvišu vrijednost ukupnih zasićenih masnih kiselina (SFA) imala su ulja cijele srdele i otpada srdele, dok je najnižu vrijednost, gotovo 50% nižu u usporedbi s uljem srdele, imalo ulje otpada uzgojne ribe. Najvišu vrijednost mononezasićenih masnih kiselina (MUFA) imalo je ulje otpada uzgojne ribe te se njegova vrijednost nije statistički značajno razlikovala od kontrolnog ulja. Ulja otpada i jetre tune imala su oko 40% manje MUFA u usporedbi s uljem otpada uzgojne ribe, no ipak se nisu statistički značajno razlikovala. Najniže vrijednosti ukupnih MUFA imala su ulja otpada srdele i cijele srdele. U usporedbi ukupnih PUFA, nije dobivena statistički značajna razlika između ulja, osim za ulje otpada uzgojne ribe koje je imalo nižu vrijednost. Međutim, najviša vrijednost EPA zabilježena je u ulju cijele srdele i otpada srdele, dok je najnižu vrijednost bilježilo ulje otpada uzgojne ribe. Ulje otpada uzgojne ribe imalo je i najnižu vrijednost DHA, čak 60% nižu vrijednost u usporedbi s uljem otpada tune, koje je imalo najvišu vrijednost DHA.

Zbroj EPA i DHA u uljima otpada tune, otpada srdele i cijele srdele bio je veći od 30%. Ulja jetre tune i jetre bakalara nisu se značajno razlikovala u zbroju EPA i DHA s oko 21%, dok je ulje otpada uzgojne ribe imalo najmanji zbroj.

Najviši PI imalo je kontrolno ulje te se nije statistički značajno razlikovalo od ulja otpada tune. S druge strane, najniži PI imalo je ulje otpada uzgojne ribe, i to čak za 50% manji u usporedbi s kontrolnim uljem. Najveće AI vrijednosti su imala ulja srdele, dok je ulje otpada uzgojne ribe imalo skoro četiri puta manji AI. Značajnije varijacije u vrijednosti TI nisu zabilježene, ali kontrolno ulje izdvaja se s najnižim te ulje jetre tune s najvišim TI.

Tablica 5.2.2. Sastav masnih kiselina, polienski indeks (PI), indeks aterogenosti (AI) i indeks trombogenosti (TI) sirovih ulja dobivenih preradom nusproizvoda riba.

	Masne kiseline	Ulje otpada tune	Ulje jetre tune	Ulje otpada srdele	Ulje cijele srdele	Ulje otpada lubina i komarče	Ulje jetre bakalara (kontrola)
Zasićene	C4:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C6:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C8:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C10:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C11:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	C12:0	n.d.	0,07 ± 0,00 _a	0,17 ± 0,00 _b	0,19 ± 0,01 _b	0,02 ± 0,00 _c	0,03 ± 0,00 _c
	C13:0	n.d.	0,07 ± 0,01 _a	0,15 ± 0,01 _b	0,10 ± 0,01 _c	n.d.	0,01 ± 0,00 _d
	C14:0	6,08 ± 0,70 _{ab}	6,60 ± 0,35 _{ab}	7,56 ± 1,56 _{bc}	9,26 ± 0,73 _c	2,31 ± 0,00 _d	4,64 ± 0,02 _{ad}
	C15:0	0,37 ± 0,08 _{ab}	0,07 ± 0,00 _b	1,40 ± 0,01 _a	0,71 ± 0,07 _{ab}	0,04 ± 0,00 _b	0,12 ± 0,00 _b
	C16:0	18,20 ± 1,50 _a	19,85 ± 1,09 _{ab}	21,58 ± 0,27 _b	22,14 ± 1,20 _b	12,70 ± 0,01 _c	12,16 ± 0,01 _c
	C17:0	0,67 ± 0,05 _a	0,75 ± 0,04 _a	1,09 ± 0,05 _b	1,09 ± 0,04 _b	0,32 ± 0,01 _c	0,19 ± 0,01 _d
	C18:0	4,28 ± 0,26 _a	4,97 ± 0,26 _b	5,22 ± 0,10 _{bc}	5,67 ± 0,02 _c	2,63 ± 0,01 _d	3,21 ± 0,02 _e
	C20:0	0,42 ± 0,07 _a	0,47 ± 0,03 _{ab}	0,73 ± 0,00 _c	0,79 ± 0,05 _c	0,50 ± 0,00 _b	0,29 ± 0,00 _d
	C21:0	n,d	1,48 ± 0,09 _a	1,95 ± 0,08 _b	1,87 ± 0,00 _b	4,28 ± 0,01 _c	0,90 ± 0,01 _d
	C22:0	0,08 ± 0,08 _a	0,18 ± 0,01 _{bc}	0,25 ± 0,02 _c	0,30 ± 0,03 _c	0,19 ± 0,01 _{bc}	0,14 ± 0,00 _b
	C23:0	1,02 ± 0,05 _a	1,01 ± 0,05 _a	1,51 ± 0,04 _b	1,39 ± 0,07 _b	0,51 ± 0,01 _c	0,58 ± 0,01 _c
	C24:0	0,87 ± 0,03 _a	0,07 ± 0,00 _b	0,07 ± 0,01 _b	0,12 ± 0,02 _b	0,07 ± 0,00 _b	0,82 ± 0,01 _a
Σ SFA	32,74 ± 3,22 _a	36,48 ± 1,97 _a	48,33 ± 2,26 _b	44,33 ± 2,26 _b	24,28 ± 0,36 _c	23,46 ± 0,19 _c	
Mononezasićene	C14:1	0,46 ± 0,04 _a	0,91 ± 0,04 _a	n.d.	0,59 ± 0,09 _a	0,36 ± 0,00 _a	0,39 ± 0,01 _a
	C15:1	n.d.	0,01 ± 0,00 _a	n.d.	0,02 ± 0,00 _a	n.d.	0,02 ± 0,00 _a
	C16:1	6,14 ± 0,52 _a	5,61 ± 0,30 _a	6,29 ± 0,13 _a	7,86 ± 0,48 _b	3,55 ± 0,07 _c	8,81 ± 0,03 _b
	C17:1	0,46 ± 0,07 _a	0,40 ± 0,02 _{ab}	0,21 ± 0,01 _c	0,21 ± 0,01 _c	0,27 ± 0,01 _{cd}	0,35 ± 0,01 _{bd}

	C18:1n-9 trans	2,64 ± 0,29 a	0,17 ± 0,01 b	0,16 ± 0,00 b	0,18 ± 0,00 b	0,12 ± 0,00 b	0,14 ± 0,00 b
	C18:1n-9 cis	13,92 ± 0,81 a	13,42 ± 0,77 b	9,10 ± 0,21 c	8,48 ± 0,06 c	37,97 ± 0,05 d	18,73 ± 0,02 e
	C20:1	5,07 ± 0,14 a	6,50 ± 0,40 b	1,28 ± 0,02 c	1,09 ± 0,05 c	2,47 ± 0,00 d	12,67 ± 0,03 e
	C22:1n-9	0,32 ± 0,01 a	0,39 ± 0,02 b	0,18 ± 0,01 c	0,17 ± 0,02 c	0,46 ± 0,00 d	1,00 ± 0,01 e
	C24:1	0,60 ± 0,01 a	0,90 ± 0,06 b	0,55 ± 0,03 ac	0,70 ± 0,05 ac	0,45 ± 0,01 c	0,48 ± 0,00 c
	Σ MUFA	29,61 ± 2,31 a	28,32 ± 1,62 a	17,77 ± 0,40 b	19,30 ± 1,31 b	45,66 ± 0,16 c	42,57 ± 0,10 c
Polinezasićene	C18:2n-6 trans	0,06 ± 0,06 a	0,08 ± 0,00 a	0,16 ± 0,00 a	0,06 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 a	0,08 ± 0,00 a
	C18:2n-6 cis	1,04 ± 0,01 a	2,28 ± 0,13 a	2,35 ± 1,04 a	2,17 ± 0,00 a	16,35 ± 0,01 b	1,89 ± 0,00 a
	C18:3n-6	0,39 ± 0,00 a	0,12 ± 0,00 a	0,15 ± 0,00 a	0,16 ± 0,00 a	0,19 ± 0,00 a	0,15 ± 0,00 a
	C18:3n-3	1,41 ± 0,09 a	n.d.	n.d.	n.d.	0,02 ± 0,00 b	n.d.
	C20:2	0,28 ± 0,00 a	0,31 ± 0,02 a	0,33 ± 0,01 a	0,33 ± 0,02 a	0,58 ± 0,01 b	0,30 ± 0,00 a
	C20:3n-6	3,54 ± 0,04 a	10,25 ± 0,65 b	0,37 ± 0,02 a	0,38 ± 0,04 a	1,04 ± 0,00 a	9,84 ± 0,05 b
	C20:3n-3	n.d.	0,05 ± 0,00 a	0,04 ± 0,00 a	0,09 ± 0,00 b	0,03 ± 0,00 a	n.d.
	C20:4n-6	0,09 ± 0,00 a	0,19 ± 0,01 a	0,22 ± 0,01 a	0,21 ± 0,01 a	0,16 ± 0,00 a	0,16 ± 0,01 a
	C22:2	n.d.	0,05 ± 0,01 a	n.d.	0,02 ± 0,00 b	0,05 ± 0,01 a	0,02 ± 0,00 b
	C20:5n-3 (EPA)	9,56 ± 0,54 a	8,81 ± 0,48 a	13,75 ± 0,45 b	14,20 ± 0,61 b	3,33 ± 0,02 c	9,58 ± 0,03 a
	C22:6n-3 (DHA)	21,29 ± 0,77 a	13,07 ± 0,49 bc	16,54 ± 0,07 ab	18,59 ± 1,78 ab	8,26 ± 0,17 c	11,98 ± 0,16 bc
	Σ PUFA	37,65 ± 6,52 a	35,21 ± 6,32 a	33,90 ± 0,63 a	36,21 ± 2,51 a	30,06 ± 0,24 b	33,97 ± 0,26 a
	EPA + DHA	30,85 ± 1,31 a	21,88 ± 5,43 b	30,28 ± 0,51 a	32,79 ± 2,39 a	11,59 ± 0,08 c	21,55 ± 0,19 b
	PI	1,69 ± 0,87 a	1,10 ± 0,29 b	1,40 ± 0,01 ab	1,48 ± 0,19 ab	0,91 ± 0,01 b	1,77 ± 0,19 a
AI	0,63 ± 0,49 ae	0,73 ± 0,31 ab	1,01 ± 0,07 bc	1,07 ± 0,09 c	0,29 ± 0,05 d	0,40 ± 0,00 de	
TI	0,24 ± 0,30 ab	0,36 ± 0,07 b	0,31 ± 0,01 ab	0,31 ± 0,06 ab	0,26 ± 0,00 ab	0,21 ± 0,01 a	

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. ^{a-f} različita slova u istom stupcu pokazuju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između uzoraka ulja; n.d. – nije detektirano, SFA – zasićene masne kiseline, MUFA – mononezasićene masne kiseline, PUFA – polinezasićene masne kiseline.

5.3. Usporedba ulja cijele srdele i otpada srdele

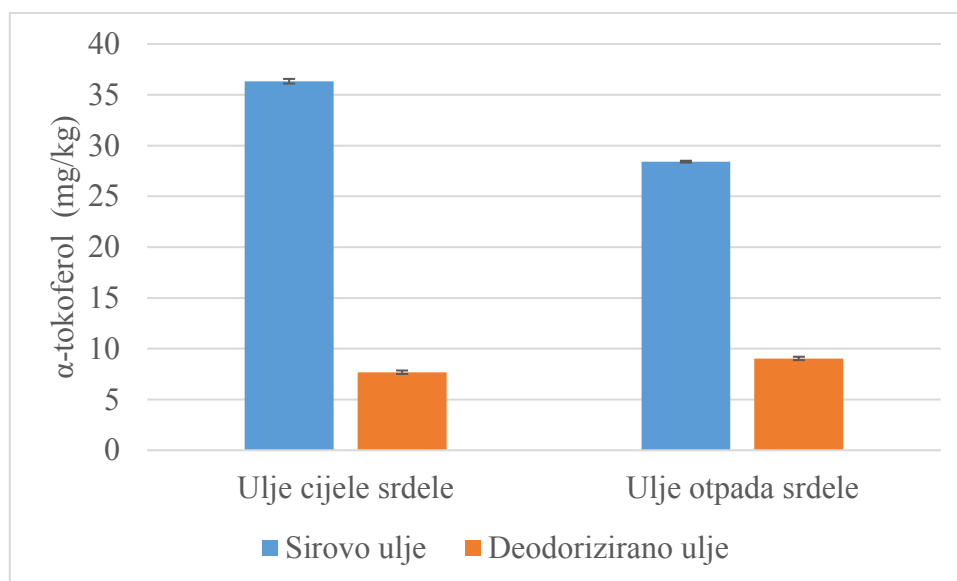
U Tablici 5.3.1. prikazani su parametri kvalitete ulja cijele srdele i ulja otpada srdele tijekom svih faza rafinacije. Cilj postupka rafinacije je smanjenje udjela SMK, vrijednosti PB i *pAV* te TOTOX vrijednost za oba ulja. Također, u ulju otpada srdele nakon postupka rafinacije zabilježeno je i smanjenje TBARS vrijednosti, i to gotovo za pola. TBARS vrijednost ulja cijele srdele je porasla tijekom rafinacije, međutim, vrijednosti deodoriziranog ulja cijele srdele i otpada srdele se značajno ne razlikuju iako je sirovo ulje otpada srdele imalo više nego dvostruko veću vrijednost. Početne vrijednosti udjela SMK i *pAV* se nisu značajno razlikovale između ulja, dok je ulje otpada srdele imalo niže početne vrijednosti PB i TOTOX.

Sirovo ulje cijele srdele je imalo više vrijednosti α -tokoferola od ulja otpada srdele (Slika 5.3.1.). Nakon postupka rafinacije vrijednosti su se snizile višestruko te je deodorizirano ulje otpada srdele imalo višu vrijednost nego ulje cijele srdele.

Tablica 5.3.1. Parametri kvalitete ulja srdele prilikom različitih faza rafinacije.

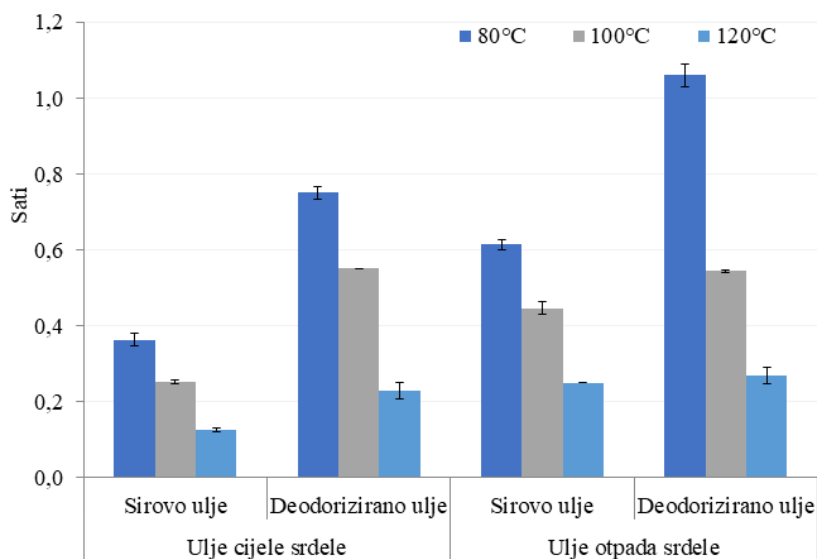
Mjereni parametar		SMK (% oleinske kiseline)	PB (meq O ₂ /kg)	pAV	TOTOX	TBARS (μM/g)
Ulje cijele srdele	<i>Sirovo ulje</i>	3,13±0,01 ^a	5,91±3,61 ^a	18,46±1,18 _a	30,29±8,39 ^a	1,27±0,53 ^a
	<i>Degumirano ulje</i>	2,52±0,05 ^b _d	2,89±0,01 ^b	11,25±0,33 _b	17,02±0,35 ^b	1,60±0,08 ^b
	<i>Neutralizirano ulje</i>	2,17±0,11 ^c	2,85±0,08 ^b	9,81±0,29 ^c	15,51±0,44 ^b	1,24±0,25 ^a
	<i>Izbjeljeno ulje</i>	2,65±0,03 ^d _e	2,21±0,12 ^b	9,44±0,21 ^c	13,87±0,45 ^c	1,13±0,09 ^a
	<i>Deodorizirano ulje</i>	2,42±0,16 ^b	4,55±0,46 ^c	10,03±0,21 _c	19,13±1,12 ^d	1,65±0,35 ^b
Ulje otpada srdele	<i>Sirovo ulje</i>	2,94±0,05 ^{af}	4,81±1,53 ^c	17,66±0,37 _a	27,28±3,42 ^a	2,86±0,17 ^c
	<i>Degumirano ulje</i>	3,51±0,01 ^g	3,93±0,18 ^d	14,58±0,43 _d	22,45±0,79 ^c	1,44±0,26 ^{ab}
	<i>Neutralizirano ulje</i>	3,13±0,09 ^a	3,46±0,04 ^d	12,99±0,48 _{ef}	19,91±0,54 ^d	1,45±0,34 ^{ab}
	<i>Izbjeljeno ulje</i>	2,93±0,01 ^{af}	2,88±0,11 ^b	12,40±0,34 _f	18,16±0,55 ^d	1,50±0,15 ^{ab}
	<i>Deodorizirano ulje</i>	2,83±0,05 ^{ef}	3,78±0,22 ^b	13,44±0,53 _e	21,00±0,97 ^c	1,59±0,31 ^b

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. ^{a-f} različita slova u istom stupcu pokazuju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između uzoraka ulja; PB – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; pAV – anisidinski broj; TBARS – tiobarbiturni test; TOTOX – ukupna oksidacija.



Slika 5.3.1. Sadržaj tokoferola u uljima cijele srdele i otpada srdele prije i nakon procesa rafinacije.

Oksidativna stabilnost ulja srdele je mjerena pri tri različite temperature. Rezultati su prikazani na Slici 5.3.2. Sirovo ulje otpada srdele je imalo dulju oksidativnu stabilnost od ulja cijele srdele pri svim temperaturama. Deodorizirano ulje otpada srdele je također pokazalo veće vrijednosti od deodoriziranog ulja cijele srdele pri 80 i 120 °C, dok su pri temperaturi od 100 °C imali slične vrijednosti. Vidljivo je da je postupak rafinacije povećao oksidativnu stabilnost za oba ulja pri svim testiranim temperaturama.



Slika 5.3.2. Oksidativna stabilnost sirovih i deodoriziranih ulja cijele srdele i otpada srdele pri temperaturama od 80, 100 i 120 °C.

U Tablici 5.3.2. i na Slici 5.3.3. su prikazane promjene u sastavu masnih kiselina i ukupnih SFA, MUFA i PUFA te suma EPA i DHA za ulja cijele srdele i otpada srdele tijekom svih faza rafinacije. Također su prikazani i omjeri PUFA/SFA i $n-6/n-3$.

Ukupne SFA su se smanjile nakon postupka rafinacije kod oba ulja. Ukupne MUFA se nisu značajno promijenile tijekom postupka rafinacije, dok su se ukupne PUFA te suma EPA i DHA povećale u oba ulja nakon provedene rafinacije. Iz navedenih povećanja i smanjenja također proizlazi i povećanje vrijednosti omjera PUFA/SFA nakon rafinacije. Omjer $n-6/n-3$ je bio isti za oba ulja.

Identificirano je šesnaest hlapivih komponenti u uljima srdele (Tablica 5.3.3.). Sastav i udio hlapivih komponenti se značajno mijenjao tijekom postupka rafinacije. Najzastupljenije hlapive komponente se bile smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana, 2,4-dekadienal, 2,4-nonadienal i dodekan. Smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana je bila najdominantnija hlapiva

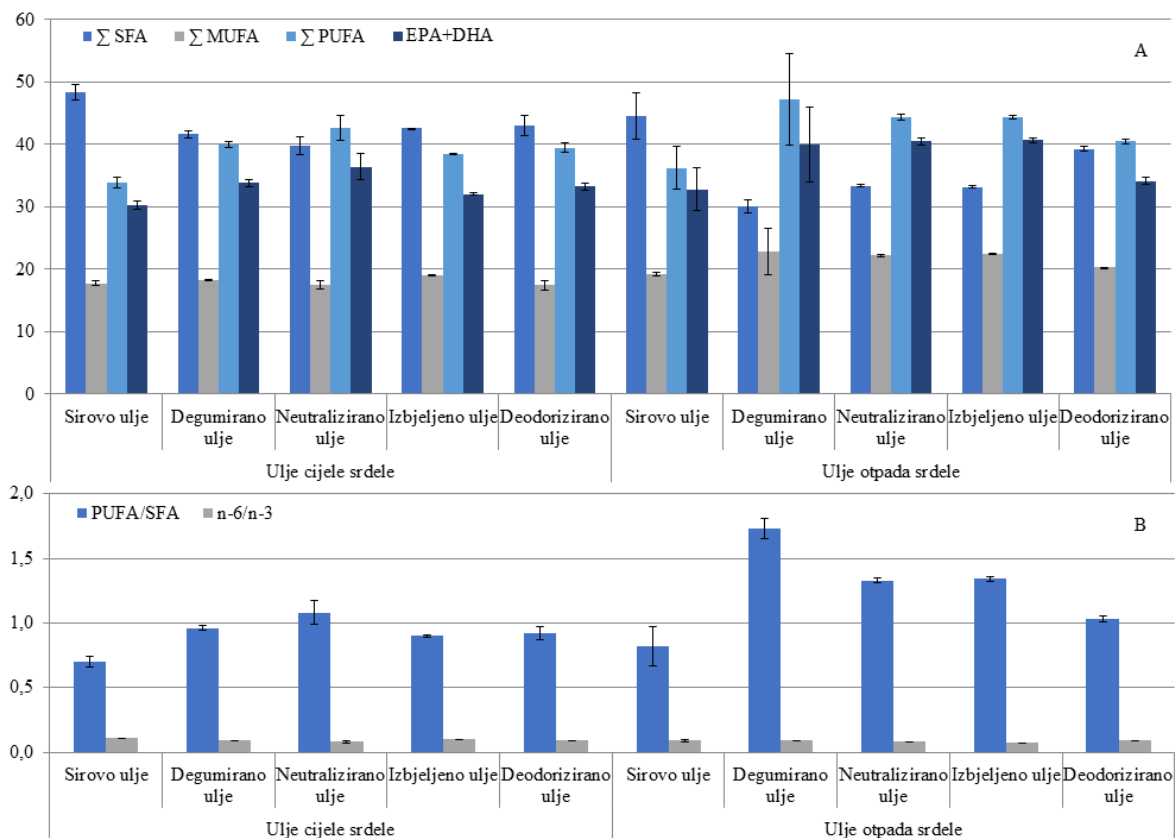
komponenta u uljima srdele. Na Slici 5.3.4. prikazani su kromatogrami hlapljivih spojeva rafiniranog ulja cijele srdele i ulja otpada srdele.

Tablica 5.3.2. Promjena u sastavu masnih kiselina ulja cijele srdele i ulja otpada srdele po fazama rafinacije.

Masna kiselina	Ulje cijele srdele					Ulje otpada srdele				
	<i>Sirovo ulje</i>	<i>Degumirano ulje</i>	<i>Neutralizirano ulje</i>	<i>Izbjeljeno ulje</i>	<i>Deodorizirano ulje</i>	<i>Sirovo ulje</i>	<i>Degumirano ulje</i>	<i>Neutralizirano ulje</i>	<i>Izbjeljeno ulje</i>	<i>Deodorizirano ulje</i>
C12:0	0,17±0,00	0,17±0,00	0,17±0,03	0,17±0,01	0,15±0,00	0,19±0,02	0,20±0,04	0,22±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01
C13:0	0,15±0,01	0,15±0,01	0,14±0,01	0,14±0,00	0,13±0,01	0,10±0,01	0,13±0,05	0,12±0,00	0,12±0,00	0,11±0,01
C14:0	7,56±2,21	8,91±0,10	8,29±0,57	8,92±0,02	8,86±1,42	9,26±1,04	10,17±1,73	0,07±0,00	0,07±0,00	9,62±0,16
C14:1	-	1,36±0,04	1,24±0,07	1,44±0,09	1,26±0,06	0,59±0,84	1,45±0,19	1,48±0,03	1,45±0,02	1,31±0,01
C15:0	1,40±0,02	0,02±0,03	-	0,09±0,08	0,03±0,00	0,71±0,95	0,05±0,0	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,0
C15:1	-	-	-	0,03±0,00	0,02±0,00	0,02±0,01	0,01±0,02	0,02±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00
C16:0	21,58±0,39	21,68±0,36	20,63±0,73	22,32±0,11	20,45±0,89	22,14±1,70	22,52±14,03	25,86±0,29	25,60±0,25	22,67±0,05
C16:1	6,29±0,18	6,16±0,07	5,99±0,33	6,34±0,06	5,83±0,26	7,86±0,68	8,70±1,43	9,07±0,19	9,12±0,07	8,03±0,06
C17:0	1,09±0,07	1,08±0,00	1,03±0,04	1,13±0,04	1,06±0,05	1,09±0,06	1,25±0,22	0,36±0,02	0,34±0,00	1,14±0,04
C17:1	0,21±0,01	0,19±0,01	0,16±0,03	0,20±0,00	0,19±0,01	0,21±0,01	0,22±0,06	0,23±0,02	0,25±0,00	0,21±0,00
C18:0	5,22±0,15	5,20±0,07	5,07±0,07	5,41±0,02	5,03±0,25	5,68±0,03	0,49±0,09	0,57±0,01	0,58±0,01	0,51±0,00
C18:1n9t	0,16±0,01	0,10±0,06	0,07±0,10	0,19±0,00	0,16±0,02	0,18±0,00	0,22±0,03	0,22±0,01	0,20±0,01	0,16±0,00
C18:1n9c	9,10±0,30	8,43±0,06	8,06±0,13	8,72±0,07	8,07±0,38	8,48±0,09	9,77±1,56	9,86±0,07	9,96±0,02	8,59±0,01
C18:2n6t	0,16±0,02	0,12±0,01	0,11±0,01	0,11±0,00	0,11±0,00	0,06±0,06	0,10±0,01	0,12±0,01	0,06±0,06	0,07±0,07
C18:2n6c	2,35±0,09	2,27±0,03	2,12±0,05	2,28±0,02	2,16±0,09	2,17±0,00	2,49±0,39	2,53±0,02	2,54±0,01	2,20±0,01
C20:0	0,74±0,00	0,72±0,04	0,72±0,00	0,78±0,02	3,76±4,29	0,79±0,07	0,94±0,16	0,94±0,02	0,96±0,02	0,79±0,00
C18:3n6	0,16±0,00	0,14±0,00	0,13±0,01	0,14±0,00	0,13±0,00	0,16±0,01	0,18±0,03	0,04±0,00	0,04±0,00	0,16±0,00
C20:1	1,28±0,03	1,20±0,01	1,18±0,00	1,23±0,00	1,13±0,03	1,09±0,08	1,29±0,22	0,20±0,01	0,21±0,00	1,11±0,00
C18:3n3	-	-	-	-	-	-	0,21±0,29	0,37±0,00	0,38±0,01	0,16±0,23
C21:0	1,95±0,12	1,95±0,03	1,91±0,01	1,94±0,02	1,88±0,07	1,87±0,00	2,10±0,33	2,18±0,02	2,20±0,01	1,91±0,04
C20:2	0,33±0,01	3,13±0,26	3,32±0,01	3,15±0,08	3,16±0,13	0,33±0,03	3,37±0,50	0,08±0,06	0,02±0,00	3,05±0,02
C22:0	0,25±0,02	0,29±0,02	0,27±0,01	0,31±0,01	0,27±0,01	0,23±0,04	0,39±0,08	0,37±0,03	0,40±0,02	0,32±0,01
C20:3n6	0,37±0,03	0,32±0,05	0,33±0,01	0,33±0,00	0,32±0,00	0,38±0,06	0,43±0,07	0,38±0,00	0,15±0,01	0,36±0,01
C22:1n9	0,18±0,01	0,16±0,05	0,17±0,01	0,20±0,00	0,19±0,00	0,17±0,02	0,21±0,04	0,24±0,02	0,45±0,00	0,19±0,00
C20:3n3	0,04±0,01	0,04±0,06	-	0,07±0,01	0,07±0,01	0,09±0,00	0,09±0,01	0,10±0,02	0,10±0,02	0,08±0,02
C20:4n6	0,22±0,01	0,22±0,01	0,21±0,02	0,22±0,00	0,21±0,00	0,21±0,01	0,25±0,04	0,25±0,00	0,26±0,01	0,22±0,00

C23:0	1,51±0,06	1,37±0,00	1,41±0,03	1,24±0,01	1,32±0,04	1,39±0,10	1,61±0,25	1,66±0,01	1,65±0,01	1,40±0,01
C22:2	-	0,02±0,02	-	0,04±0,01	0,03±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00	0,05±0,01	0,05±0,00	0,04±0,00
C24:0	0,07±0,011	0,11±0,01	0,11±0,01	0,11±0,01	0,10±0,00	0,12±0,03	0,16±0,04	0,97±0,01	0,97±0,01	0,48±0,49
C20:5n3	13,75±0,63	13,09±0,04	13,41±0,41	12,52±0,09	12,69±0,37	14,20±0,86	16,62±2,57	17,11±0,09	17,01±0,16	14,69±0,05
C24:1	0,55±0,04	0,69±0,06	0,69±0,03	0,71±0,02	0,64±0,00	0,70±0,13	0,92±0,18	0,89±0,02	0,92±0,01	0,74±0,03
C22:6n3	16,54±0,10	20,72±0,57	22,98±1,68	19,56±0,05	20,61±0,21	18,59±2,52	23,38±3,40	23,37±0,61	23,68±0,18	19,42±0,49

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

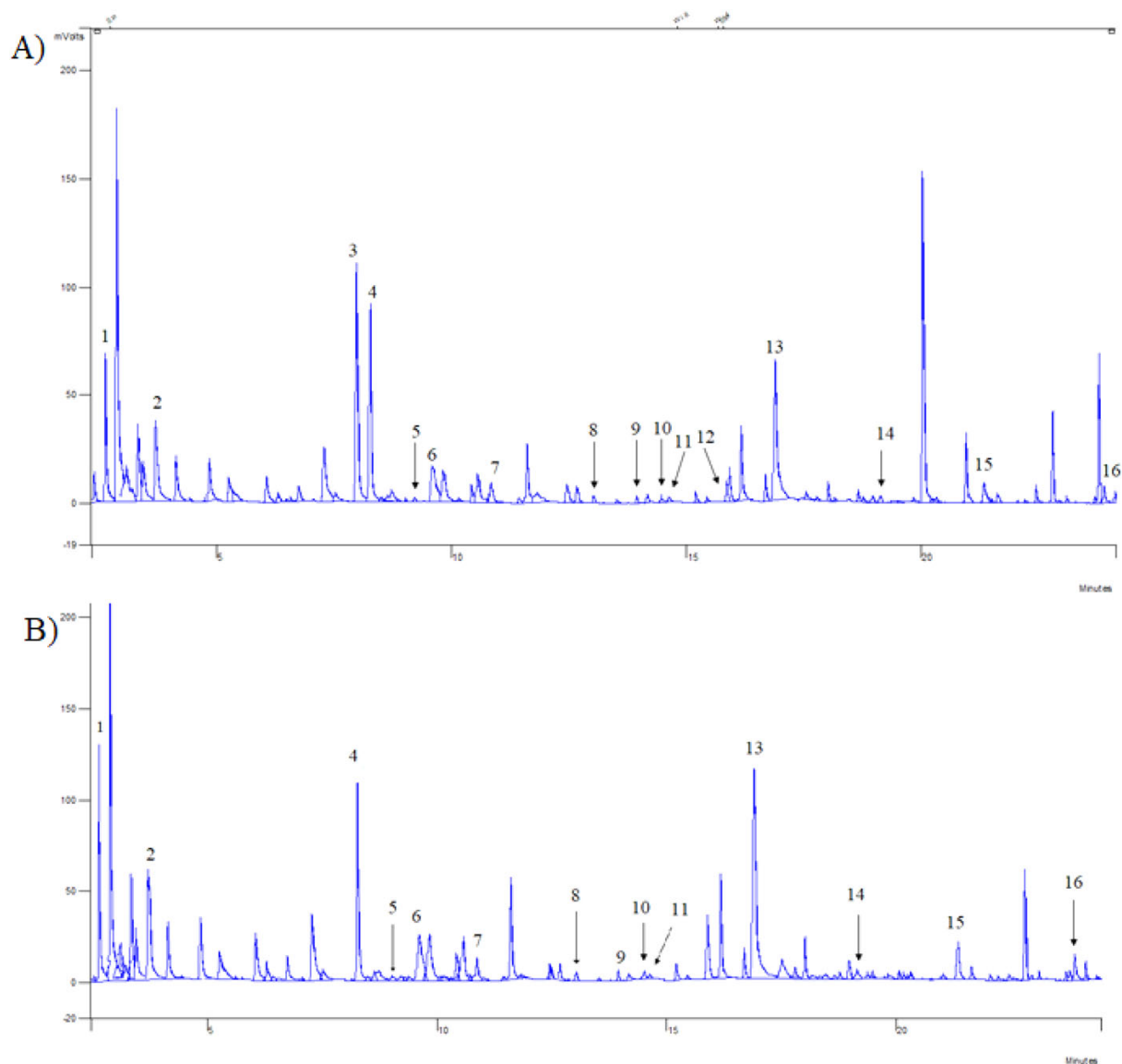


Slika 5.3.3. Prikaz ukupnih SFA (zasićene masne kiseline), MUFA (mononezasićene masne kiseline) i PUFA (polinezasićene masne kiseline) i suma EPA (eikozapentaenska kiselina) i DHA (dokozaheksaenska kiselina) (A) te omjeri PUFA/SFA i $n-6/n-3$ (B) za ulja cijele srdele i otpada srdele kroz faze rafinacije.

Tablica 5.3.3. Hlapive komponente (mg/kg) ulja cijele srdele i ulja otpada srdele tijekom različitih faza rafinacije ($n = 2$).

Hlapiva komponenta		Ulje cijele srdele			Ulje otpada srdele		
		<i>Sirovo</i>	<i>Izbjeljeno</i>	<i>Deodorizirano</i>	<i>Sirovo</i>	<i>Izbjeljeno</i>	<i>Deodorizirano</i>
Esteri	Etil acetat	1,38±0,05	6,28±0,85	2,10±0,22	1,64±0,38	2,06±0,32	3,10±0,0
Aldehidi	Pentanal	1,59±0,05	2,70±0,09	1,00±0,07	1,28±0,08	3,01±0,27	2,36±0,20
	<i>E</i> -2-heksenal	0,03±0,0	0,24±0,04	0,10±0,0	0,02±0,01	0,01±0,0	0,09±0,02
	Oktanal	0,64±0,02 5	0,80±0,10	0,28±0,03	2,01±0,13	1,43±0,07	1,20±0,04
	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal	1,20±0,01	2,04±0,22	0,93±0,10	2,35±0,44	4,45±0,18	3,44±0,15
	(<i>E,E</i>)-2,4-dekadienal	6,98±0,08	4,05±0,39	47,28±4,2 0	41,57±5,4 4	27,63±4,0 6	50,42±1,0 0
	2,4-nonadienal	6,65±0,01	10,90±1,5 0	5,70±0,97	9,50±1,00	8,90±1,13	14,33±1,5 9
Alkoholi	1-penten-3-ol	0,53±0,01	10,20±0,5 7	6,58±0,62	–	0,03±0,0	–
	4-metilpenten-2-ol	1,05±0,06	14,95±0,1 4	3,72±0,04	2,24±0,04	2,95±0,35	4,17±0,05 d
	Heksanol	0,01±0,0	0,33±0,04	0,10±0,01	0,07±0,01	0,04±0,0	0,12±0,0
	<i>E</i> -2-heksen-1-ol	–	0,21±0,10	0,03±0,0	0,04±0,0	0,28±0,01	0,27±0,02
	<i>Z</i> -3-heksen-1-ol	0,05±0,0	0,26±0,0	0,18±0,05	0,30±0,04	0,09±0,01	0,18±0,02
Ugljikovodici	Dodekan	2,83±0,28	5,35±0,05	5,09±0,16	9,38±1,32	8,04±0,61	7,23±0,03
	Tetradekan	1,41±0,12	5,32±0,16	4,18±0,21	5,64±0,54	2,86±0,30	4,56±0,31
	Tetradeken	1,57±0,05	32,32±2,1 6	2,80±0,16	2,33±0,21	1,85±0,14	–
	2,4-heptadienal+pentadekan	360,45±9, 04	386,97±2 6,72	317,06±28 ,09	451,04±2 9,94	389,11±3 1,82	580,08±16 ,03

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.



Slika 5.3.4. Kromatogram hlapljivih spojeva rafiniranog ulja cijele srdele (A) i ulja otpada srdele (B): etil acetat (1), pentanal (2), 1-penten-3-ol (3), 4-metilpenten-2-ol (4), *E*-2-heksenal (5), dodekan (6), oktanal (7), heksanol (8), *E*-2-heksen-1-ol (9), *Z*-3-heksen-1-ol (10), tetradekan (11), tetradeken (12), 2,4-heptadienal+pentadekan (13), (*E,Z*)-2,6-nonadienal (14), 2,4-nonadienal (15), (*E,E*)-2,4-dekadienal (16).

5.4. Usporedba ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta

U Tablici 5.4.1. prikazani su parametri kvalitete ulja otpada tune, jetre tune i otpada lubina i komarče. Udio SMK se snizio nakon postupka rafinacije kod sva tri proizvedena ulja, dok je za ulje uzgojne ribe zabilježeno najveće smanjenje od čak 50% vrijednosti sirovog ulja. Uz udio SMK, snizile su se i vrijednosti *pAV* za sva ulja. Vrijednosti *pAV* rafiniranih ulja otpada tune i ulja jetre tune se nisu statistički značajno razlikovale, dok je ulje otpada uzgojne

ribe imalo značajno nižu vrijednost. Vrijednosti PB su značajno porasle tijekom rafinacije ulja tune, dok su se za ulje otpada uzgojne ribe snizile. Međutim, početna PB vrijednost sirovog ulja otpada uzgojne ribe je bila značajno viša nego kod sirovih ulja tune pa se nakon smanjenja tijekom rafinacije vrijednosti PB ulja jetre tune i ulja otpada uzgojne ribe nisu značajno razlikovale. Ulje otpada tune je imalo najnižu PB vrijednost nakon postupka rafinacije. Nastavno na dobivene *pAV* i PB vrijednosti, najnižu TOTOX vrijednost nakon rafinacije je imalo ulje otpada uzgojne ribe. TBARS vrijednosti su se povisile kod ulja otpada tune i ulja otpada uzgojne ribe nakon postupka rafinacije, dok su se kod ulja jetre tune značajno snizile. Najnižu TBARS vrijednost je imalo rafinirano ulje otpada tune.

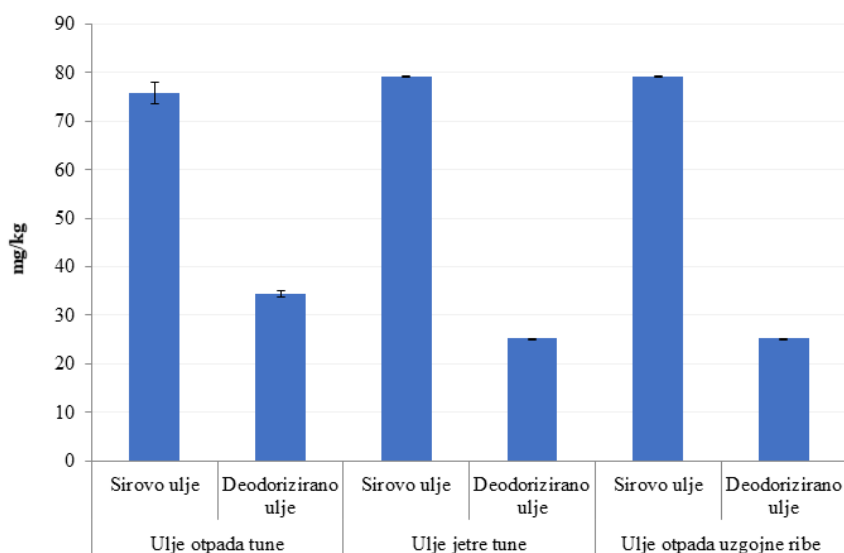
Tablica 5.4.1. Parametri kvalitete ulja uzgojnih riba prilikom različitih faza rafinacije.

Mjereni parametar		SMK (% oleinske kiseline)	PB (meq O ₂ /kg)	<i>pAV</i>	TOTOX	TBARS (μM/g)
Ulje otpada tune	<i>Sirovo ulje</i>	2,94±0,12 ^a	2,31±0,73 ^a	25,2±0,08 ^a	29,7±0,20 ^a	0,94±0,33 ^a
	<i>Degumirano ulje</i>	3,51±0,03 ^b	3,93±0,18 ^b	19,2±1,25 ^b	27,1±0,79 ^b	1,02±0,14 ^a
	<i>Neutralizirano ulje</i>	3,13±0,10 ^b	3,46±0,39 ^b	16,9±1,23 ^c	23,8±1,06 ^c	2,02±0,45 ^b
	<i>Izbjeljeno ulje</i>	2,93±0,04 ^a	2,88±0,11 ^{ab}	14,4±0,90 ^d	20,2±1,34 ^d	1,88±0,37 ^b
	<i>Deodorizirano ulje</i>	2,83±0,010 ^a	3,78±0,22 ^b	19,5±0,94 ^b	27,1±2,15 ^b	1,14±0,11 ^a
Ulje jetre tune	<i>Sirovo ulje</i>	3,13±0,00 ^a	2,68±0,86 ^a	20,9±1,34 ^a	26,0±0,14 ^a	2,88±0,73 ^a
	<i>Degumirano ulje</i>	2,52±0,05 ^b	3,01±0,05 ^{ab}	19,1±2,47 ^b	25,2±1,17 ^a	1,35±0,02 ^b
	<i>Neutralizirano ulje</i>	2,65±0,11 ^c	2,89±0,22 ^{ab}	17,0±4,78 ^c	22,7±1,22 ^b	1,76±0,03 ^b
	<i>Izbjeljeno ulje</i>	2,17±0,03 ^b	2,85±0,53 ^{ab}	14,0±0,65 ^d	19,7±0,43 ^c	1,92±0,35 ^b
	<i>Deodorizirano ulje</i>	2,12±0,16 ^b	4,25±0,28 ^c	19,2±2,22 ^b	27,7±2,22 ^a	1,97±0,53 ^b
Ulje otpada lubina i komarče	<i>Sirovo ulje</i>	2,41±0,47 ^a	4,63±1,07 ^a	18,1±0,19 ^{ab}	19,3±2,45 ^a	0,53±0,05 ^a
	<i>Degumirano ulje</i>	1,66±0,05 ^b	2,70±0,18 ^b	15,7±1,12 ^c	20,2±0,12 ^a	3,46±2,08 ^b
	<i>Neutralizirano ulje</i>	1,43±0,18 ^b	3,13±0,31 ^b	12,7±0,65 ^a	18,9±0,26 ^a	2,24±1,05 ^{bc}
	<i>Izbjeljeno ulje</i>	1,40±0,01 ^b	3,44±0,25 ^{ab}	11,4±0,19 ^b	18,4±0,52 ^a	1,14±0,10 ^{ac}

	Deodorizirano ulje	1,28±0,15 ^b	4,20±0,15 ^{ab}	16,5±0,39 ^c	24,7±0,32 ^b	1,42±0,53 ^{ac}
--	---------------------------	------------------------	-------------------------	------------------------	------------------------	-------------------------

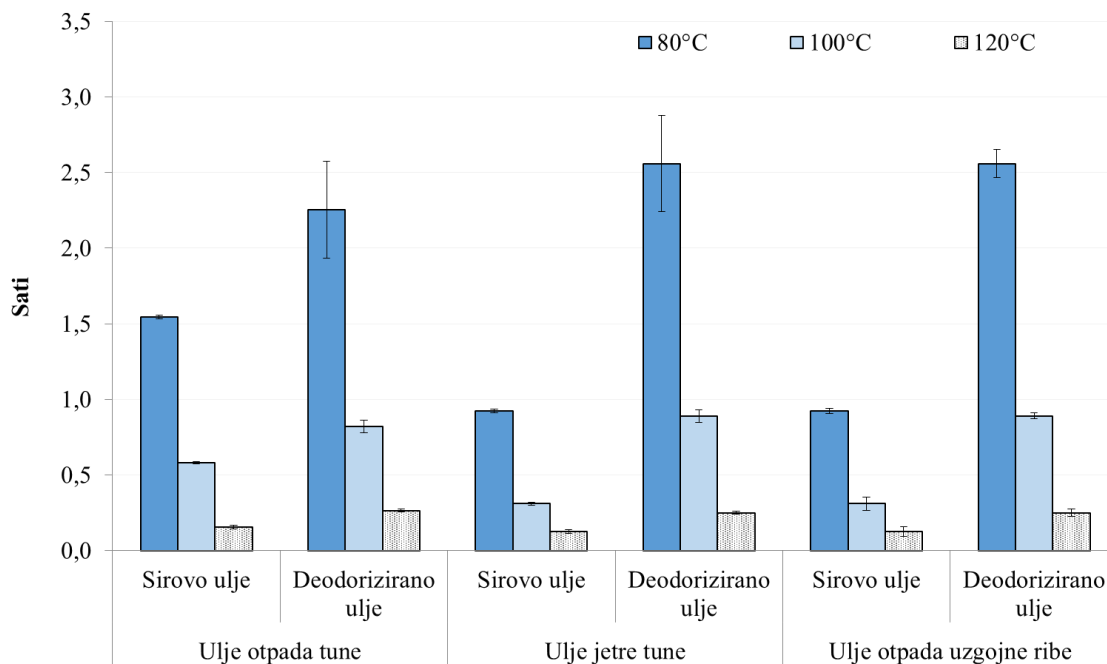
Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. ^{a-f} različita slova u istom stupcu pokazuju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$) između uzoraka ulja; PB – peroksidni broj; SMK – slobodne masne kiseline; *p*AV – anisidinski broj; TBARS – tiobarbiturni test; TOTOX – ukupna oksidacija.

Vrijednosti α -tokoferola kod sirovih ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta se nisu značajno razlikovale (Slika 5.4.1.). Nakon postupka rafinacije vrijednosti su se značajno snizile te ulje otpada tune imalo najvišu vrijednost. Vrijednosti α -tokoferola rafiniranih ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe se nisu značajno razlikovale.



Slika 5.4.1. Sadržaj α -tokoferola u sirovom i deodoriziranom ulju otpada tune, jetre tune i otpada uzgojne ribe.

Oksidativna stabilnost ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojne ribe mjerena je pri tri različite temperature. Dobiveni rezultati su prikazani na Slici 5.4.2. Sirovo ulje otpada tune je imalo najdulju oksidativnu stabilnost pri svim temperaturama. Oksidativna stabilnost sirovih ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe nije se značajno razlikovala. Postupkom rafinacije produljila se oksidativna stabilnost za sva testirana ulja pri sve tri temperature. Najdulje su stabilna bila rafinirana ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe pri 80 °C. Ako uspoređujemo ulja tune, stabilnije je bilo rafinirano ulje jetre tune od rafiniranog ulja otpada tune.



Slika 5.4.2. Oksidativna stabilnost sirovog i deodoriziranog ulja otpada tune, jetre tune i otpada uzgojne ribe.

U Tablicama 5.4.2., 5.4.3. i 5.4.4. su prikazane promjene u sastavu masnih kiselina ulja otpada tune, ulja jetre tune i ulja otpada uzgojne ribe tijekom postupka rafiniranja. Najzastupljenija SFA u sva tri ulja je bila palmitinska kiselina, dok je najzastupljenija MUFA bila oleinska kiselina. U svim uljima su pronađene visoke koncentracije EPA i DHA. Promjene suma SFA, MUFA, PUFA, EPA i DHA, $n-3$, $n-6$ i omjera $n-3/n-6$ i PUFA/SFA za sirova i deodorizirana ulja su prikazana na Slici 5.4.3. Postupkom rafiniranja snizile su se ukupne SFA, osim za ulje otpada tune. Ulje otpada uzgojne ribe je imalo značajno niže količine ukupnih SFA od ulja tune. Vrijednosti ukupnih MUFA su se snizile kod ulja tune nakon postupka rafinacije, dok su se u ulju otpada uzgojne ribe neznatno povisile. Ukupne PUFA su se povisile nakon postupka rafinacije kod ulja tune. U ulju otpada uzgojne ribe neznatno su se snizile. I sirova i rafinirana ulja tune su imala značajno višu sumu EPA i DHA i $n-3$ od ulja otpada uzgojne ribe. Vrijednosti ukupnih $n-3$ su bile više od vrijednosti ukupnih $n-6$ u uljima tune, dok je obrnuto primijećeno kod ulja otpada uzgojne ribe. Omjer $n-3/n-6$ je bio višestruko viši u ulju otpada tune, nego u uljima jetre tune i otpada uzgojne ribe. Postupkom rafinacije njegove su se vrijednosti snizile, ali je ulje otpada tune i dalje imalo najveći omjer.

Tablica 5.4.2. Promjena u sastavu masnih kiselina (%) ulja otpada tune po fazama rafinacije.

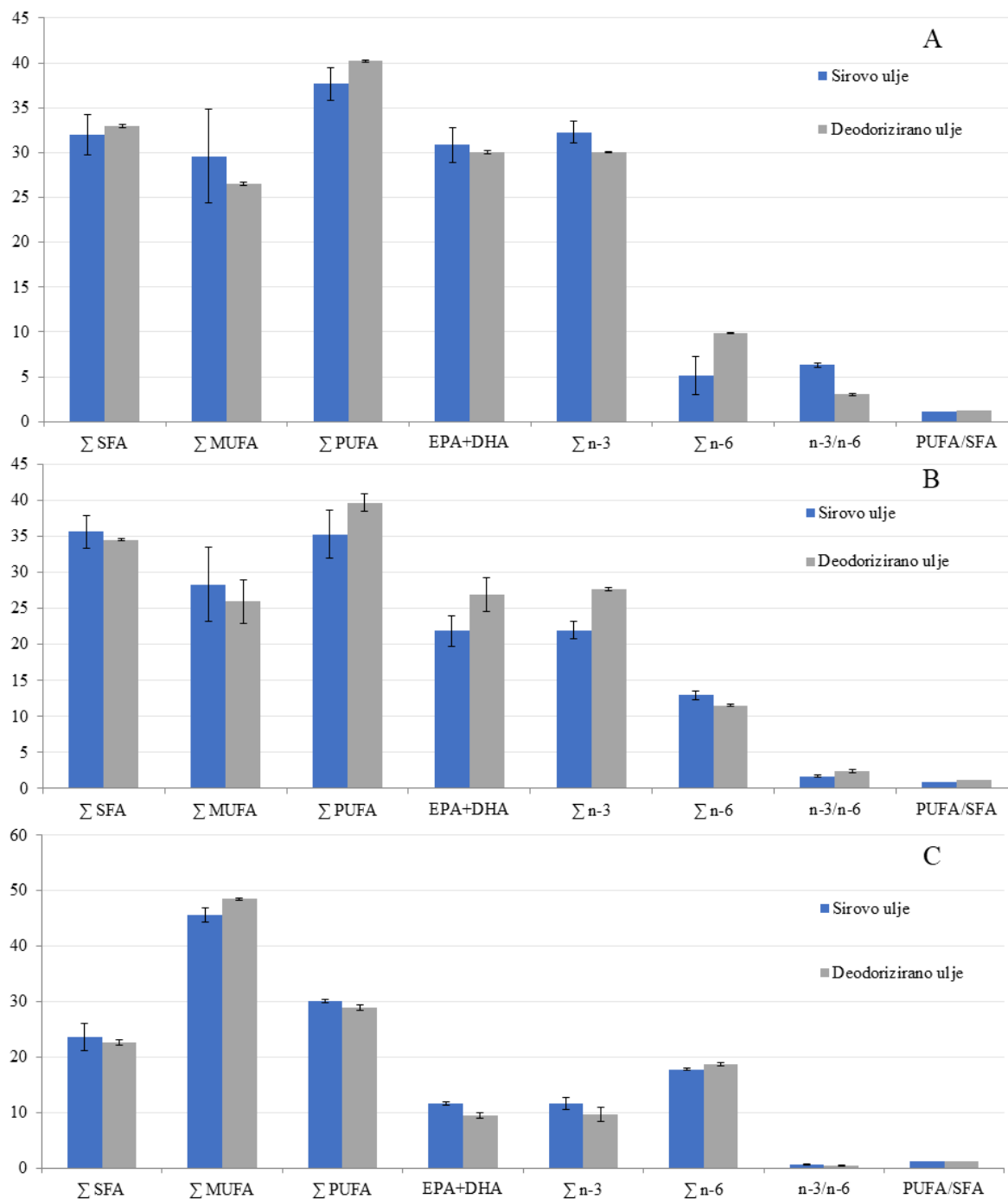
Masna kiselina	Ulje otpada tune				
	<i>Sirovo ulje</i>	<i>Degumirano ulje</i>	<i>Neutralizirano ulje</i>	<i>Izbjeljeno ulje</i>	<i>Deodorizirano ulje</i>
C12:0	0,00±0,00	0,05±0,01	0,07±0,01	0,05±0,01	0,06±0,00
C13:0	0,00±0,00	0,05±0,01	0,06±0,00	0,06±0,01	0,06±0,00
C14:0	6,08±0,98	6,05±0,15	6,39±0,24	6,08±0,39	6,05±0,00
C14:1	0,46±0,65	0,80±0,06	0,41±0,59	0,42±0,60	0,04±0,06
C15:0	0,37±0,52	0,07±0,02	0,49±0,57	0,08±0,00	0,82±0,01
C15:1	0,00±0,00	0,01±0,02	0,01±0,01	0,02±0,00	0,01±0,01
C16:0	18,20±2,12	17,96±0,22	18,11±0,50	18,12±0,44	18,09±0,23
C16:1	6,14±0,74	6,11±0,19	6,44±0,20	6,14±0,18	6,09±0,06
C17:0	0,67±0,07	0,66±0,00	0,66±0,01	0,66±0,00	0,65±0,00
C17:1	0,46±0,10	0,41±0,00	0,45±0,01	0,44±0,01	0,44±0,01
C18:0	4,28±0,36	4,26±0,13	4,16±0,02	4,22±0,04	4,23±0,01
C18:1n9t	13,92±1,14	0,53±0,52	0,16±0,01	0,16±0,01	0,16±0,00
C18:1n9c	2,64±0,41	13,48±0,11	13,97±0,27	13,72±0,06	13,73±0,18
C18:2n6t	0,06±0,08	0,11±0,03	0,02±0,00	0,06±0,05	0,05±0,03
C18:2n6c	1,04±1,47	2,12±0,01	2,26±0,01	2,21±0,01	2,18±0,01
C20:0	0,42±0,03	0,42±0,01	0,45±0,02	0,44±0,01	0,42±0,00
C18:3n6	0,39±0,55	0,11±0,00	0,13±0,01	0,14±0,01	0,13±0,00
C20:1	5,07±0,20	4,96±0,34	4,91±0,01	5,06±0,16	5,08±0,02
C18:3n3	1,41±0,12	0,21±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
C21:0	0,00±0,00	1,38±0,03	1,51±0,09	1,39±0,04	1,44±0,04
C20:2	0,28±0,01	0,15±0,14	0,27±0,00	0,26±0,01	0,27±0,01
C22:0	0,08±0,11	0,17±0,02	0,16±0,01	0,15±0,01	0,15±0,01
C20:3n6	3,54±5,01	3,35±4,68	6,74±0,15	7,27±0,48	7,32±0,02
C22:1n9	0,32±0,01	0,29±0,02	0,28±0,00	0,30±0,02	0,30±0,00
C20:3n3	0,00±0,00	0,05±0,03	0,10±0,11	0,03±0,00	0,02±0,00
C20:4n6	0,09±0,13	0,18±0,01	0,09±0,12	0,18±0,01	0,18±0,00
C23:0	1,02±0,08	1,02±0,06	1,01±0,01	0,98±0,02	0,97±0,00
C22:2	0,00±0,00	0,02±0,02	0,03±0,00	0,03±0,01	0,03±0,00
C24:0	0,87±0,04	0,03±0,01	0,01±0,01	0,02±0,00	0,02±0,00
C20:5n3	9,56±0,76	9,81±0,61	9,56±0,10	9,43±0,19	9,29±0,04
C24:1	0,60±0,02	0,62±0,05	0,54±0,03	0,63±0,06	0,65±0,00
C22:6n3	21,29±1,09	24,36±3,91	19,82±0,84	20,97±0,74	20,75±0,19

Tablica 5.4.3. Promjena u sastavu masnih kiselina (%) ulja jetre tune po fazama rafinacije.

Masna kiselina	Ulje jetre tune				
	<i>Sirovo ulje</i>	<i>Degumirano ulje</i>	<i>Neutralizirano ulje</i>	<i>Izbjeljeno ulje</i>	<i>Deodorizirano ulje</i>
C12:0	0,07±0,00	0,06±0,01	0,06±0,01	0,05±0,01	0,07±0,01
C13:0	0,07±0,00	0,08±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01	0,08±0,02
C14:0	6,60±0,49	6,49±0,10	6,78±0,57	6,04±0,02	7,24±0,25
C14:1	0,91±0,06	0,00±0,00	0,44±0,62	0,41±0,58	0,00±0,00
C15:0	0,07±0,00	0,89±0,01	0,06±0,01	0,46±0,56	0,99±0,02
C15:1	0,01±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,01±0,01	0,00±0,00
C16:0	19,85±1,54	19,42±0,02	20,67±1,63	18,60±0,16	21,14±0,88
C16:1	5,61±0,43	5,53±0,06	5,78±0,46	5,27±0,02	6,01±0,25
C17:0	0,75±0,06	0,73±0,00	0,78±0,06	0,71±0,00	0,79±0,03
C17:1	0,40±0,04	0,39±0,01	0,40±0,02	0,39±0,00	0,39±0,02
C18:0	4,97±0,36	4,82±0,02	3,78±2,36	4,72±0,02	5,19±0,12
C18:1n9t	0,17±0,02	0,16±0,00	0,18±0,01	0,15±0,02	0,18±0,01
C18:1n9c	13,42±1,09	12,98±0,04	7,30±8,25	12,55±0,10	3,13±0,09
C18:2n6t	0,08±0,09	0,08±0,08	0,14±0,02	0,02±0,01	0,14±0,01
C18:2n6c	2,28±0,18	2,22±0,01	2,35±0,18	2,14±0,00	2,38±0,05
C20:0	0,47±0,04	0,47±0,01	0,48±0,01	0,46±0,01	0,48±0,01
C18:3n6	0,12±0,01	0,13±0,01	0,12±0,01	0,12±0,00	0,12±0,00
C20:1	6,50±0,56	6,22±0,07	6,76±0,52	6,06±0,03	6,51±0,06
C18:3n3	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,73±1,03
C21:0	1,48±0,13	1,43±0,01	1,49±0,07	1,37±0,04	0,75±1,06
C20:2	0,31±0,03	0,27±0,00	0,29±0,02	0,25±0,02	0,12±0,17
C22:0	0,18±0,02	0,16±0,01	0,19±0,03	0,17±0,00	0,19±0,02
C20:3n6	10,25±0,92	9,57±0,17	10,72±0,83	9,53±0,12	10,08±0,47
C22:1n9	0,39±0,03	0,35±0,01	0,41±0,04	0,35±0,04	0,41±0,01
C20:3n3	0,05±0,00	0,11±0,11	0,04±0,01	0,03±0,00	0,13±0,11
C20:4n6	0,19±0,01	0,09±0,13	0,20±0,02	0,22±0,05	0,10±0,14
C23:0	1,01±0,07	0,96±0,05	1,00±0,07	0,94±0,02	1,03±0,01
C22:2	0,05±0,01	0,03±0,02	0,04±0,00	0,04±0,00	0,40±0,57
C24:0	0,07±0,01	0,07±0,00	0,08±0,01	0,08±0,00	0,45±0,52
C20:5n3	8,81±0,68	8,16±0,04	8,82±0,64	8,35±0,08	9,15±0,03
C24:1	0,90±0,09	0,76±0,09	0,93±0,06	0,85±0,03	0,85±0,14
C22:6n3	13,07±7,00	17,20±0,05	19,50±1,28	19,54±0,02	20,79±1,21

Tablica 5.4.4. Promjena u sastavu masnih kiselina (%) ulja otpada uzgojne ribe po fazama rafinacije.

Masna kiselina	Ulje otpada uzgojne ribe				
	<i>Sirovo ulje</i>	<i>Degumirano ulje</i>	<i>Neutralizirano ulje</i>	<i>Izbjeljeno ulje</i>	<i>Deodorizirano ulje</i>
C12:0	0,02±0,00	0,03±0,00	0,01±0,02	0,03±0,01	0,03±0,00
C13:0	0,00±0,00	0,01±0,01	0,00±0,00	0,01±0,02	0,02±0,00
C14:0	2,31±0,00	2,40±0,04	2,42±0,08	3,11±0,54	2,57±0,14
C14:1	0,36±0,00	0,37±0,02	0,38±0,02	0,47±0,07	0,40±0,00
C15:0	0,04±0,01	0,05±0,01	0,05±0,00	0,07±0,02	0,05±0,00
C15:1	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
C16:0	12,70±0,02	13,00±0,12	13,07±0,26	15,13±1,38	13,87±0,23
C16:1	3,56±0,09	3,65±0,06	3,61±0,06	4,22±0,40	3,88±0,17
C17:0	0,32±0,02	0,31±0,01	0,32±0,01	0,34±0,01	0,34±0,01
C17:1	0,27±0,01	0,28±0,01	0,28±0,00	0,30±0,01	0,29±0,01
C18:0	2,63±0,01	2,59±0,12	2,66±0,00	2,60±0,08	0,17±0,00
C18:1n9t	0,12±0,00	0,12±0,02	0,10±0,01	0,11±0,02	0,15±0,00
C18:1n9c	37,98±0,08	38,76±0,01	38,91±0,29	39,18±0,01	40,52±0,72
C18:2n6t	0,04±0,00	0,03±0,01	0,02±0,02	0,03±0,00	0,04±0,00
C18:2n6c	16,35±0,02	16,62±0,01	16,62±0,10	16,92±0,04	17,32±0,26
C20:0	0,51±0,00	0,40±0,00	0,41±0,00	0,35±0,03	0,39±0,01
C18:3n6	0,19±0,00	0,18±0,00	0,18±0,01	0,19±0,01	0,19±0,00
C20:1	2,47±0,00	2,54±0,05	2,53±0,07	2,15±0,21	2,50±0,05
C18:3n3	0,02±0,02	0,18±0,00	0,18±0,00	0,16±0,02	0,18±0,00
C21:0	4,28±0,01	4,31±0,00	4,30±0,04	4,35±0,03	4,46±0,05
C20:2	0,59±0,01	0,60±0,01	0,60±0,01	0,50±0,06	0,58±0,02
C22:0	0,19±0,02	0,19±0,01	0,20±0,00	0,15±0,02	0,17±0,01
C20:3n6	1,04±0,00	1,05±0,04	1,04±0,04	0,78±0,15	0,97±0,01
C22:1n9	0,46±0,03	0,47±0,001	0,47±0,04	0,33±0,08	0,43±0,01
C20:3n3	0,03±0,00	0,02±0,00	0,01±0,02	0,01±0,01	0,02±0,00
C20:4n6	0,16±0,00	0,16±0,00	0,15±0,01	0,13±0,01	0,16±0,00
C23:0	0,51±0,01	0,49±0,01	0,50±0,00	0,42±0,04	0,48±0,01
C22:2	0,05±0,01	0,05±0,00	0,05±0,01	0,02±0,03	0,05±0,00
C24:0	0,07±0,00	0,07±0,00	0,07±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01
C20:5n3	3,33±0,03	3,15±0,01	3,09±0,06	2,68±0,36	3,04±0,00
C24:1	0,45±0,01	0,44±0,01	0,41±0,08	0,27±0,07	0,34±0,04
C22:6n3	8,26±0,24	7,50±0,08	7,39±0,50	4,95±1,42	6,37±0,47



Slika 5.4.3. Suma SFA (zasićene masne kiseline, %), MUFA (mononezasićene masne kiseline, %), PUFA (polinezasićene masne kiseline, %), EPA (eikozapentaenska kiselina, %) i DHA (dokozaheksaenska kiselina, %), $n-3$, $n-6$ i omjeri $n-3/n-6$ i PUFA/SFA za sirova i deodorizirana ulja otpada tune (A), jetre tune (B) i otpada uzgojne ribe (C).

Određene su hlapive komponente ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojne ribe (Tablica 5.4.5.). Identificirano je šesnaest hlapivih komponenti, kao i u uljima srdele. Najzastupljenije

hlapive komponente u ulju otpada tune su bile smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana, 2,4-dekadienal, dodekan i 4-metilpenten-2-ol. Slično je zabilježeno i za ulje jetre tune, samo što su još pronađene i visoke koncentracije 1-penten-3-ola. U ulju otpada uzgojne ribe najzastupljenije hlapive komponente su bile smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana, 2,4-dekadienal i 2,4-nonadienal. Smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana je bila najdominantnija hlapiva komponenta u sva tri ulja, iako su u ulju otpada uzgojne ribe vrijednosti bile značajno niže nego u uljima tune.

Tablica 5.4.5. Hlapive komponente (mg/kg) ulja otpada tune, jetre tune i otpada uzgojne ribe tijekom različitih faza rafinacije.

Hlapiva komponenta		Ulje otpada tune			Ulje jetre tune			Ulje otpada uzgojne ribe		
		<i>Sirovo</i>	<i>Izbjeljeno</i>	<i>Deodorizirano</i>	<i>Sirovo</i>	<i>Izbjeljeno</i>	<i>Deodorizirano</i>	<i>Sirovo</i>	<i>Izbjeljeno</i>	<i>Deodorizirano</i>
Esteri	Etil acetat	1,51 ± 0,14	1,45 ± 0,19	1,00 ± 0,02	0,93 ± 0,28	1,03 ± 0,29	1,19 ± 0,01	0,50 ± 0,03	1,69 ± 0,25	0,99 ± 0,07
Aldehidi	Pentanal	1,12 ± 0,14	1,55 ± 0,06	1,94 ± 0,32	0,95 ± 0,20	0,81 ± 0,05	0,54 ± 0,01	2,09 ± 0,05	1,53 ± 0,11	0,55 ± 0,04
	<i>E</i> -2-heksenal	0,08 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00
	Oktanal	0,29 ± 0,25	0,53 ± 0,00	0,39 ± 0,24	1,15 ± 0,08	0,41 ± 0,20	0,45 ± 0,10	0,34 ± 0,13	0,31 ± 0,02	0,15 ± 0,09
	<i>(E,Z)</i> -2,6-nonadienal	0,98 ± 0,21	1,07 ± 0,14	0,85 ± 0,13	0,91 ± 0,01	1,20 ± 0,16	1,08 ± 0,08	0,40 ± 0,06	0,62 ± 0,09	0,65 ± 0,03
	<i>(E,E)</i> -2,4-dekadienal	4,59 ± 0,28	6,06 ± 0,57	4,94 ± 0,35	6,28 ± 1,19	6,25 ± 0,70	6,76 ± 0,42	11,5 ± 0,46	10,3 ± 0,18	14,1 ± 0,54
	2,4-nonadienal	0,67 ± 0,04	1,03 ± 0,14	1,02 ± 0,13	2,09 ± 0,16	0,93 ± 0,13	0,96 ± 0,13	6,53 ± 0,58	6,59 ± 0,49	4,77 ± 0,02
Alkoholi	1-penten-3-ol	0,08 ± 0,0	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,01	11,17 ± 0,20	2,29 ± 1,31	1,03 ± 0,00	0,65 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,07 ± 0,00
	4-metilpenten-2-ol	2,66 ± 0,07	1,42 ± 0,17	2,15 ± 0,57	1,14 ± 0,03	1,08 ± 0,57	1,46 ± 0,00	0,57 ± 0,03	1,55 ± 0,10	1,91 ± 0,10
	Heksanol	0,08 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,06 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00
	<i>E</i> -2-heksen-1-ol	0,08 ± 0,00	0,06 ± 0,04	0,11 ± 0,03	0,01 ± 0,01	0,13 ± 0,09	0,23 ± 0,02	0,04 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,23 ± 0,02
	<i>Z</i> -3-heksen-1-ol	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,0	0,05 ± 0,01	0,20 ± 0,14	0,06 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Ugljikovodici	Dodekan	3,85 ± 0,58	4,03 ± 0,11	3,50 ± 0,55	3,22 ± 0,15	4,41 ± 0,59	3,23 ± 0,74	1,17 ± 0,11	1,79 ± 0,59	1,39 ± 0,08
	Tetradekan	1,13 ± 0,22	1,19 ± 0,26	0,71 ± 0,41	0,85 ± 0,01	0,60 ± 0,07	1,09 ± 0,10	1,18 ± 0,06	1,00 ± 0,06	1,09 ± 0,15
	Tetradeken	1,22 ± 0,02	1,17 ± 0,21	1,09 ± 0,15	1,32 ± 0,19	1,18 ± 0,08	1,02 ± 0,10	2,66 ± 0,16	2,49 ± 0,37	2,31 ± 0,07
	2,4-heptadienal+pentadekan	174,19 ± 22,61	208,21 ± 27,50	160,17 ± 19,60	146,01 ± 11,50	164,03 ± 10,50	172,02 ± 9,43	36,04 ± 4,65	51,41 ± 8,07	86,52 ± 0,52

6. RASPRAVA

Svijest o ekološkim i ekonomskim problemima potaknula je istraživanja ekstrakcije različitih sastojaka iz nusproizvoda ribe i drugih morskih organizama kako bi se ponovo koristili u prehrambenoj, farmaceutskoj i agrokemijskoj industriji (Ferraro i sur., 2013). Među njima je riblje ulje jedno od najcjenjenijih, sa svojim glavnim primjenama usmjerenim na akvakulturu (72%), prehranu ljudi (19%), industrijsku i farmaceutsku uporabu (5%) te druge svrhe (4%) (Gunstone i sur., 2007).

6.1. Sirova ulja

Glavne karakteristike i kvaliteta sirovog ribljeg ulja ovise o sirovini koja se koristi za njegovu proizvodnju, a svježa masna riba je najbolji izbor. Sastav ribe, posebno sadržaj masti u nusproizvodima ribe, razlikuje se između vrsta riba, godišnjeg doba i uvjeta uzgoja (Šimat i sur., 2012). U Tablici 5.1.1. prikazan je kemijski sastav i udio soli u sirovinama koje su korištene za proizvodnju ulja. Utvrđeno je da su sve korištene sirovine pogodne za proizvodnju sirovog ulja. Nusproizvodi uzgojne plavoperajne tune imali su vrlo visok udio masti, posebno jetre tune.

Kemijski sastav nusproizvoda uzgojne tune nije istražen, međutim, neka istraživanja prijavila su 9,7% masti u koži velikooke tune (*Thunnus obesus*) (Ahmed i sur., 2017) i 34,4% u nusproizvodima velikooke tune (*T. obesus*) (Hettiarachchi i sur., 2015). Karakteristike sirovih ulja mogu se usporediti prema Tablici 5.2.1. Ulje otpada srdele imalo je dvostruko više masti i dvostruko viši prinos od ulja cijele srdele. Nusproizvodi lubina i komarče su imali viši sadržaj masti u odnosu na njihove filete (4,12%). Razlog tome je vjerojatno velika količina mezenterijskih masti prisutnih u utrobi uzgojne ribe (Bogdanović i sur., 2012).

Pokazalo se da je tehnika kuhanja i prešanja ekološka metoda ekstrakcije za dobivanje ulja dobre kvalitete s obzirom na prinos i karakteristike ulja (Chakraborty & Joseph, 2015a).

U pogledu kvalitete ribljeg ulja i oksidacijske stabilnosti utvrđeno je da je metoda kuhanja i prešanja pokazala najbolje rezultate u usporedbi s drugim metodama ekstrakcije sirovog ribljeg ulja, kao što je tradicionalna analitička metoda Bligha i Dyera te ekstrakcija korištenjem otapala (npr. kloroform-metanol ili etilni alkohol) (Chakraborty & Joseph, 2015a). Kuhanje i prešanje dalo je visok prinos sirovih ribljih ulja bez korištenja toksičnih kemikalija.

Međutim, potreban je proces rafinacije sirovih ulja kako bi ista bila prihvatljiva za konzumaciju. U posljednje vrijeme se ekstrakcija superkritičnim ugljikovim dioksidom koristi za dobivanje ulja iz kože, ljuski i kostiju velikooke tune (Ahmed i sur., 2017), jetre tunja prugavca (Fang i sur., 2019), glava dugorepe tune (Sahena i sur., 2014) i otpada lososa (Haq i sur., 2017). Iako se organska otapala ne koriste ni kod ove metode, potrebna su velika ulaganja za njezinu primjenu u industriji za razliku od ekstrakcije ulja kuhanjem i prešanjem.

U ovom istraživanju ukupni prinosi ulja bili su slični onima dobivenima Bligh i Dyer metodom (Tablica 5.1.1.), što sugerira da se metodom kuhanja i prešanja ekstrahirala većina prisutnog ulja. Chakraborty i Joseph (2015a) su dobili usporedive prinose tijekom ekstrakcije ulja iz srdele (*S. longiceps*) i pokazali da učinak kuhanja pojačava odvajanje centrifugiranjem što rezultira većim prinosima ulja.

Dopuštena granica vrijednosti SMK za sirovo riblje ulje koju je postavilo Međunarodno udruženje proizvođača ribljeg brašna i ulja (IFOMA) kreće se u rasponu od 1 do 7% oleinske kiseline (obično 2 do 5%) (Bimbo, 1998), međutim, opća je preporuka da vrijednosti SMK jestivih ulja trebaju biti do 3,0%. Zbog relativno visoke autolitičke aktivnosti i visokog sadržaja PUFA, riblja ulja su sklona lipolizi i oksidaciji, stoga obično sadrže visok udio SMK. SMK nastaju hidrolizom ulja i utječu na organoleptička svojstva ulja (Özyurt i sur., 2013). SMK su osjetljivije na autoksidaciju od esterificiranih masnih kiselina i djeluju kao prooksidansi (Choe & Min, 2006; Özyurt i sur., 2013). Više razine SMK znak su hidrolize te je kod haringe primjećeno da su vrijednosti SMK nusproizvoda dvostruko više od vrijednosti dobivenih za filet (7,1 naspram 3,8%) (Aidos i sur., 2001). Niske vrijednosti SMK su potvrda da se tijekom proizvodnje nije dogodila značajna hidroliza triglicerida.

Ulja otpada i jetre tune, kao i otpada uzgojne ribe su imala niže vrijednosti SMK od kontrolnog ulja. Ulja srdele su imala statistički značajnije više vrijednosti SMK ($p < 0,05$) od drugih ulja.

PB je parametar koji se koristi za praćenje nastanka hidroperoksida tijekom primarne oksidacije, a dopuštena granica vrijednosti PB za riblje ulje za ljudsku prehranu iznosi < 5 meq O_2/kg (Codex Alimentarius Commission, 2013; 2017). Vrijednosti PB za sva proizvedena ulja nisu bila viša od ograničenja, dok je kontrolno ulje imalo viši PB od dopuštene granice. Međutim, samo PB nije dovoljan pokazatelj kakvoće jestivih ulja, jer se hidroperoksidi razgrađuju tijekom skladištenja (sekundarna oksidacija), što rezultira lažno niskom razinom ovih komponenata.

Za određivanje sekundarne oksidacije je korištena vrijednost pAV dobivena mjerenjem aldehidnih spojeva, pretežno 2-alkenala i 2,4-alkadienala. Preporučena granica pAV je 20 (Codex Alimentarius Commission, 2017) i sva su ulja imala vrijednosti ispod tog. Najnižu vrijednost je imalo ulje otpada tune. PB i pAV , parametri za mjerenje primarne i sekundarne oksidacije, omogućuju ukupnu procjenu stupnja oksidacije. Oba parametra potrebna su za izračun TOTOX vrijednosti. TOTOX je parametar koji se koristi za određivanje prisutnosti spojeva koji nastaju razgradnjom PUFA u uvjetima prooksidacije, uključujući visoku temperaturu, kisik, metalne spojeve i svjetlost, s TOTOX vrijednošću ≤ 26 za koju je utvrđeno da je dopuštena za riblje ulje (Deepika i sur., 2014). Najnižu TOTOX vrijednost imalo je sirovo ulje otpada tune, zatim ulja jetre tune, otpada uzgojne ribe i otpada srdele. Kontrolno ulje i ulje cijele srdele su pokazali vrijednosti iznad preporučene granice.

TBARS test je pokazatelj oksidacije masti kada tiobarbiturna kiselina i produkti, uključujući nekoliko sekundarnih produkata, oksidacije nezasićenih masnih kiselina reagiraju. Najniži TBARS je imalo ulje cijele srdele, a slijedilo ga je kontrolno ulje i ulje jetre tune. Ulja otpada tune, otpada srdele i otpada uzgojne ribe su imala TBARS viši od $2 \mu\text{M TBARS/g}$, što je znatno niže od predložene granice od 7 do $8 \mu\text{M TBARS/g}$ (Boran i sur., 2006). Tijekom proizvodnje sirovog ulja iz indijske uljne srdele, Chakraborty i Joseph (2015b) su dobili usporedive fizikalno-kemijske indekse sirovog ulja, ali PB i TOTOX vrijednosti su bile više (11,9 i $40,0 \text{ meq O}_2/\text{kg}$). Međutim, tijekom procesa rafinacije ove su vrijednosti snižene za pola. Iako su sirova ulja nusproizvoda imala dobre oksidacijske parametre, može se očekivati da će ih postupak rafinacije poboljšati.

KB je izravno proporcionalan stupnju nezasićenja (broju dvostrukih veza) i obrnuto proporcionalan točki topljenja masti. Više nezasićene razine pronađene su u ulju otpada srdele, zatim ulju cijele srdele i ulju jetre tune (Tablica 5.2.1.). Izuzev ulja otpada uzgojne ribe, sva ostala ulja su imala više vrijednosti KB u odnosu na kontrolno ulje. To bi moglo biti rezultat prisutnosti visokih razina PUFA poput EPA i DHA. Khoddami i sur. (2012) su pronašli niži KB u mastima nusproizvoda tune (*Euthynnus affinis*), u rasponu od 143 do $149 \text{ g I}_2/100 \text{ g}$. Najviše vrijednosti dobivene su za glavu, a najniži KB za jetru tune. Razlike u rezultatima mogu biti zbog različitih sezona ulova, spola, zrelosti i različitih vrsta riba i onoga što je uzorkovano, ali i korištene metode ekstrakcije ulja.

SB sirovih ulja bio je niži od standardne vrijednosti za riblja ulja ($180\text{--}200 \text{ mg KOH/g}$) (AOCS, 1994).

Kako se oksidacijsko propadanje ulja događa polako u ambijentalnim uvjetima, razvijeno je nekoliko ubrzanih metoda korištenjem visokih temperatura i opskrbe protokom zraka za ispitivanje oksidacijske stabilnosti, uključujući Rancimat test. Oksidacijska stabilnost ulja ispitivana je pri tri različite temperature, a period indukcije izražen je kao vrijeme (u satima) i pokazatelj je mjere otpornosti ulja na oksidaciju.

Ulja otpada uzgojne ribe i jetre tune su imala najveću stabilnost pri 80 i 100 °C, dok je najniža stabilnost uočena kod ulja otpada srdele. Sadržaj α -tokoferola (vitamina E) u sirovim uljima bio je najniži u ulju cijele srdele. S druge strane, ulja otpada i jetre tune te otpada uzgojne ribe su imala visoku razinu α -tokoferola vjerojatno uslijed visoke količine vitamina E u hrani koja se koristi u njihovu uzgoju. Ulje otpada uzgojne ribe je pokazalo četiri puta bolju stabilnost od kontrolnog ulja pri 80 °C. Postoji mogućnost da je upravo oksidacijska stabilnost ulja otpada lubina i komarče poboljšana hranom (peletima) s visokom razinom vitamina E, međutim korelacija između razine α -tokoferola i oksidacijske stabilnosti nije primijećena. Bogdanović i sur. (2012) i Šimat i sur. (2015) izvijestili su da hrana na bazi peleta može utjecati na sadržaj masti i sastav masnih kiselina uzgojne ribe te produljiti oksidacijsku stabilnost masti.

Sastav masnih kiselina sirovih ulja je prikazan u Tablici 5.2.2. Najviši zbroj SFA zabilježen je kod ulja otpada srdele i ulja cijele srdele, dok je najniži zbroj SFA bio u ulju otpada uzgojne ribe i kontrolnom ulju. Najvažnija SFA bila je palmitinska kiselina (C16:0), dok kapronska (C6:0), kaprilna (C8:0), kaprinska (C10:0) i undekanska kiselina (C11:0) nisu detektirane. Zbog visokog sadržaja oleinske kiseline (C18:1, *cis* 9), zbroj MUFA bio je najviši u ulju otpada lubina i komarče. U usporedbi s kontrolnim uljem, oleinska kiselina je pronađena u nižim koncentracijama u uljima srdele i otpada tune. Više razine oleinske kiseline su prijavljene u mišiću kao i u mezenterijskoj masti uzgojne ribe poput lubina i komarče (Grigorakis i sur., 2002; Lenas i sur., 2011; Šimat i sur., 2015). Ostale važne MUFA bile su palmitoleinska (C16:1) i eikozenska (C20:1) kiselina. Ukupni sadržaji MUFA i PUFA bili su preko 50% ukupnih masnih kiselina u svim proizvedenim uljima što čini ulja ribljih nusproizvoda bogatim izvorom nezasićenih masnih kiselina. Najniži sadržaj MUFA i PUFA je utvrđen u uljima srdele. Nije bilo statistički značajne razlike između sadržaja PUFA, s izuzetkom ulja otpada uzgojne ribe koje je imalo niži sadržaj PUFA kao i najniže razine EPA i DHA. U usporedbi s kontrolnim uljem, ulje otpada tune i ulja srdele su imala slične ili više razine EPA i statistički viši sadržaj DHA. Količine EPA i DHA bile su visoke u uljima dobivenim od nusproizvoda ribe.

Nutritivna kvaliteta sirovih ulja je također prikazana u Tablici 5.2.2. Polienski indeks (PI) se koristi za mjerenje raspada i oksidacije PUFA. U usporedbi s kontrolom, slične vrijednosti PI pronađene su u uljima nusproizvoda ribe, s izuzetkom ulja otpada uzgojne ribe gdje je PI bio ispod jedan. Smanjenje vrijednosti PI u ribljem ulju sugerira razgradnju PUFA, a s njegovim smanjenjem obično se povećava stvaranje primarnih i sekundarnih produkata oksidacije, tj. rezultati PB i TBARS su najčešće povišeni. Međutim, u ovom slučaju to bi moglo biti rezultat niske razine EPA i DHA u ulju otpada uzgojne ribe. AI sugerira odnos između glavnih SFA (proaterogene) i nezasićenih masnih kiselina (protuaterogene) dok se TI povezuje sa stvaranjem ugrušaka u krvnim žilama (Ulbricht & Southgate, 1991). Najniža aterogena aktivnost zabilježena je u ulju otpada uzgojne ribe, a zatim u kontrolnom ulju. Aterogenost je bila viša u uljima srdele. Ulja otpada tune i otpada uzgojne ribe su imala najniži TI, slično kao i kontrolno ulje. Nije utvrđena statistički značajna razlika između ulja jetre tune i ulja srdele. Dobiveni rezultati se slažu s drugim istraživanjima gdje je utvrđeno da su i AI i TI niže u uzgojnoj ribi (Šimat i sur., 2015).

Značajan sadržaj omega-3 pronađen je u uljima proizvedenim od otpada tune i srdele, stoga bi ulja dobivena od nusproizvoda ribe mogla biti važan izvor omega-3 masnih kiselina. Novi izvori omega-3 masnih kiselina su iznimno važni jer su omega-3 povezane s prevencijom različitih bolesti, uključujući rak, kardiovaskularne bolesti, mentalne bolesti (depresija i poremećaj hiperaktivnosti s deficitom pažnje), a poznati su i po protuupalnim, antihipertenzivnim i antihiperlipidemijskim učincima (FAO, 2010; Riediger i sur., 2009).

Najviše vrijednosti omjera PUFA/SFA utvrđene su za kontrolno ulje, ulje otpada uzgojne ribe i otpada tune, dok su najniže vrijednost imala ulja srdele. Sve vrijednosti omjera PUFA/SFA bile su više od preporučene minimalne razine od 0,4 – 0,5 koja se smatra korisnom za ljudsko zdravlje (FAO, 2010). Također, osim omjera PUFA/SFA, omjer omega-6/omega-3 se koristi kao pokazatelj nutritivne kvalitete i ne smije prelaziti 2,0 (Simopoulos, 2009). Sva ulja su imala vrijednosti manje od 1,0, osim ulja otpada uzgojne ribe, koje je također bilo u prihvatljivom rasponu. U usporedbi s drugim istraživanjima, sadržaj omega-3 u uljima nusproizvoda bio je viši ili sličan rezultatima istraživanja za ulje nusproizvoda tune (*E. affinis*) i ulja srdele (*Sardinella lemuru*, *S. longiceps*) (Chakraborty & Joseph, 2015b; Khoddami i sur., 2009; 2012).

Sastav masnih kiselina ulja dobivenog iz nusproizvoda tune (*E. affinis*) (crijeva i jetra) analizirali su Khoddami i sur. (2012). Rezultati za ukupne omega-3 PUFA bili su niži nego u

ovom istraživanju i kretali su se od 15 do 17%, a ulja tune su imala visoke razine arahidonske kiseline (C20:4, *n-6*). Slično ovom istraživanju, autori su izvijestili o omjeru PUFA/SFA od 1,15 za glavu i iznutrice i 0,51 za jetru tune, ali imali su niže vrijednosti MUFA i PUFA. U skladu s tim rezultatima, Khoddami i sur. (2009) izvijestili su da su se SFA ulja dobivenog od nusproizvoda srdele (*S. lemuru*) (glava, crijeva i jetra) kretala od 42,7 do 50,6%, dok je zbroj omega-3 i PUFA bio niži nego u ovom istraživanju.

Rezultati profila masnih kiselina ulja cijele srdele i otpada srdele razlikovali su se od rezultata iz istraživanja Chakrabortyja i Josepha (2015b). U ulju dobivenom kuhanjem i prešanjem srdele (*S. longiceps*) pronašli su ukupne SFA od 41,0%, veći sadržaj MUFA (29,2%) i niži sadržaj PUFA (26,5%), uz značajno nižu sumu EPA + DHA (20,5%), a omjer omega-3/omega-6 je bio preko 5. Prevladavajuće masne kiseline u ulju otpada srdele (*S. lemuru*) bile su palmitinska kiselina (C16:0; 27,8–35,6%), stearinska kiselina (C18:0; 5,90–9,30%), oleinska kiselina (C18:1,*n-9c*; 15,5–21,8%) i DHA (11,9–16,0%) (Khoddami i sur., 2009). Otkrili su da se ukupni sadržaj SFA u različitim dijelovima nusproizvoda srdele kretao između 42,7 i 50,6% (najviši u jetri srdele), ukupni sadržaj MUFA od 26,2 do 32,3% (veći od prijavljenog u ovom istraživanju) i ukupni PUFA sadržaj od 22,7 do 26,4%, što je niže nego što je uočeno za nusproizvode *S. pilchardus*. Khoddami i sur. (2009) prijavili su omjer omega-3/omega-6 za glave, jetra i utrobu od 1,20 do 2,26 s tim da je najveći omjer imalo ulje jetre srdele. Navedene razlike mogu biti posljedica mnogih čimbenika koji utječu na profil masnih kiselina, uključujući vrstu ribe, prehranu, područje ulova, temperaturu i sezonu ribolova (Šimat i sur., 2015).

6.2. Usporedba ulja srdele i otpada srdele

Budući da sirovo riblje ulje sadrži razne nepoželjne spojeve, potreban je postupak njegovog pročišćavanja za daljnju uporabu. Glavni cilj ovog postupka je uklanjanje onečišćenja koje negativno utječu na kvalitetu ulja, njegov rok trajanja i što je najvažnije na prihvaćanje od strane potrošača. Stoga se kontinuirano nastoji razviti postupak rafinacije ribljeg ulja kako bi se proizvelo ulje visoke hranjive vrijednosti, bez boje i mirisa, neutralnog i blagog okusa (Vaisali i sur., 2015). Jedan od ciljeva ovog istraživanja bio je proizvesti riblje ulje od srdele i nusproizvoda prerade srdela te procijeniti njihov potencijal kao izvor vrijednih komponenata. Nakon svakog koraka rafinacije ulja određeni su i glavni parametri kvalitete ulja. U Tablici

5.3.1. prikazani su rezultati koji pokazuju kvalitetu ulja srdele i otpada srdele kroz četiri faze rafinacije (SMK, PB, pAV , TOTOX i TBARS).

Kao što se može vidjeti iz prikazanih rezultata za ulje cijele srdele, najveća vrijednost SMK, koja je bila iznad 3,0%, dobivena je za sirovo ulje, dok su znatno niže vrijednosti dobivene u rafiniranim uljima. Sadržaj SMK u sirovom ulju je bio znatno niži nego u istraživanju Chakrabortyja i Josepha (2015a) na indijskoj uljnoj srdeli (*S. longiceps*) gdje je iznosio 4,4%, najvjerojatnije zbog razlike među sirovinama (vrsta, podrijetlo, sezona ulova, itd.) i u postupku prerade sirovog ulja (tehnologija/oprema za predobradu i ekstrakcija sirovine). Općenito niske vrijednosti SMK sirovih ulja potvrđuju da kratko razdoblje kuhanja tijekom ekstrakcije ulja nije uzrokovalo značajnu hidrolizu. Povećanje sadržaja SMK također može biti uzrokovano enzimatskom (endogeni enzimi u sirovinama koji uzrokuju autolizu tijekom prerade i ekstrakcije ulja) ili mikrobnom aktivnošću koja pomaže masnim kiselinama da se odvoje od molekule triglicerida. Ti su procesi obično intenzivniji u posmrtnom razdoblju malih pelagičnih riba (Deepika i sur., 2014). García-Moreno i sur. (2014) su dobili najniže vrijednosti SMK u uljima srdele ekstrahiranim pri najvišoj korištenoj temperaturi obrade, 55 °C. Dobivene rezultate su objasnili činjenicom da lipaze mogu postati nestabilne na temperaturama iznad 45 °C. Kako je temperatura korištena prilikom ekstrakcije u našem istraživanju bila znatno viša, to bi također moglo objasniti nizak sadržaj SMK u ispitivanim uljima.

Zanimljivo je primijetiti i kako je sirovo ulje otpada srdele imalo nižu početnu vrijednost SMK u odnosu na sirovo ulje cijele srdele, ali dodavanje reagensa (posebno organskih kiselina) i tretmani zagrijavanja tijekom koraka rafiniranja uzrokovali su očekivano povećanje SMK očito uslijed termičke i kiselinske hidrolize triglicerida. Korak deodorizacije snizio je sadržaj SMK u oba slučaja vjerojatno zbog isparavanja hlapivih spojeva i SMK, ali najznačajniji pad postignut je nakon neutralizacije, 13,9% u ulju cijele srdele i 10,83% u ulju otpada srdele, što je u skladu s rezultatima koje su dobili Chakraborty i Joseph (2015b) i Crexi i sur. (2010).

U ovom su istraživanju dobivene relativno visoke vrijednosti PB za oba sirova ulja, ali su se iste snizile tijekom prva tri koraka postupka rafiniranja. Međutim, deodorizacija ulja provedena destilacijom značajno je povećala vrijednosti PB s 2,21 na 4,55 meq O₂/kg u slučaju ulja cijele srdele i s 2,88 na 3,78 meq O₂/kg u slučaju ulja otpada srdele (Tablica 4.3.1.). Unatoč ovom porastu, dobivene vrijednosti PB i dalje su niže od onih koje su dobili García-Moreno i sur. (2014) (od 0,33 do 5,74 meq O₂/kg) i Chakraborty i Joseph (2015b) (od 3,62 do 8,25 meq

O₂/kg). Kao što je već spomenuto, razlog tome mogu biti razlike između korištenih sirovina, njihove manipulacije i skladištenja do obrade, kao i primijenjenih postupaka rafinacije. Dobiveni rezultati PB pokazuju kako su oba ispitivana ulja prikladna za konzumaciju.

Sekundarni produkti oksidacije se prate pomoću *pAV*, TOTOX i TBARS vrijednosti, zbog toga je praćen utjecaj rafinacije na navedene parametre. Vrijednosti *pAV*, TOTOX i TBARS su snižene tijekom prvih koraka rafiniranja, a neznatno povišene nakon završne faze deodorizacije. Njihovo snižavanje nakon koraka izbjeljivanja potvrdilo je da korišteni apsorbenti (aktivni ugljen i Fullerova zemlja) imaju sposobnost apsorpcije primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Chakraborty & Joseph, 2015b). Dopuštena granica *pAV* za prihvatljivost ribljeg ulja za prehranu ljudi je 20 (Crexi i sur., 2010). Oba sirova ulja su imala niže vrijednosti u našem istraživanju i to, 18,46 ulje cijele srdele i 17,66 ulje otpada srdele. Dobiveni rezultati su u skladu s podacima koje su objavili Chakraborty & Joseph (2015a) gdje je za sirovo ulje srdele (16,2) dobivena slična vrijednost *pAV* sa smanjenjem utvrđenim u svakom koraku rafiniranja.

TOTOX vrijednosti sirovih ulja cijele srdele (30,29) i otpada srdele (27,28) su bile iznad granice, ali vrijednosti rafiniranog ulja su bile znatno niže. Vrijednost dobivena za ulje cijele srdele gotovo je ista kao i vrijednost od 19,14 koju su dobili Chakraborty i Joseph (2015b) za rafinirano ulje indijske uljne srdele.

Kao što se vidi u Tablici 5.3.1., TBARS sirovog ulja otpada srdele bio je više nego dvostruko viši od vrijednosti dobivene za sirovo ulje cijele srdele (2,86 naspram 1,27 $\mu\text{M/g}$). Tijekom proizvodnje ulja iz indijskih uljnih srdela, Chakraborty i Joseph (2015b) dobili su značajno veću vrijednost TBARS za sirovo ulje (6,18 $\mu\text{M/g}$), no tijekom rafiniranja ta je vrijednost smanjena za 50%. Autori su također izvijestili o najvećem smanjenju TBARS vrijednosti nakon koraka neutralizacije. Slični rezultati neutralizacijskog učinka na TBARS dobiveni su i u ovom istraživanju, a vrijednost TBARS za sirovo ulje otpada srdele također je snižena za 50%, dostigavši 1,59 $\mu\text{M/g}$ u rafiniranom ulju. U ulju otpada srdele, TBARS je malo povišen čemu je uzrok najvjerojatnije karakteristika sirovina. Za dobivanje ulja cijele srdele korištena je cijela riba dok su za proizvodnju ulja otpada srdele korišteni nusproizvodi prerade (glave, crijeva, peraje). U istraživanju koje su proveli Chakraborty & Joseph (2015b) ulje je proizvedno samo od jestivog tkiva ribe (bez utrobe). TBARS rafiniranog ulja cijele srdele iznosio je 1,65 $\mu\text{M/g}$. Korak degumiranja je prouzročio povišenje ovog parametra, koji je snižen tijekom daljnjih faza rafinacije ulja.

Sadržaj tokoferola značajno je snižen nakon rafiniranja u oba ulja (Slika 5.3.1.).

Ulje cijele srdele i ulje otpada srdele podvrgnuto je analizi masnih kiselina kako bi se utvrdile promjene u njihovim profilima tijekom rafinacije ulja. Rezultati su prikazani u Tablici 5.3.2. i na Slici 5.3.3. Dominantna masna kiselina u oba ulja bila je najčešća zasićena masna kiselina, palmitinska kiselina (C16:0). Sirovo ulje cijele srdele je sadržavalo 21,58%, dok je sirovo ulje otpada srdele sadržavalo 22,14% palmitinske kiseline. Iako se sadržaj ove kiseline neznatno mijenjao tijekom rafinacije, u konačnim uzorcima ulja ostao je vrlo visok (> 20%). Općenito, ukupni sadržaj SFA se snizio nakon postupka rafinacije, tako da je količina SFA u rafiniranom ulju cijele srdele iznosila 43,03%, a u rafiniranom ulju otpada srdele 39,26%. Kada promatramo sadržaj MUFA, sadržaj oleinske kiseline (C18:1, n9c) bio je 8,07% u ulju cijele srdele i 8,59% u ulju otpada srdele, dok su količine ukupnih MUFA u rafiniranim uljima iznosile 17,48% i 20,35%. Što se tiče sadržaja PUFA, kao što je i očekivano, ulja su sadržavala visoke koncentracije EPA (C20:5n3) (12,69% u ulju cijele srdele i 14,69% u ulju otpada srdele) i još veće koncentracije DHA (C22:6n3) (20,61% u ulju srdele i 19,42% u ulju otpada srdele). Iako su više količine EPA otkrivene u ulju otpada srdele, ulje cijele srdele bilo je bogatije s DHA. Međutim, sadržaj ukupnih PUFA u oba rafinirana ulja bio je oko 40%, što se smatra izuzetno visokim. U ovom istraživanju omjer PUFA/SFA bio je značajno veći u sirovim uljima, dok je u rafiniranom ulju cijele srdele iznosio 0,92, a u ulju otpada srdele 1,03. Rezultati su ponovno potvrdili vrijedan prehrambeni potencijal ispitivanih ulja srdele, jer je omjer $n-6/n-3$ za oba ulja iznosio 0,09 što je niže od prethodno navedene granice od 2,0.

Hlapljivi, aromatični spojevi riba široko su proučavani, dok su profili hlapljivih spojeva u sirovim ribljim uljima koja prolaze postupak rafiniranja rijetko proučavani. Brojna istraživanja provode se s ciljem identificiranja hlapljivih spojeva u ribljem ulju (Chakraborty & Joseph, 2015b; Giogios i sur., 2009; Song i sur., 2018), dok se samo mali broj istraživanja bavi kvantifikacijom identificiranih komponenata (koncentracije zabilježene u mg/kg umjesto u postotku). Kemijska karakterizacija hlapljivih spojeva sirovog ulja korisna je za industriju hrane za uzgoj životinja, jer otvara nove mogućnosti upotrebe različitih nusproizvoda, a znanje o promjenama hlapljivih spojeva kroz različite faze rafinacije moglo bi biti od pomoći u optimizaciji ovog postupka tijekom proizvodnje ulja (Chakraborty & Joseph, 2015b; Giogios i sur., 2009; Song i sur., 2018).

Deodorizacija, jedan od glavnih koraka u procesu rafiniranja, obično se provodi uobičajenom destilacijom vodenom parom, prilikom koje se uklanjaju nepoželjni aromatični

spojevi, poput produkata oksidacije (aldehidi i ketoni, zaostale slobodne masne kiseline, itd.). Na efikasnost ovog postupka utječu primijenjeni tlak pare i hlapljivost pri visokoj temperaturi. U ovoj fazi je poželjno koristiti temperature ispod 200 °C kako bi se inhibirala razgradnja esencijalnih spojeva ciklizacijom i polimerizacijom dugolančanih PUFA (Vaisali i sur., 2015).

Sastav i relativni sadržaj hlapljivih spojeva ulja cijele srdele i otpada srdele kroz sve faze rafinacije detektiranih GC-FID-om prikazani su u Tablici 5.3.3. U uljima je identificirano petnaest hlapljivih spojeva (jedan ester, šest aldehida, pet alkohola i tri ugljikovodika) i iz rezultata se može vidjeti kako su se sastav i udio hlapljivih spojeva u uljima značajno mijenjali tijekom postupka rafinacije. Slika 5.3.4. prikazuje kromatogram hlapljivih spojeva ulja cijele srdele i otpada srdele nakon faze deodorizacije. Općenito su hlapljivi spojevi u ribljim uljima produkt mikrobioloških procesa kvarenja ili oksidacija masti, aminokiselina i bjelančevina (Ghaly i sur., 2010). Aldehidi su poznati kao bitni pokazatelji procesa oksidacije, a odgovorni su i za miris ribljeg ulja, isto kao i ketoni koji obično imaju vrlo niske pragove detekcije, a nastaju autooksidacijom PUFA djelovanjem hidroperoksida ili uslijed oksidativne razgradnje masti. Iako ugljikovodici ne utječu na miris, prisutnost alkohola značajno utječe na ukupni miris ulja. Promjene profila hlapljivih spojeva ribljeg ulja od nusproizvoda tune i incuna tijekom procesa kemijske rafinacije su istražili Song i sur. (2018), dok su Chakraborty i Joseph (2015b) istraživali rafinirana ulja indijske uljne srdele. Oba istraživanja su pokazala kako se spojevi najodgovorniji za nepovoljan miris ribljeg ulja mogu učinkovito ukloniti postupkom rafinacije čime se izravno poboljšava kvaliteta ulja. Prema istraživanju Chakrabortyja i Josepha (2015b) utvrđeno je da je kombinacija aktivnog ugljena i Fullerove zemlje učinkovita u izbjeljivanju ulja, dok su neželjeni sastojci mirisa uspješno uklonjeni destilacijom u vakuumu, stoga je predloženi postupak modificiran i korišten u ovom istraživanju.

Prema rezultatima prikazanim u Tablici 5.3.3. i na Slici 5.3.4., glavni identificirani hlapljivi spojevi su smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana (primijenjena metoda nije osigurala njihovo učinkovito razdvajanje), 2,4-dekadial, 2,4-nonadienal i dodekan. 2,4-heptadienal i pentadekan bili su apsolutno dominantne hlapljive komponente u uljima, s koncentracijama u rafiniranom ulju cijele srdele od 317,06, odnosno u ulju otpada srdele od 580,08 mg/kg. Pentadekan je bio glavni alkan pronađen u uljima srdele i saruna (Moffat i sur., 1993), dok je 2,4-heptadienal poznat kao spoj zaslužan za snažan miris ribljeg ulja (Roh i sur., 2006). U istraživanju Chakrabortyja i Josepha (2015b) destilat ribljeg ulja srdele dobiven nakon 60 minuta sadržavao je dva istaknuta aldehida, 2,4-heptadienal i 2,4-dekadial. Koncentracije ovih spojeva također su bile izuzetno visoke u ovom istraživanju, što ukazuje na potrebu za

daljnjim poboljšanjem metode destilacije. Količina 2,4-dekadienala (iz *n*-6 masnih kiselina) se povećala nakon destilacije, posebno u ulju cijele srdele gdje je zabilježena gotovo 7 puta veća koncentracija. Ova dva aldehida su također od velike važnosti zbog svog doprinosa karakterističnom neugodnom mirisu ulja (Chakraborty & Joseph, 2015b; Roh i sur., 2006). Među nezasićenim alkoholima odgovornim za riblji miris ulja, jedan od najvažnijih spojeva je 1-penten-3-ol (Song i sur., 2018). Sadržaj ovog spoja bio je znatno veći u ulju cijele srdele, nego u ulju otpada srdele, gdje on ili nije pronađen, ili je pronađen u zanemarivoj količini. Koncentracija 1-penten-3-ola značajno se smanjila u procesu rafinacije ulja cijele srdele (s 10.20 na 6.58 mg/kg), što je u skladu s rezultatima koje su dobili Song i sur. (2018).

6.3. Usporedba ulja dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta

Rezultati parametara kakvoće ulja dobivenih od nusproizvoda i jetri tune te nusproizvoda lubina i komarči i njihova promjena kroz četiri faze rafinacije su prikazani u Tablici 5.4.1. Unatoč visokoj temperaturi korištenoj tijekom proizvodnje ulja (kuhanje na 95 °C tijekom 12 minuta), utvrđeno je da temperatura nije imala utjecaj na parametre kvalitete ulja.

Tijekom preliminarnog istraživanja istraživani su parametri kvalitete u uljima proizvedenim na različitim temperaturama (od 65 do 95 °C) i uspoređivani s ekstraktima masti prema Bligh i Dyer (1959) metodi, pri čemu nije utvrđena značajna razlika u oksidacijskim parametrima. Prethodno je potvrđeno da je temperatura pri proizvodnji ulja slabo povezana s oksidacijskom kvalitetom proizvedenog ulja, ali snažno utječe na sadržaj omega-3 masnih kiselina, što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja (Honold i sur., 2016a). Kako bi se kontrolirala kvaliteta ribljeg ulja, koje je vrlo podložno hidrolitičkom i oksidativnom kvarenju, uspostavljeni su brojni standardi s promjenjivim prihvatljivim razinama (Ceriani i sur., 2008). Lipoliza i oksidacija ribljih ulja su rezultat velike autolitičke aktivnosti i visokog sadržaja PUFA u tkivu riba. Očekuje se da je ovaj postupak još osjetljiviji za nusproizvode od ribe. Zbog toga riblje ulje obično ima visok sadržaj SMK. U ovom su istraživanju rezultati SMK vrijednosti sirovih ulja bili niski, što potvrđuje da kratka razdoblja kuhanja tijekom proizvodnje ulja, čak i pri višim temperaturama, nisu uzrokovala značajnu hidrolizu. Samo je ulje jetre tune imalo SMK viši od 3%. Postupak rafinacije osigurao je dodatno smanjenje SMK za 3,7% u ulju otpada tune, 32% u ulju jetre tune, odnosno 47% u ulju otpada lubina i komarče. Od tri

istraživana ulja, dobivenih iz nusproizvoda uzgojnih vrsta, najniže vrijednosti SMK je imalo ulje otpada lubina i komarče, čak niže od kontrolnog ulja. Važno je da proizvedena ulja imaju niske vrijednosti SMK obzirom da one imaju utjecaj na organoleptička svojstva ulja, kao i na njegovu kvalitetu (Özyurt i sur., 2013), mogu djelovati kao prooksidansi koji pokreću mehanizam oksidacije (Vaisali i sur., 2015), a visoke vrijednosti SMK problematične su i tijekom ekstrakcije omega-3 (Bako i sur., 2017).

Oksidacijska stabilnost ribljih ulja tijekom faza rafinacije je praćena pomoću PB, *pAV*, TOTOX i TBARS. Unatoč povećanju vrijednosti PB za ispitivana ulja nakon koraka degumiranja, vrijednosti dobivene za rafinirana ulja bile su ispod prihvatljive granice što otvara mogućnost korištenja ovih ulja za prehranu ljudi. Sirova ulja su imala najviše vrijednosti *pAV* i TOTOX, najviše ulje otpada tune pa zatim ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe. Faze degumiranja, neutralizacije i izbjeljivanja uzrokovale su smanjenje *pAV* i TOTOX vrijednosti dok su se nakon koraka deodorizacije vrijednosti povisile. Najviša vrijednost *pAV* dobivena je za rafinirano ulje otpada tune (19,5), dok su TOTOX vrijednosti rafiniranih ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe bile više od onih dobivenih za sirovo ulje. To sugerira da korišteni apsorbenti (aktivni ugljen i Fullerova zemlja) imaju sposobnost apsorpcije primarnih i sekundarnih produkata oksidacije (Chakraborty & Joseph, 2015b). Iako su *pAV* vrijednosti dobivene za ulja u ovom istraživanju bile ispod prihvatljive granice, one su bile znatno više u usporedbi s kontrolnim uljem, što je dodatno utjecalo na višu TOTOX vrijednost. TOTOX vrijednosti dobivene za sirovo i rafinirano ulje otpada tune bilo je iznad već spomenute dopuštene granice za TOTOX (≤ 26) dok je sirovo i rafinirano ulje otpada uzgojne ribe bilo tek ispod granice. Drugi autori su primjenili isti proces rafinacije na ulju srdele i primjetili su značajnije smanjenje *pAV* i TOTOX vrijednosti nakon rafinacije (Chakraborty & Joseph, 2015b).

TBARS test je pokazao niske razine sekundarnih produkata oksidacije. Vrijednosti za ulja proizvedena od nusproizvoda su bile niže od vrijednosti dobivene za kontrolno ulje.

Rancimat testom dobiveni su rezultati oksidacijske stabilnosti i roka trajanja proizvedenog sirovog ulja otpada tune od 1,54 h pri 80 °C, 0,58 h pri 100 °C i 0,15 h pri 120 °C. Druga sirova ulja su imala niže vrijednosti (Slika 5.4.2.). Proces rafiniranja produžio je oksidacijsku stabilnost ulja u svim slučajevima, ali za razliku od sirovih ulja, rafinirano ulje jetre tune i ulje uzgojne ribe pokazalo je više IP vrijednosti od ulja otpada tune (produljenje od

36% na 80 °C, 35% na 100 °C i 52% na 120 °C). Otpornost ulja prema oksidaciji masti rezultat je razlika između sastava masnih kiselina ispitivanih ulja.

Iz Tablice 5.4.2. i Slike 5.4.2. vidljivo je da sirovo ulje otpada tune sadrži najviše ukupnih PUFA (37,65%), kao i EPA + DHA (30,85%). Nadalje, omjer $n-3/n-6$ u sirovom ulju otpada tune bio je više od 3,5 puta viši nego u sirovom ulju jetre tune i više od 9,5 puta viši u odnosu na sirovo ulje uzgojne ribe. Postupak rafinacije smanjio je ovaj omjer za pola u ulju otpada tune, neznatno smanjenje zabilježeno je za ulje uzgojne ribe, dok je viša vrijednost otkrivena u rafiniranom ulju jetre tune.

Iako je kontrolno ulje jetre bakalara pokazalo najveću stabilnost pri 80 °C, na višim temperaturama njegova stabilnost bila je niža od proizvedenih rafiniranih ulja (Tablica 5.2.1.). U kontrolnom ulju jetre bakalara otkriven je znatno veći sadržaj α -tokoferola. Ovaj je spoj dodan tijekom proizvodnje komercijalnog uzorka ulja kako bi se poboljšala njegova stabilnost, ali utvrđeno je da se α -tokoferol razgrađuje na višim temperaturama (Sabliov i sur., 2009) što je vjerojatno uzrokovalo niži IP za kontrolno ulje pri višim temperaturama.

Rezultati profila masnih kiselina u sirovim uljima i njihove promjene nakon rafinacije ulja prikazani su u Tablici 5.4.2., 5.4.3., 5.4.4. i na Slici 5.4.3. Palmitinska kiselina (C16:0) se pokazala kao najdominantnija SFA u svim uljima uzgojnih vrsta s oko 52 do 55% od ukupnih SFA. Njen sadržaj je bio značajno viši u uljima tune u odnosu na ulje otpada uzgojnih riba i kontrolno ulje. Palmitinska kiselina se prirodno pojavljuje u ribama, kao izvor energije za njihov rast. Oleinska kiselina (C18:1 $n-9$ cis) je bila dominantna među MUFA, s udjelima u proizvedenim uljima od približno 14% u uljima tune, do 40% u rafiniranom ulju otpada lubina i komarče. Između PUFA, u svim proizvedenim uljima uzgojne ribe pronađene su visoke koncentracije EPA (C20:5 $n-3$), pa čak i veće koncentracije DHA (C22:6 $n-3$). Očekivalo se da će se relativni sadržaj EPA i DHA povisiti tijekom postupka rafiniranja (Chakraborty & Joseph, 2015b; Song i sur., 2018), ali u ovom je istraživanju zabilježen minimalni porast nakon rafinacije i to samo za DHA u ulju jetre tune. Međutim, i u sirovim i u rafiniranim uljima otpada tune utvrđene su izuzetno visoke količine EPA i DHA. Dihomo- γ -linolna kiselina (DGLA) (20:3 $n-6$) je pronađena u većim količinama (7,32 – 9,89%) u uljima tune i kontrolnom ulju, posebno u ulju jetre tune, dok je u ulju otpada lubina i komarče njen prekursor, linolna kiselina (C18:2 $n-6$), pronađena u višim količinama nego u drugim uljima (17,32%). Eruka kiselina (22:1 $n-9$) je pronađena u malim količinama u proizvedenim uljima, a najveći udio od 1% je pronađen u kontrolnom ulju.

Sirova ulja otpada tune i jetre tune imala su znatno viši sadržaj ukupnih zasićenih masnih kiselina (32,7 i 35,6%) u odnosu na ulje otpada uzgojne ribe (23,6%). SFA profil ulja nije se statistički promijenio postupkom rafiniranja, a ulja tune imala su značajno viši sadržaj SFA od kontrolnog ulja. Sadržaj MUFA bio je najviši u ulju otpada uzgojne ribe (46%) i nije se mijenjao nakon postupka rafiniranja. Ulje otpada tune imalo je nešto viši sadržaj MUFA u odnosu na ulje jetre tune. Sadržaj PUFA je bio značajno viši u sirovim uljima otpada i jetre tune (37,7%, odnosno 35,2%), dok je u rafiniranim uljima porastao na 40,2%, odnosno 39,6%. Sadržaj omega-3 PUFA u proizvedenim uljima se kretao od 11,6 do 32,3% i bio je viši od sadržaja omega-6 PUFA za 8,9 - 18,7%. Visok postotak PUFA ukazuje na dobre hranjive vrijednosti proizvedenih ribljih ulja. Omjer PUFA/SFA bio je značajno viši u sirovim uljima, dok se u rafiniranim uljima kretao od 1,1 do 1,2 i bio znatno niži nego u kontrolnom ulju. Općenito je prihvaćeno da u usporedbi s divljom ulovljenom ribom proizvodi iz akvakulture imaju niže vrijednosti omega-3 PUFA i više vrijednosti linolne kiseline potekle od kopnenih biljaka zbog sastava riblje hrane kojom se hrane (Šimat i sur., 2015). Vrlo visok unos omega-6 prepoznat je kao nepoželjan i smanjuje hranjivu kvalitetu ribljeg ulja. Zbroj omega-6 bio je 18-19% veći u ulju otpada uzgojne ribe, koje je također imalo i najniže sume omega-3 i EPA + DHA.

U ulju otpada tune, postupak rafiniranja rezultirao je smanjenim udjelom MUFA i povećanjem PUFA. To povećanje, kao i sadržaj antioksidativnih spojeva poput α -tokoferola (Slika 5.4.1.), može pridonijeti oksidacijskoj stabilnosti ulja. Sirova ulja otpada uzgojnih vrsta sadržavala su visok udio α -tokoferola koji je značajno smanjen postupkom rafiniranja u svim uljima (31–45%). Istodobno, oksidacijska stabilnost produljena je postupkom rafiniranja, pa se čini da je uloga tokoferola u oksidacijskoj stabilnosti manja od uklonjenih nečistoća koje djeluju kao prooksidansi (Cameron-Smith i sur., 2015). To je potvrđeno na kontrolnom ulju koje je imalo preko 140 mg tokoferola/kg (podaci iz deklaracijskog lista ukazuju na sadržaj 1190 međunarodnih jedinica (IU) vitamina E po gramu), međutim taj sadržaj nije produljio njegovu oksidacijsku stabilnost pri povišenim temperaturama. Sadržaj tokoferola u uljima proizvednim iz nusproizvoda uzgojnih vrsta riba viši je u odnosu na ulja iz divlje ribe i njihovih nusproizvoda. Na primjer, sirovo ulje otpada srdele imalo je približno 30 mg tokoferola/kg. Sugerira se da prehrambeni sastojci riblje hrane, poput vitamina E, ne utječu značajnije na količinu masti, fosfolipida i polinezasićenih masnih kiselina, već štite od stvaranja peroksida i hidrolize fosfolipida (Šimat i sur., 2015).

Sastav i relativni sadržaj hlapivih spojeva sirovih, izbjeljenih i deodoriziranih ulja otpada tune, jetre tune i otpada lubina i komarče prikazani su u Tablici 5.4.5. Identificirano je

petnaest hlapljivih spojeva (jedan ester, šest aldehida, pet alkohola i tri ugljikovodika). U ulju otpada tune najdominantnija je bila smjesa 2,4-heptadienala (od omega-3 masnih kiselina) i pentadekana, zatim (E,E)-2,4-dekadienal, dodekan i 4-metilpenten-2-ol. Primijenjena GC-FID metoda nije osigurala odgovarajuće razdvajanje 2,4-heptadienala i pentadekana, a njihova koncentracija izračunata je pomoću kalibracijske krivulje dobivene za 2,4-heptadienal, jer se smatra važnijim u ribljem ulju, međutim točna količina 2,4-heptadienala u ukupnom zbroju nije poznata. Uzimajući u obzir da su drugi hlapljivi spojevi poput (E,Z)-2,6-nonadienala i (E,E)-2,4-dekadienala (sekundarni produkti oksidacije masti) pronađeni u niskim koncentracijama, niske TBARS vrijednosti (Tablica 5.4.1.) i prethodna istraživanja koja sugeriraju pentadekan kao dominantnu komponentu u uzorcima ribljeg ulja (Chung i sur., 2011; Jónsdóttir i sur., 2005), možemo pretpostaviti da je pentadekan dominantan spoj i u ovoj smjesi. Slično je primijećeno i kod ulja jetre tune, s iznimkom visokih razina 1-penten-3-ola. Sadržaj 1-penten-3-ola značajno je smanjen u svim proizvedenim sirovim i rafiniranim uljima, a rezultati su se kretali od 0,01 do 1,03 mg/kg. U ulju otpada uzgojne ribe utvrđeno je da su aldehidi, (E,E)-2,4-dekadienal i 2,4-nonadienal bili više zastupljeni nego u ulju otpada tune, a razine 2,4-heptadienala + pentadekana bile su znatno niže. Količina 2,4-dekadienala (od omega-6 masnih kiselina) povisila se nakon destilacije, posebno u ulju otpada uzgojne ribe. Vrijednosti dva masna aldehida, 2,4-heptadienala i 2,4-dekadienala od velike su važnosti zbog njihovog doprinosa karakterističnom neugodnom mirisu ulja (Chakraborty & Joseph, 2015b; Roh i sur., 2006). Sastav i udio hlapljivih spojeva značajno su se promijenili tijekom postupka rafiniranja i samo je u ulju otpada tune tijekom rafiniranja smanjena ukupna suma hlapljivih spojeva. Kako bi se uklonili nepoželjni mirisni spojevi korak deodorizacije obično se provodi uobičajenom parnom destilacijom na temperaturama ispod 200 °C. Predloženi postupak ne utječe jednako na sve hlapljive komponente. Na djelotvornost ovog postupka utječu primijenjeni tlak i hlapljivost komponenata na visokoj temperaturi. U ovoj je fazi također važno inhibirati razgradnju bitnih komponenata ciklizacijom i polimerizacijom dugolančanih PUFA (Vaisali i sur., 2015).

Song i sur. (2018) su istraživali promjene profila hlapljivih spojeva ribljeg ulja proizvedenog od nusproizvoda tune i inćuna tijekom kemijske rafinacije. Identificirali su 63 hlapljiva spoja, a heksanal, nonanal, undekanal, 2-nonanon i 2-undekanon su bili ključne hlapljive komponente proizvedenih ulja. Istraživanje je pokazalo da se spojevi koji su najodgovorniji za nepovoljan miris ribljeg ulja mogu učinkovito ukloniti postupkom rafinacije što izravno poboljšava i kvalitetu ulja. de Oliveira i sur. (2016) su proučavali učinke kemijske rafinacije i deodorizacije na profile masnih kiselina i senzorske karakteristike ulja nusproizvoda

tune (*Thunnus albacares*) dobivenog enzimatskom hidrolizom. Ulje je proizvedeno od glava tune i bilo je bogato PUFA. Pronašli su veći sadržaj MUFA u rafiniranom ulju (36,78%) i niži sadržaj PUFA (33,18%) u usporedbi s ovim istraživanjem te su preporučili uvjete deodorizacije pri 160 ili 200 °C tijekom 1 sata za proizvodnju ulja bogatih PUFA.

7. ZAKLJUČCI

Postupkom kuhanja i prešanja uspješno su proizvedena sirova ulja iz nusproizvoda gospodarski važnih vrsta Jadrana, uzgojne plavoperajne tune (*T. thynnus*), lubina (*D. labrax*) i komarče (*S. aurata*) i srdele (*S. pilchardus*).

Određen je kemijski sastav sirovine koja je korištena za proizvodnju ulja, tj. nusproizvoda tune, lubina, komarče i srdele te cijele srdele. Najveći udio masti i najmanji udio vlage i bjelančevina su zabilježeni za otpad i jetre tune. Otpad i jetre tune imali su i najviši prinos ulja. Ostala sirovina je imala prinos ulja niži od 10%.

Također, određena je i kvaliteta sirovih ulja, analizom parametara kakvoće, kako bi utvrdili pogodnost nusproizvoda nastalih tijekom izlova uzgojne plavoperajne tune, filetiranja lubina i komarče te prerade srdele za proizvodnju sirovih ribljih ulja pogodnih za daljnju rafinaciju. Proizvedena ulja su uspoređena s rafiniranim komercijalno dostupnim uljem jetre bakalara. U usporedbi s kontrolnim uljem jetre bakalara, ulje cijele i otpada srdele imalo je niže vrijednosti slobodnih masnih kiselina, sva ulja imala su niže vrijednosti PB, pAV i TOTOX, dok je nižu TBARS vrijednost imalo samo ulje cijele srdele. Kontrolno ulje imalo je značajno kraće induksijske periode od ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe pri 80 °C, te dulje induksijske periode od ulja otpada tune, otpada srdele i cijele srdele. Isti odnosi zabilježeni su i pri temperaturi od 100 °C, samo s kraćim induksijskim periodima.

Prema određenom sastavu masnih kiselina, najveću vrijednost SFA imala su ulja cijele srdele i otpada srdele, dok je najnižu vrijednost imalo ulje otpada uzgojne ribe. Najveću vrijednost MUFA imalo je ulje otpada uzgojne ribe, dok su najniže vrijednosti ukupnih MUFA imala ulja otpada srdele i cijele srdele. Prilikom usporedbe ukupnih PUFA između sirovih ulja, nije dobivena statistički značajna razlika, osim za ulje otpada uzgojne ribe koje je imalo nižu vrijednost. Zbroj EPA i DHA u uljima otpada tune, otpada srdele i cijele srdele bio je veći od 30%. Najveći PI imalo je kontrolno ulje dok je najmanji PI imalo ulje otpada uzgojne ribe. Najveće AI su imala ulja srdele, dok je ulje otpada uzgojne ribe imalo skoro četiri puta manji AI. Značajnije varijacije u vrijednosti TI nisu zabilježene, ali kontrolno ulje izdvaja se s najnižim te ulje jetre tune s najvišim TI.

Sirova ulja proizvedena od nusproizvoda uzgojne tune, lubina i komarče te nusproizvoda divlje srdele pokazala su kvalitetna svojstva, a svi izmjereni parametri bili su unutar standardnih vrijednosti za riblje ulje. Ta bi se ulja mogla koristiti kao dobar izvor *n-3*

PUFA. Pokazalo se da ulja nusproizvoda od ribe imaju zanimljive karakteristike koje se mogu usporediti s komercijalnim ribljim uljima.

Uspoređena su ulja dobivena od otpada srdele i cijele srdele te je proveden i usavršen kemijski proces rafinacije. Postupkom rafinacije smanjeni su udio SMK, vrijednosti PB, pAV i TOTOX za oba ulja. TBARS vrijednost ulja cijele srdele je porasla tijekom rafinacije, međutim, vrijednosti deodoriziranog ulja cijele srdele i otpada srdele se značajno nisu razlikovale iako je sirovo ulje otpada srdele imalo više nego dvostruko veću vrijednost. Rafinirano ulje otpada srdele je imalo bolju oksidativnu stabilnost od rafiniranog ulja cijele srdele pri 80 i 120 °C, dok su pri temperaturi od 100 °C imali slične vrijednosti. Postupak rafinacije povećao je oksidativnu stabilnost za oba ulja pri svim temperaturama. Postupkom rafinacije su se za oba ulja povećale vrijednosti ukupnih PUFA te suma EPA i DHA, dok su se ukupne SFA smanjile, a za ukupne MUFA nije bilo značajnije promjene.

Sastav i udio hlapivih komponenti se značajno mijenjao tijekom postupka rafinacije. Najdominantnija hlapiva komponenta u uljima srdele je bila smjesa 2,4-heptadienala i pentadekana.

Uspoređena su i ulja dobivena od otpada i jetre tune i otpada lubina i komarče te je proveden kemijski proces rafinacije. Nakon postupka rafinacije, smanjio se udio SMK i vrijednosti pAV u svim uljima dobivenim iz nusproizvoda uzgojnih vrsta. Vrijednosti PB su značajno porasle tijekom rafinacije ulja tune, dok su se za ulje otpada uzgojne ribe snizile. Međutim, nakon postupka rafinacije vrijednosti PB ulja jetre tune i ulja otpada uzgojne ribe nisu se značajno razlikovale. Najnižu TOTOX vrijednost nakon rafinacije je imalo ulje otpada uzgojne ribe. Najnižu TBARS vrijednost je imalo rafinirano ulje otpada tune.

Postupkom rafinacije povećala se oksidativna stabilnost za ulja dobivena od otpada i jetre tune i otpada lubina i komarče pri sve tri temperature. Najveću stabilnost imala su rafinirana ulja jetre tune i otpada uzgojne ribe pri 80 °C. U usporedbi ulja tune, stabilnije je bilo rafinirano ulje jetre tune od rafiniranog ulja otpada tune.

Ukupne SFA su se snizile postupkom rafinacije, osim za ulje otpada tune. Ukupne MUFA su se snizile kod ulja tune nakon postupka rafinacije, dok su se u ulju otpada uzgojne ribe neznatno povisile. Ukupne PUFA su se povisile nakon postupka rafinacije kod ulja tune dok su se u ulju otpada uzgojne ribe neznatno snizile. Rafinirana ulja tune su imala značajno višu sumu EPA i DHA i $n-3$ od ulja otpada uzgojne ribe.

Moguće je proizvesti prikladna ulja od nusproizvoda riba koja mogu naći primjenu u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. Korištenje nusproizvoda ima ekonomske

koristi za proizvođače u smislu upravljanja i dodavanja vrijednosti nusproizvodima. Ulja su nakon rafinacije zadržala svoju hranjivu vrijednost, tj. sadržaj PUFA i omjer omega-6/omega-3. Postupci neutralizacije i izbjeljivanja bili su učinkoviti u smanjenju nečistoća u uljima, što je rezultiralo smanjenim vrijednostima SMK, PB, *p*AV, TOTOX i TBARS, kao i poboljšanjem oksidacijske stabilnosti ulja. Hlapivi spojevi odgovorni za osjetni profil ulja nastali su i uklonjeni su iz ulja tijekom različitih koraka rafinacije.

Rezultati ovog istraživanja pridonose održivom korištenju morskih resursa, koristeći alternativne izvore sirovina za proizvodnju ribljeg ulja. Proizvodnja ulja iz nusproizvoda ribarske industrije može ponuditi rješenje koje će poboljšati gospodarenje otpadom i ekološki aspekt prerade ribe te dodati vrijednost „otpadu“.

8. LITERATURA

- Ahmed, R., Haq, M., Cho, Y.-J., & Chun, B.-S. (2017). Quality evaluation of oil recovered from by-products of bigeye tuna using supercritical carbon dioxide extraction. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *17*, 663–672. <https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17>
- Aidos, I., Van der Padt, A., Boom, R. M., & Luten, J. B. (2001). Upgrading of maatjes herring byproducts: Production of crude fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(8), 3697–3704. <https://doi.org/10.1021/jf001513s>
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, *127*(1), 183–198. <https://doi.org/10.1039/b009171p>
- AOAC. (2000). *Official method of analysis of the association of Chemistry (17th ed.)*. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, SAD.
- AOCS. (1994). *The official methods and recommended practices of the American oil chemists' society*. The American Oil Chemists' Society. Champaign, SAD.
- Bako, T., Umogbai, V. I., & Awulu, J. O. (2017). Criteria for the extraction of fish oil. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, *19*(3), 120–132.
- Bimbo, A. P. (1998). International Fishmeal & Oil Manufacturers Association. *Inform*, *9*(5), 473–483.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, *37*(8), 911–917.
- Bogdanović, T., Šimat, V., Frka-Roić, A., & Marković, K. (2012). Development and application of quality index method scheme in a shelf-life study of wild and fish farm affected bogue (*Boops boops*, L.). *Journal of Food Science*, *77*(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02545.x>
- Boran, G., Karaçam, H., & Boran, M. (2006). Changes in the quality of fish oils due to storage temperature and time. *Food Chemistry*, *98*(4), 693–698. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.041>
- Cameron-Smith, D., Albert, B. B., & Cutfield, W. S. (2015). Fishing for answers: is oxidation of fish oil supplements a problem? *Journal of Nutritional Science*, *4*, e36. <https://doi.org/10.1017/jns.2015.26>
- Ceriani, R., Paiva, F. R., Gonçalves, C. B., Batista, E. A. C., & Meirelles, A. J. A. (2008). Densities and viscosities of vegetable oils of nutritional value. *Journal of Chemical & Engineering Data*, *53*(8), 1846–1853. <https://doi.org/10.1021/jc800177e>
- Chakraborty, K., & Joseph, D. (2015a). Cooking and pressing is an effective and eco-friendly technique for obtaining high quality oil from *Sardinella longiceps*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*(6), 837–850. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400539>
- Chakraborty, K., & Joseph, D. (2015b). Production and characterization of refined oils obtained

- from indian oil sardine (*Sardinella longiceps*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(3), 998–1009. <https://doi.org/10.1021/jf505127e>
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x>
- Chung, H., Choi, A., Cho, I. H., & Kim, Y.-S. (2011). Changes in fatty acids and volatile components in mackerel by broiling. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(12), 1481–1490. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000510>
- Codex Alimentarius Commission. (2013). *Proposed draft standard for fish oils*. CCFO23 CRD 21.
- Codex Alimentarius Commission. (2017). *Standards for fish oils*. CXS 329-2017.
- Crexi, V. T., Monte, M. L., Soares, L. A. de S., & Pinto, L. A. A. (2010). Production and refinement of oil from carp (*Cyprinus carpio*) viscera. *Food Chemistry*, 119(3), 945–950. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.050>
- de Oliveira, D. A. S. B., Minozzo, M. G., Licodiedoff, S., & Waszczyński, N. (2016). Physicochemical and sensory characterization of refined and deodorized tuna (*Thunnus albacares*) by-product oil obtained by enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 207, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.069>
- Deepika, D., Vegneshwaran, V., Julia, P., Sukhinder, K., Sheila, T., Heather, M., & Wade, M. (2014). Investigation on oil extraction methods and its influence on omega-3 content from cultured salmon. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(12). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000401>
- DZS. (2020). *RIBARSTVO U 2019*. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. Zagreb
- EPA. (2020). *Food Recovery Hierarchy*. The United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C. <http://www.epa.gov/foodrecoverychallenge>, (pristupljeno siječanj, 2022)
- Fang, Y., Liu, S., Hu, W., Zhang, J., Ding, Y., & Liu, J. (2019). Extraction of oil from high-moisture tuna livers by subcritical dimethyl ether: a comparison with different extraction methods. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(2), 1–12. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800087>
- FAO. (2010). *Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation*. Rim, Italija
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*. Rim, Italija. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- FAO. (2021). GLOBEFISH Highlights, 4th Issue 2020, with January–June 2020 Statistics – A quarterly update on world seafood markets. In *GLOBEFISH Highlights (Issue 4th Issue 2020, with January–June 2020 Statistics)*. Rim, Italija.
- Ferdosh, S., Sarker, Z. I., Norulaini, N., Oliveira, A., Yunus, K., Chowdury, A. J., Akanda, J., & Omar, M. (2015). Quality of tuna fish oils extracted from processing the by-products of three species of neritic tuna using supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Processing*

- and Preservation*, 39(4), 432–441. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12248>
- Ferraro, V., Carvalho, A. P., Piccirillo, C., Santos, M. M., L. Castro, P. M., & E. Pintado, M. (2013). Extraction of high added value biological compounds from sardine, sardine-type fish and mackerel canning residues - A review. *Materials Science and Engineering: C*, 33(6), 3111–3120. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.003>
- Franklin, E. C., Haq, M., Roy, V. C., Park, J. S., & Chun, B. S. (2020). Supercritical CO₂ extraction and quality comparison of lipids from Yellowtail fish (*Seriola quinqueradiata*) waste in different conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14892>
- Ganga, A., Nieto, S., Sanhuez, J., Romo, C., Speisky, H., & Valenzuela, A. (1998). Concentration and stabilization of *n*-3 polyunsaturated fatty acids from sardine oil. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 733–736. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0215-4>
- García-Moreno, P. J., Pérez-Gálvez, R., Morales-Medina, R., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2013). Discarded species in the west Mediterranean sea as sources of omega-3 PUFA. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(9), 982–989. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300021>
- García-Moreno, P. J., Morales-Medina, R., Pérez-Gálvez, R., Bandarra, N. M., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2014). Optimisation of oil extraction from sardine (*Sardina pilchardus*) by hydraulic pressing. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(10), 2167–2175. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12527>
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), 859–877. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2010.859.877>
- Giogios, I., Grigorakis, K., Nengas, I., Papisolomontos, S., Papaioannou, N., & Alexis, M. N. (2009). Fatty acid composition and volatile compounds of selected marine oils and meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1), 88–100. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3414>
- Grigorakis, K., Alexis, M. N., Taylor, K. D. A., & Hole, M. (2002). Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(5), 477–484. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00604.x>
- Gunstone, F. D., Harwood, J. L., & Harwood, J. L. (2007). *The Lipid Handbook with CD-ROM*. CRC Press. Boca Raton, SAD. <https://doi.org/10.1201/9781420009675>
- Haq, M., Ahmed, R., Cho, Y. J., & Chun, B. S. (2017). Quality properties and bio-potentiality of edible oils from atlantic salmon by-products extracted by supercritical carbon dioxide and conventional methods. *Waste and Biomass Valorization*, 8(6), 1953–1967. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9710-2>
- Hettiarachchi, S. A., Radampola, K., & Cyril, H. W. (2015). Proximate composition and calcium content of *Thunnus obesus* (big eye tuna) processing wastes. *2nd International Conference on Fisheries and Aquaculture 2015*.

- Holm, U. (1972). Abstracts. *International Society for Fat Research Congress*. Göteborg, Sweden.
- Honold, P. J., Nouard, M. L., & Jacobsen, C. (2016a). Fish oil extracted from fish-fillet by-products is weakly linked to the extraction temperatures but strongly linked to the omega-3 content of the raw material. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *118*(6), 874–884. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500343>
- Honold, P. J., Nouard, M. L., & Jacobsen, C. (2016b). Oxidative stability during storage of fish oil from filleting by-products of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is largely independent of the processing and production temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *118*(6), 967–973. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500344>
- Huang, J., & Sathivel, S. (2010). Purifying salmon oil using adsorption, neutralization, and a combined neutralization and adsorption process. *Journal of Food Engineering*, *96*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.042>
- ISO 2966-2:2017. (2017). *Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje metilnih estera masnih kiselina plinskom kromatografijom - 2. dio: Priprava metilnih estera masnih kiselina*.
- Jayathilakan, K., Sultana, K., Radhakrishna, K., & Bawa, A. S. (2012). Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(3), 278–293. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0290-7>
- Jónsdóttir, R., Bragadóttir, M., & Arnarson, G. (2005). Oxidatively derived volatile compounds in microencapsulated fish oil monitored by solid-phase microextraction (SPME). *Journal of Food Science*, *70*(7), c433–c440. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11465.x>
- Kara, K., Ouanji, F., Lotfi, E. M., Mahi, M. El, Kacimi, M., & Ziyad, M. (2018). Biodiesel production from waste fish oil with high free fatty acid content from Moroccan fish-processing industries. *Egyptian Journal of Petroleum*, *27*(2), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2017.07.010>
- Karadeniz, F., & Kim, S.-K. (2014). Trends in the use of seafood processing by-products in Europe. In *Seafood processing by-products* (pp. 11–20). Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2181-5_16
- Ke, P. J., & Woyewoda, A. D. (1979). Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytica Chimica Acta*, *106*(2), 279–284. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)85011-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)85011-X)
- Khawli, F. Al, Pateiro, M., Domínguez, R., Lorenzo, J. M., Gullón, P., Kousoulaki, K., Ferrer, E., Berrada, H., & Barba, F. J. (2019). Innovative green technologies of intensification for valorization of seafood and their by-products. *Marine Drugs*, *17*(12), 1–20. <https://doi.org/10.3390/md17120689>
- Khoddami, A., Ariffin, A. A., Bakar, J., & Ghazali, H. M. (2009). Fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Sardinella lemuru*). *World Applied Sciences Journal*, *7*(1), 127–131.
- Khoddami, A., Ariffin, A. A., Bakar, J., & Ghazali, H. M. (2012). Quality and fatty acid profile

- of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). *African Journal of Biotechnology*, 11(7), 1683–1689. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1699>
- Kim, S. K. (2013). *Seafood Processing By-Products: Trends and Applications*. Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9590-1>
- Lange, K. W. (2020a). Lipids in the treatment of neurodegenerative diseases. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 1–17. <https://doi.org/10.1002/047167849x.bio118>
- Lange, K. W. (2020b). Omega-3 fatty acids and mental health. *Global Health Journal*, 4(1), 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.glohj.2020.01.004>
- Larsson, S. C., Kumlin, M., Ingelman-Sundberg, M., & Wolk, A. (2004). Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: A review of potential mechanisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(6), 935–945. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.6.935>
- Lenas, D., Chatziantoniou, S., Nathanailides, C., & Triantafyllou, D. (2011). Comparison of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) lipid quality. *Procedia Food Science*, 1, 1139–1145. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.170>
- Lopes da Silva, T., Santos, A. R., Gomes, R., & Reis, A. (2018). Valorizing fish canning industry by-products to produce ω -3 compounds and biodiesel. *Environmental Technology and Innovation*, 9, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2017.11.002>
- Lubis, Z., & Buckle, K. A. (1990). Rancidity and lipid oxidation of dried-salted sardines. *International Journal of Food Science & Technology*, 25(3), 295–303. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01085.x>
- Marti-Quijal, F. J., Remize, F., Meca, G., Ferrer, E., Ruiz, M. J., & Barba, F. J. (2020). Fermentation in fish and by-products processing: an overview of current research and future prospects. *Current Opinion in Food Science*, 31, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.08.001>
- Menegazzo, M. L., Petenuci, M. E., & Fonseca, G. G. (2014). Production and characterization of crude and refined oils obtained from the co-products of Nile tilapia and hybrid sorubim processing. *Food Chemistry*, 157, 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.121>
- Moffat, C. F., Mcgiu, A. S., Hardy, R., & Anderson, R. S. (1993). The Production of Fish Oils Enriched in Polyunsaturated Fatty Acid-Containing Triglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(2), 133–138.
- Morais, M., Pinto, L., Ortiz, S., Crexi, V., Silva, R., & Silva, J. (2001). Study of fish oil refining process. *Revista Instituto Adolf Lutz*, 60(1), 23–33.
- Moretto, E., & Fett, R. (1998). *Technology of vegetable oils and fats in the food industry*. Varela, Sao Paulo, Brazil.
- Nazir, N., Diana, A., & Sayuti, K. (2017). Physicochemical and fatty acid profile of fish oil from head of tuna (*Thunnus albacares*) extracted from various extraction method. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 7(2), 709–715. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.7.2.2339>
- Özyurt, G., Şimşek, A., Etyemez, M., & Polat, A. (2013). Fatty acid composition and oxidative

- stability of fish oil products in turkish retail market. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(3), 322–329. <https://doi.org/10.1080/10498850.2011.644882>
- Ozyurt, G., Ozk, A. S., & Durmus, M. (2017). Fatty acid composition and oxidative stability of oils recovered from acid silage and bacterial fermentation of fish (Sea bass – *Dicentrarchus labrax*) by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 1–7. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13705>
- Özyurt, G., Özkütük, A. S., Uçar, Y., Durmuş, M., & Ozogul, Y. (2019). Evaluation of the potential use of discard species for fish silage and assessment of its oils for human consumption. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1081–1088. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13954>
- Riediger, N. D., Othman, R. A., Suh, M., & Moghadasian, M. H. (2009). A Systemic Review of the Roles of n-3 Fatty Acids in Health and Disease. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(4), 668–679. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2008.12.022>
- Rizliya, V., & Mendis, E. (2014). Biological, physical, and chemical properties of fish oil and industrial applications. U *Seafood Processing By-Products: Trends and Applications* (Vol. 9781461495, pp. 286–310). <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9590-1>
- Roh, H.-S., Park, J.-Y., Park, S.-Y., & Chun, B.-S. (2006). Isolation of off-flavors and odors from tuna fish oil using supercritical carbon dioxide. *Biotechnology and Bioprocess Engineering Volume, 11*, 496–502. <https://doi.org/10.1007/BF02932073>
- Rubio-Rodríguez, N., De Diego, S. M., Beltrán, S., Jaime, I., Sanz, M. T., & Rovira, J. (2012). Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. *Journal of Food Engineering*, 109(2), 238–248. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.011>
- Rustad, T., Storrø, I., & Slizyte, R. (2011). Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(10), 2001–2014. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x>
- Sabliov, C. M., Fronczek, C., Astete, C. E., Khachatryan, M., Khachatryan, L., & Leonardi, C. (2009). Effects of temperature and UV light on degradation of α -tocopherol in free and dissolved form. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(9), 895–902. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1411-6>
- Sadasivam, S., & Manickam, A. (2008). *Biochemical Methods*. New Age International Publishers.
- Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. N. A., Jinap, S., Jahurul, M. H. A., & Omar, M. A. K. (2014). Storage stability and quality of polyunsaturated fatty acid rich oil fraction from Longtail tuna (*Thunnus tonggol*) head using supercritical extraction. *CYTA - Journal of Food*, 12(2), 183–188. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.811296>
- Semb, T. (2012). *Analytical Methods for Determination of the Oxidative Status in Oils*. Norwegian University of Science and Technology.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9, 16–17. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317->

- Shahidi, F., & Wanasundara, U. N. (2002). *Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils*. U: Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Akoh, C.C. & Min, D.B. (Ur.), Marcel Dekker Inc., New York, 465-505. <https://doi.org/10.1201/9780203908815.ch14>
- Šimat, V. (2021). Valorization of Seafood Processing By-Products. U: R. Bhat (Ed.), *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products: Recent Trends, Innovations and Sustainability Challenges* (pp. 515–536). Elsevier Inc.
- Šimat, V., Bogdanović, T., Krželj, M., Soldo, A., & Maršić-Lučić, J. (2012). Differences in chemical, physical and sensory properties during shelf life assessment of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 28(1), 95–101. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01883.x>
- Šimat, V., Bogdanović, T., Poljak, V., & Petričević, S. (2015). Changes in fatty acid composition, atherogenic and thrombogenic health lipid indices and lipid stability of bogue (*Boops boops* Linnaeus, 1758) during storage on ice: effect of fish farming activities. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.026>
- Šimat, V., Ficović, M., Čagalj, M., Skroza, D., Ljubenkov, I., & Generalić Mekinić, I. (2017). Preventive effect of herb extracts on lipid oxidation in fish oil. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 12(1–2), 30–36.
- Simopoulos, A. P. (2009). Evolutionary Aspects of the Dietary Omega-6:Omega-3 Fatty Acid Ratio: Medical Implications. U: *A Balanced Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio, Cholesterol and Coronary Heart Disease* (pp. 1–21). Karger. <https://doi.org/10.1159/000235706>
- Soldo, B., Šimat, V., Vlahović, J., Skroza, D., Ljubenkov, I., & Generalić Mekinić, I. (2019). High quality oil extracted from sardine by-products as an alternative to whole sardines: production and refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(7), 1–10. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800513>
- Song, G., Dai, Z., Shen, Q., Peng, X., & Zhang, M. (2018). Analysis of the changes in volatile compound and fatty acid profiles of fish oil in chemical refining process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(2), 1700219. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700219>
- Stevens, J. R., Newton, R. W., Tlustý, M., & Little, D. C. (2018). The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. *Marine Policy*, 90, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.12.027>
- Swanson, D., Block, R., & Mousa, S. A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Advances in Nutrition*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.3945/an.111.000893>
- Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1–4), 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338(8773), 985–992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M)

Vaisali, C., Charanyaa, S., Belur, P. D., & Regupathi, I. (2015). Refining of edible oils: a critical appraisal of current and potential technologies. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(1), 13–23. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12657>

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 12. srpnja 1982. godine u Splitu. Osnovnu školu završila sam u Postirima na Braču gdje i danas živim. Srednju školu Opću gimnaziju završila u Supetru na Braču. Diplomski studij Morsko ribarstvo upisala sam u Splitu 2001. Diplomirala sam 2006. godine. Odmah nakon završetka diplomskog studija kao stipendista Sardine d.o.o. započela sam raditi u Sardini d.o.o gdje radim i danas. Moje radno iskustvo započelo je na uzgajalištu lubina i komarče u uvali Maslinova u Milni na Braču gdje sam obavljala posao tehnologa u uzgoju i na tom radnom mjestu sam radila do listopada 2012. Aktivnosti koje sam obavljala kao tehnolog uzgoja lubina i komarče bile su organizacija i planiranje ishrane riba od mlađi do konzuma, nabava riblje hrane, priprema i organizacija planova prodaje ribe obzirom na količinu i prirast ribe, procjena i planiranje gubitaka ribe uslijed mortaliteta ili bijega ribe. U suradnji s veterinarskom službom provodila sam terapijska liječenja na ribama i prepoznavanje simptoma bolesti. U listopadu 2012. prelazim u pogon proizvodnje u Postirima na Braču. U pogonu proizvodnje obavljala sam funkciju voditelja kontrole kvalitete od 2012. do kraja 2018. godine. Bila zadužena za uvođenje i implementaciju HACCP, ISO 9001, IFS (*engl.* International food standard), BRC (*engl.* British retail consortium standard), Halal i Kosher standarda kvalitete, kontolu procesa i kritičnih kontrolnih točaka u proizvodnji, organizaciju i planiranje kontrole proizvoda, praćenje važeće legislative i osiguravanje sljedivosti proizvoda. Tijekom 2014. godine upisala sam poslijediplomski sveučilišni studij Primjenjenih znanosti o moru. Od siječnja 2019. godine do sada obavljam funkciju direktora proizvodnje. Odgovornosti koje sada imam su upravljanje svim proizvodnim pogonima. Osiguravanje radne snage i sredstava za rad tehnoloških linija, rukovođenje radnicima i organizacija rada pogona proizvodnje.

10. POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

- Radovi objavljeni u časopisima indeksiranim u WOS-u (A1):

Šimat Vida, **Jelena Vlahović***, Barbara Soldo, Danijela Skroza, Ivica Ljubenković, and Ivana Generalić Mekinić. 2019. Production and refinement of omega-3 rich oils from processing by-products of farmed fish species, *Foods* 8, 4: 125. <https://doi.org/10.3390/foods8040125>

Soldo Barbara, Šimat Vida, **Vlahović Jelena**, Skroza Danijela, Ljubenković Ivica, Generalić Mekinić Ivana. 2019. High quality oil extracted from sardine by-products as an alternative to whole sardines: production and refining. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121 (7): 1800513. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800513>

Šimat Vida, **Vlahović Jelena**, Soldo Barbara, Generalić Mekinić Ivana, Čagalj Martina, Hamed Imen, Skroza Danijela. 2020. Production and characterization of crude oils from seafood processing by-products. *Food Bioscience*, 33: 100484. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100484>

- Sažetci sa skupova:

Skroza, Danijela; Čagalj, Martina; **Vlahović, Jelena**; Generalić Mekinić, Ivana; Ljubenković, Ivica; Šimat, Vida Changes of fatty acid profile and nutritive value of cod oil during cooking // 6th Food Safety Congress Istanbul, Turska, 2018. str. 127-127 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, ostalo)

Šimat, Vida; Čagalj, Martina; **Vlahović, Jelena**; Skroza, Danijela; Ljubenković, Ivica; Generalić Mekinić, Ivana Changes in oxidation stability of fish oil during thermic treatment and storage under poor conditions // 46th WEFTA Conference Zagreb, 2016. str. 145-145 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

- Radovi u zbornicima skupova

Šimat, Vida; Čagalj, Martina; **Vlahović, Jelena**; Skroza, Danijela; Ljubenković, Ivica; Generalić Mekinić, Ivana Changes in oxidation stability of fish oil during thermic treatment and storage under poor conditions // Proceedings of the 46th WEFTA CONFERENCE "From Local Fish to Global DISH" / Vidaček, Sanja (ur.). Zagreb: Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Croatia, 2016. str. 28-32 (međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)