

# Proizvodnja hladno prešanog konopljinog ulja i otpornost istoimenih genotipova konoplje (*Cannabis sativa* L.) na neutralni i bazični solni stres

---

Spajić, Laura

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:653151>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-04**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Laura Spajić

PROIZVODNJA HLADNO PREŠANOG KONOPLJINOG ULJA I  
OTPORNOST ISTOIMENIH GENOTIPOVA KONOPLJE (*Cannabis sativa*  
L.) NA NEUTRALNI I BAZIČNI SOLNI STRES

DIPLOMSKI RAD

Osijek, studeni, 2023.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za prehrambene tehnologije  
Katedra za prehrambeno inženjerstvo  
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

### Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Nastavni predmet:** Tehnologija ulja i masti

**Tema rada** je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno- tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 17.7.2023. godine.

**Mentor:** prof. dr. sc. *Tihomir Moslavac*

**Komentor:** izv. prof. dr. sc. *Tihana Marček*

### Proizvodnja hladno prešanog konopljinog ulja i otpornost istoimenih genotipova konoplje (*Cannabis sativa* L.) na neutralni i bazični solni stres

Laura Spajić, 0113145446

**Sažetak:** U ovom diplomskom radu istražen je utjecaj procesnih parametara na iskorištenje hladno prešanog konopljinog ulja. Prešanje sjemenki konoplje dva genotipa konoplje *Santhica 70* i *Futura 83* obavljeno je korištenjem laboratorijske kontinuirane pužne preše. Tijekom proizvodnje ulja mijenjani su različiti procesni parametri: veličina otvora glave preše, temperatura glave preše i frekvencija elektromotora, dok je dubina navoja pužnice konstantna. U ulju analizirani su osnovni parametri kvalitete, uključujući peroksidni broj, slobodne masne kiseline, sadržaj vlage i udio netopljivih nečistoća. Rezultati analize pokazuju da je najviše iskorištenje ulja bilo pri najvišoj korištenoj temperaturi glave preše (110°C), najnižoj frekvenciji elektromotora (25 Hz) i najmanjem otvoru glave preše (10 mm). U nastavku istraživanja bio je istraživana učinkovitost neutralnog i alkalnog solnog stresa na klijanje i rast konoplje u dva neovisna eksperimenta. U prvom postavu izlaganje sjemena neutralnim (NaCl i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i bazičnim (NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) solima pri istoj koncentraciji (100 mM), reduciralo je klijavost i rast korijena u oba genotipa. Od svih primijenjenih soli, najjači inhibitorni učinak na klijavost i rast korijena zabilježen je na tretmanima izazvanim otopinama Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a najmanji negativni učinak na tretmanu izazvanom NaCl. U drugom postavu primjenom odabranih soli koje su pokazale najslabiji inhibitorni učinak u prijašnjem postavu (NaCl i NaHCO), došlo je do redukcije klijavosti i rasta s porastom koncentracije (0, 35, 70 i 140 mM) u oba genotipa konoplje. Rezultati prvog i drugog postava pokazuju da genotip *Futura 83*, u odnosu na genotip *Santhica 70*, pokazuje veću toleranciju alkaliteta i saliniteta.

**Ključne riječi:** Industrijska konoplja, hladno prešano ulje, procesni parametri, neutralni solni stres, bazični solni stres, klijavost, rast

**Rad sadrži:** 57 stranica  
23 slike  
7 tablica  
53 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. Izv. prof. dr. sc. <i>Antun Jozinović</i> | predsjednik   |
| 2. prof. dr. sc. <i>Tihomir Moslavac</i>     | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Tihana Marček</i>   | član-komentor |
| 4. Izv. prof. dr. sc. <i>Ante Lončarić</i>   | zamjena člana |

**Datum obrane:** 3. studenoga 2023.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Food Technologies  
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

**Graduate program Food engineering**

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Technology of Oils and Fats  
**Thesis subject:** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X. held on 17.7.2023.  
**Mentor:** *Tihomir Moslavac*, PhD, full professor  
**Co-mentor:** *Tihana Marček*, PhD, associate professor

**The Production of Cold-Pressed Hemp Oil and Tolerance of the Hemp (*Cannabis sativa* L.)  
Genotypes on Neutral and Alkaline Salt Stress Exposure**

Laura Spajić, 0113145446

**Summary:** In this master's thesis, the influence of processing parameters on the utilization of cold-pressed hemp oil was examined. The pressing of hemp seeds of two genotypes, *Santhica 70* and *Futura 83*, was carried out using a laboratory continuous screw press. During oil production, various process parameters were changed: the size of the press head opening, the temperature of the press head, and the frequency of the electric motor, while the screw thread depth was constant. The obtained oil was analyzed for basic quality parameters, including peroxide value, free fatty acids, moisture content, and the proportion of insoluble impurities. The analysis of the results determined that the highest oil utilization was obtained at the highest used temperature of the press head (110°C), the lowest frequency of the electric motor (25Hz), and the smallest opening of the press head (10mm). In the continuation of the research, the effect of neutral and alkaline salt stress on hemp germination and growth was investigated in two independent experiments. In the first setup, exposure of seeds to neutral (NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) and basic (NaHCO<sub>3</sub> and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) salts at the same concentration (100 mM) reduced germination and root growth in both genotypes. Of all applied salts, the strongest inhibitory effect on germination and root growth was recorded in the treatments induced by Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solutions, and the smallest negative effect in the treatment induced by NaCl. In the second setting, applying selected salts that showed the weakest inhibitory effect in the previous setting (NaCl and NaHCO<sub>3</sub>), there was a reduction in germination and growth with increasing concentration (0, 35, 70, and 140 mM) in both hemp genotypes. The results of the first and second setup show that the genotype *Futura 83*, compared to the genotype *Santhica 70*, shows a higher tolerance of alkalinity and salinity.

**Key words:** Industrial hemp, cold pressed oil, neutral salt stress, alkaline salt stress, germination, growth

**Thesis contains:** 57 pages  
23 figures  
7 tables  
53 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. <i>Antun Jozinović</i> , PhD, associate professor | chair person  |
| 2. <i>Tihomir Moslavac</i> , PhD, full professor     | supervisor    |
| 3. <i>Tihana Marček</i> , PhD, associate professor   | co-supervisor |
| 4. <i>Ante Lončarić</i> , PhD, associate professor   | stand-in      |

**Defense date:** November 3, 2023.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food  
Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
1.1. Sistematska pripadnost .....	4
2.1. Morfološke osobine konoplje .....	4
2.2. Uzgoj konoplje .....	7
2.3. Konoplja kao industrijska biljka .....	8
2.3.1. Ulje konoplje .....	8
2.4. Priprema sirovine, proces proizvodnje i skladištenje hladno prešanih ulja .....	11
2.5. Solni stres kao abiotički stresni čimbenik .....	13
2.6. Neutralni i bazični solni stres .....	14
2.7. Proces klijanja .....	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	17
3.1. Zadatak.....	18
3.2. Materijal i metode .....	19
3.2.1. Proizvodnja hladno prešanog ulja konoplje .....	19
3.2.2. Određivanje udjela vode i ulja u sjemenkama i pogači.....	20
3.2.2.1. Određivanje vlage u sjemenkama i pogači .....	20
3.2.2.2. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači SoxROC metodom .....	21
3.2.3. Izračunavanje stupnja djelovanja preše.....	22
3.2.4. Određivanje parametara kvalitete ulja.....	23
3.2.4.1. Određivanje peroksidnog broja .....	23
3.2.4.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina .....	23
3.2.4.3. Određivanje netopljivih nečistoća .....	24
3.2.5. Istraživanje učinka solnoga stresa na klijancima .....	24
3.2.5.1. Uzgoj biljnog materijala .....	24
3.2.5.2. Određivanje germinacije i rasta izdanka i korijena .....	26
3.2.5.3. Određivanje postotka suhe tvari .....	27
3.3. Statistička obrada podataka .....	28
4. REZULTATI .....	29
4.1. Utjecaj procesnih parametara prešanja na dobivanje hladno prešanog ulja konoplje .....	30
4.2. Ispitivanje osnovnih parametara kvalitete dobivenog hladno prešanog ulja konoplje.....	33
4.3. Učinak solnog stresa na klijanje i rast korijena prvog postava .....	33
4.3.1. Učinak solnog stresa na klijanje .....	33
4.3.2. Učinak solnog stresa na rast korijena .....	35
4.4. Učinak solnog stresa na klijanje i rast korijena drugog postava .....	35

4.4.1.	Učinak solnog stresa na klijanje .....	36
4.4.2.	Učinak solnog stresa na rast izdanka .....	38
4.4.3.	Učinak solnog stresa na rast korijena .....	39
4.5.	Učinak solnog stresa na suhu biomasu .....	40
4.5.1.	Suha biomasa korijena .....	40
4.5.2.	Suha biomasa izdanka .....	41
5.	RASPRAVA.....	43
6.	ZAKLJUČCI.....	49
7.	LITERATURA .....	52

## **1. UVOD**

Značaj industrijske konoplje leži u mogućnosti dobivanja različitih proizvoda iz različitih dijelova biljke. Stabljika je izvor visokokvalitetnih vlakana koja se koriste za proizvodnju užadi, mreža, cerada, tepiha, brtvila, papira, tkanina, građevinskih materijala i drugih proizvoda. Sjeme konoplje ima visoku nutritivnu vrijednost jer sadrži otprilike 25% proteina, vitamina i oko 35 % ulja s gotovo idealnim omjerom omega-3 i omega-6 masnih kiselina (Božić-Ostojić i sur., 2015). Sjeme se koristi za proizvodnju ulja, lakova, goriva, sapuna, proteina u prahu te se također konzumira u cijelosti u prehrani ljudi, ptica i ostalih životinja. Hladno prešano ulje konoplje primjenu nalazi u prehrani ljudi, te u kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Dobivanje hladno prešanog ulja konoplje provodi se pužnim prešanjem sjemenki konoplje na sobnoj temperaturi, prilikom čega se dobiva visokokvalitetno ulje i pogača kao nusproizvod prešanja.

Zaslanjenost tla ozbiljna je prijetnja proizvodnom sektoru jer ugrožava proizvodnju biomase i produktivnost biljaka s negativnim učinkom na prinos. Industrijska konoplja je rasprostranjena diljem svijeta, međutim učinci solnog stresa na klijavost i rast konoplje ostaju nepoznati, posebice otpornost različitih sorti na solni stres tijekom klijanja. Zaslanjenost tla ključna je odrednica klijavosti sjemena u određenim uvjetima (Hu i sur., 2018). U radu će biti prikazano kako genotipovi konoplje, koncentracija i vrsta soli, te njihove interakcije mogu značajno utjecati na klijavost sjemena.



## **2. TEORIJSKI DIO**

### 1.1. Sistematska pripadnost

Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka koja pripada porodici *Cannabaceae* (Domac, 2002; Hulina, 2011). Ovu vrstu prvi opisuje švedski botaničar Carl Linné 1753. godine. S obzirom na izrazitu varijabilnost vrste, ponajviše s obzirom na područje podrijetla, botaničari diljem svijeta u 20. stoljeću konoplju definiraju i kategoriziraju drugačije sve do 1976. godine kada Small i Conquist (1976.) zaključuju da postoji samo jedna vrsta *Cannabis sativa* L. Međutim, s obzirom na prisutnost psihoaktivnih tvari konoplju možemo podijeliti na dvije podvrste: *Cannabis sativa* subsp. *sativa*, koja ne sadrži psihoaktivne tvari ili je njihov sadržaj manji od 0,2% kao što je tetrahidrokanabinol (THC), i *Cannabis sativa* subsp. *indica* koja sadrži psihoaktivne tvari. Izvorno podrijetlo konoplje nije u potpunosti poznato, ali pretpostavlja se da potječe iz središnje Azije.

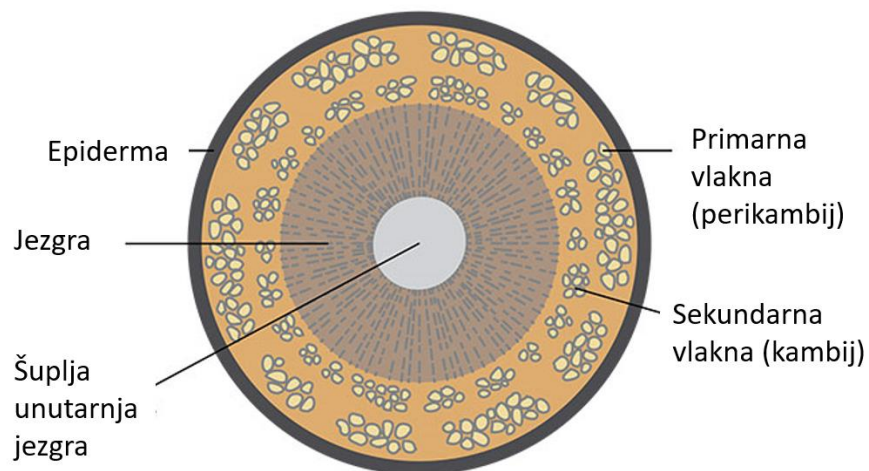
### 2.1. Morfološke osobine konoplje

Vretenasti korijen konoplje sastoji se od primarnog korijena i brojnih razgranatih sekundarnih korijenova (**Slika 1**). Primarni korijen je razvijen i u dobro dreniranim tlima može doseći dubinu i do 2,5 metara, dok se sekundarno korijenje međusobno isprepliće i može narasti od 60 do 80 cm (Bócsa i Karus, 1998). Korijen ženskih biljaka razvijeniji je od korijena muških biljaka. Ženske biljke, za razliku od muških, nakon oplodnje dohranjuju sjeme do dozrijevanja čime se produžuje vegetacija pa samim time i potreba za vodom i hranjivim tvarima koje osigurava jači korijenov sustav. Korijen konoplje, u odnosu na ostale ratarske kulture, ne odlikuje velika apsorpcijska moć i razvijenost, ali je prilagodljiviji suši i slanim tlima.



**Slika 1** Korijen konoplje (Web 1)

Konoplja ima uspravnu, zeljastu stabljiku koja starenjem odrveni. Može biti visine do 5 metara, a debljine od 30 do 60 mm. Stabljika konoplje je šuplja (Merfield, 1999). Oko šuplje drvenaste stabljike nalazi se jezgra koja je sačinjena od provodnih snopova floema, srčike i ksilema. Provodne snopiće i srčiku obavija sloj kambija u kojem se nalaze sekundarna vlakna koja su kraća i manje čvrstoće u odnosu na primarna vlakna smještena u perikambiju koja su vrlo čvrsta i dugačka. Kambij i perikambij obavija sloj parenhimskih stanica – kora. Vanjski i završni sloj stabljike čini epiderma na kojoj se nalaze puči (**Slika 2**) (Gagro, 1998).



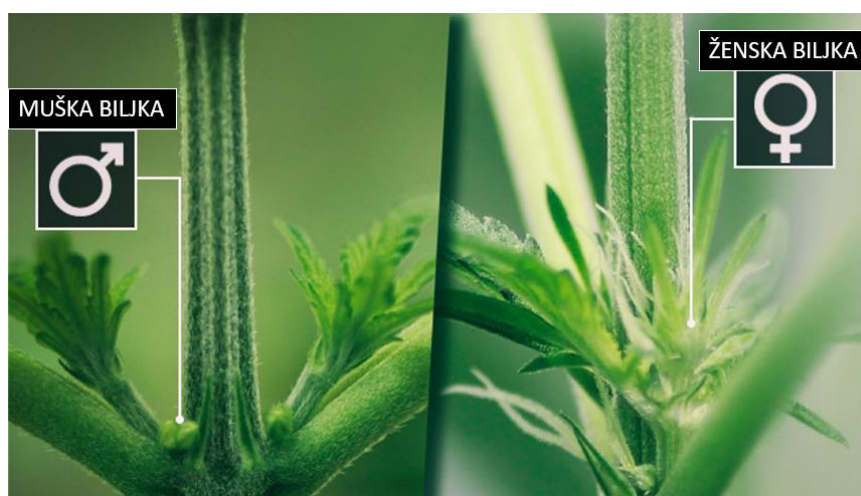
**Slika 2** Poprečni presjek stabljike konoplje (Web 2)

Razvoj listića započinje onda kada korijen i izdanak dovoljno narastu. Tada dolazi do otvaranja i odbacivanja sjemene lupine i razvoja mladih listića. Peteljka konopljinih listova sadrži dva para sraslih listića, s razdijeljenim liskama. Plojka je na poledini dlakava, dok je gornja strana glatka. Ukupan broj listova je uvijek neparan, a broj varira između tri i trinaest listova. Struktura listova je takva da se nasuprotno nalaze dva glatka, nenazubljena lista i dva listića s nazubljenim rubovima. Nalaze se na istom nodiju i u istoj ravnini (**Slika 3**) (Grić, 2005).



**Slika 3** Odbacivanje sjemene lupine (lijevo) i struktura prvih listova konoplje (desno)  
(Fotografirala: L. Spajić)

Konoplja je dvodomna biljka što znači da su muški i ženski cvjetovi odvojeni i smješteni na zasebnim biljkama (**Slika 4**). Muški i ženski cvjetovi, odnosno biljke, mogu se razlikovati u kasnijem stadiju cvatnje i to po boji, visini i gustoći, a osim toga razlikuju se i po biološkim osobinama, primjeni i ekonomskom značaju. Muški cvjetovi skupljeni su u metličaste cvatove na vrhovima stabljike, ocvijeće im je sastavljeno od svijetlozelenih listića i imaju pet prašnika čije su antere na dugim prašničkim nitima te vire iz cvijeta. Ženski cvat je veći i kompaktniji od muškog. Nalaze se u točki spajanja bočnih grana s glavnom osi te ih čini tučak s nadraslom plodnicom koja ima jedan sjemeni zametak. Ovi cvjetovi, kolokvijalno poznati kao pupoljci, posjeduju male žljezdane strukture zvane trihomi koji proizvode kanabinoide, kojih kod industrijske konoplje ima neznatno (Kolak, 1993).



**Slika 4** Muški i ženski cvat konoplje (Web 3)

Plod konoplje je dvokrilni orašac, okruglasto - jajastog oblika, smeđe boje sa svijetlim šarama (**Slika 5**). Plod konoplje je ujedno i sjeme. Sjemenke su obavijene tankim dvoslojnim perikarpom i imaju unutar sebe endosperm i dva kotiledona. U endospermu sjemenke nalazi se škrob dok je u ostalom, većem dijelu sjemenke, ulje (oko 30%). Masa 1000 zrna konoplje iznosi oko 20 g, dok je hektolitarska težina oko 50 kg što je varijabilan podatak ovisno o sorti ili genotipu konoplje (Gagro, 1998; Gadžo i sur., 2011).



**Slika 4** Sjeme konoplje (Web 4)

### 2.2. Uzgoj konoplje

Konoplja se uzgaja u mnogim dijelovima svijeta i to zbog sjemena koje je bogato uljem i zbog stabljike bogate visokokvalitetnim vlaknima (Feeney i Punja, 2003). Konoplja je posebno ekološki prihvatljiva kultura budući da ima visok prinos s niskim zahtjevima za agrokemikalijama. Dobro se uklapa u sheme rotacije usjeva poboljšavajući strukturu tla, a također ima potencijal za fitoremedijaciju teških metala i biorazgradnju istrošenih ugljikovodika u kontaminiranim tlima (Wahby i sur. 2013). Obrada tla za sjetvu konoplje obavlja se po sustavu obrade tla za jare kulture - početkom kolovoza, tzv. ljetno oranje na dubinu od 20 cm, te u jesen na dubinu od 40 cm i neposredno prije sjetve dodatno se priprema tlo ravnanjem, sušenjem tla i zatvaranje zimske brazde. Gnojidba osrednje plodnog tla vrši se dodatkom 150 kg/ha dušika, 120 kg/ha fosfora i 120 kg/ha kalija. Poželjno je korištenje i uree u prihrani tla jer ona ima dugo djelovanje i ne ispire se. Sjetva konoplje obavlja se u drugoj polovici ožujka i početkom travnja. Ovisno o tome za što će se konoplja primjenjivati, konoplja se sije u različite međuredne razmake i gustoće. Tako na primjer, konoplja za dobivanje

vlakana sije se na razmaku od 10-20 cm između redova i gustoće sklopova od 250-300 klijavih zrna na m<sup>2</sup> da bi se žetvom dobilo od 150 do 200 biljaka/m<sup>2</sup>, dok se konoplja za dobivanje sjemena sije na međuredni razmak od oko 60 cm. Sjemenska konoplja žanje se kada je najveći dio sjemena sazrio (krajem kolovoza i početkom rujna), a konoplja za vlakno žanje se nakon oplodnje (prva polovica kolovoza). Važno je da se žetva obavlja kada biljka nije mokra ili vlažna. Ovisno o žetvenoj površini i razlogu uzgoja konoplje žetva se može obavljati strojno ili ručno. Važno je naglasiti da neposredno nakon žetve sjeme ide na sušenje do 10 % vlage, a stabljike se nakon žetve ostave na suncu da se osuše pa se potom vežu u snopove. Industrijska konoplja je radno intenzivna kultura pa se za sadnju, žetvu i preradu konoplje pronalaze tehnološka rješenja koja bi omogućila zamjenu ljudskog rada strojnom obradom (Dubreta, 2006).

### 2.3. Konoplja kao industrijska biljka

Industrijska konoplja je pronašla svoju primjenu u mnogim aspektima ljudskog života i djelovanja. Ovisno o dijelu biljke, njezina primjena se razlikuje. Vlakna konoplje su izdržljiva i korištena su u tekstilnoj industriji, za proizvodnju odjeće, izradi jedara te za izradu papira. Ulje sjemenki konoplje koristi se u mnoge svrhe, od prehrane do kozmetike, a ekstrakti biljaka konoplje korišteni su za liječenje širokog spektra bolesti (Clarke, 1999). Osim tradicionalne upotrebe vlakana konoplje, razvijene su nove primjene kao što je izrada kompozitnih materijala, netkanih materijala i geotekstila. Visokokvalitetno ulje i proteini prisutni su u sjemenkama konoplje, a kemijski spojevi s farmakološkim implikacijama nalaze se u cijeloj biljci (Turner, 1980).

#### 2.3.1. Ulje konoplje

Sjemenka konoplje sadrži 25-35 % ulja što je i navelo proizvođače da koriste ovu biljku za dobivanje jestivih ulja i to metodom hladnog prešanja na pužnim prešama. Ulje konoplje uobičajeno se ne dobiva postupkom rafinacije zbog slabe oksidacijske stabilnosti, termostabilnosti i zaštite bogatog nutritivnog sastava samog ulja. Iz sjemenke konoplje moguće je ekstrahirati i do 80 % ulja što predstavlja izuzetno dobro iskorištenje pa samim time ekonomski opravdava odabir konoplje kao sirovine za proizvodnju ulja, čak i u usporedbi s ostalim uljima dobivenim prešanjem (npr. ekstra djevičansko maslinovo ulje). Ulje konoplje je zelenkaste boje različitih intenziteta, a po okusu podsjeća na orašaste plodove uz blago opor okus. Ulje sjemenki konoplje izrazito je bogato višestruko nezasićenim masnim kiselinama od

kojih je najzastupljenija linolna (56,2 %),  $\alpha$ -linolenska (17,3 %), te  $\gamma$ -linolenska (1,2 %) masna kiselina (**Tablica 1**). Omjer omega-6 i omega-3 masnih kiselina gotovo je idealan u odnosu 3:1 što čini ovo ulje izrazito povoljnim za ljudsku konzumaciju (**Tablica 1**). Iznimno važni sastojci konopljinog ulja su tokoferoli i fitosteroli. Tokoferola je u ulju sadržano oko 800 mg/kg, te je najzastupljeniji  $\gamma$ -tokoferol, dok je fitosterola u prosjeku oko 4727 mg/kg s dominantnim  $\beta$ -sitosterolom. Ulje konoplje bogato je antioksidansima i mnogim mikronutrijentima (kalcij, magnezij, sumpor, kalij, fosfor, željezo i cink) (Dimić, 2005). Sjemenke konoplje sadrže do 25% proteina i svih devet esencijalnih aminokiselina što sjemenke konoplje čini idealnom namirnicom u prehrani vegetarijanaca, vegana i sportaša. Nutritivni sastav ulja konoplje potkrjepljuje i opravdava činjenicu o širokoj primjeni ulja u prehrani ljudi, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Ulje konoplje se u prehrani najčešće koristi kao salatno ulje ili u jelima koje ne zahtijevaju termičku pripremu. U kozmetičkoj industriji koristi se kao sredstvo za njegu kože, hidrataciju kože i sprječavanje nastanka bora zbog visokog udjela nezasićenih masnih kiselina. Ulje konoplje također, zbog navedenog nutritivnog sastava, ima blagotvorno djelovanje na ljudsko zdravlje u vidu održavanja zdravlja srca i krvnih žila, za ublažavanje simptoma AIDS-a, glaukoma, astme, epilepsije i drugih bolesti, osnažuje imunološki sustav i potpomaže dobro pamćenje i moždane funkcije (Dimić, 2005).

Tablica 1 Sastav masnih kiselina (%m/m) ulja zrna konoplje (Dimić, 2005)

	Karlović, Đ. i sur (1996)	Wirtshafter, D.J.D. (1995)	Baza podataka Laboratorije za tehnologiju biljnih ulja i proteina (Novosadska)	Baza podataka Laboratorije za tehnologiju biljnih ulja i proteina (Felina 44)
<b>C<sub>16:0</sub> palmitinska</b>	6,1	6,1	7,32	8,04
<b>C<sub>16:1</sub> palmitoleinska</b>	-	0,3	-	-
<b>C<sub>18:0</sub> stearinska</b>	3,1	2,1	2,97	3,14
<b>C<sub>18:1</sub> oleinska</b>	13,0	12,0	14,55	15,24
<b>C<sub>18:1</sub> trans - elaidinska</b>	0,7	-	-	-
<b>C<sub>18:2</sub> linolna</b>	56,2	56,9	55,5	53,01
<b>C<sub>18:3</sub> α – linolenska</b>	17,3	18,9	14,35	12,98
<b>C<sub>18:3</sub> γ - linolenska</b>	1,2	1,7	0,80	1,91
<b>C<sub>20:0</sub> arahinska</b>	0,3	0,5	0,87	1,04
<b>C<sub>22:0</sub> behenska</b>	0,4	0,3	-	-
<b>C<sub>22:1</sub> eruka</b>	-	0,2	-	-
<b>Odnos ω-6/ω-3</b>	3,3:1	3,1:1	3,93:1	4,24:1

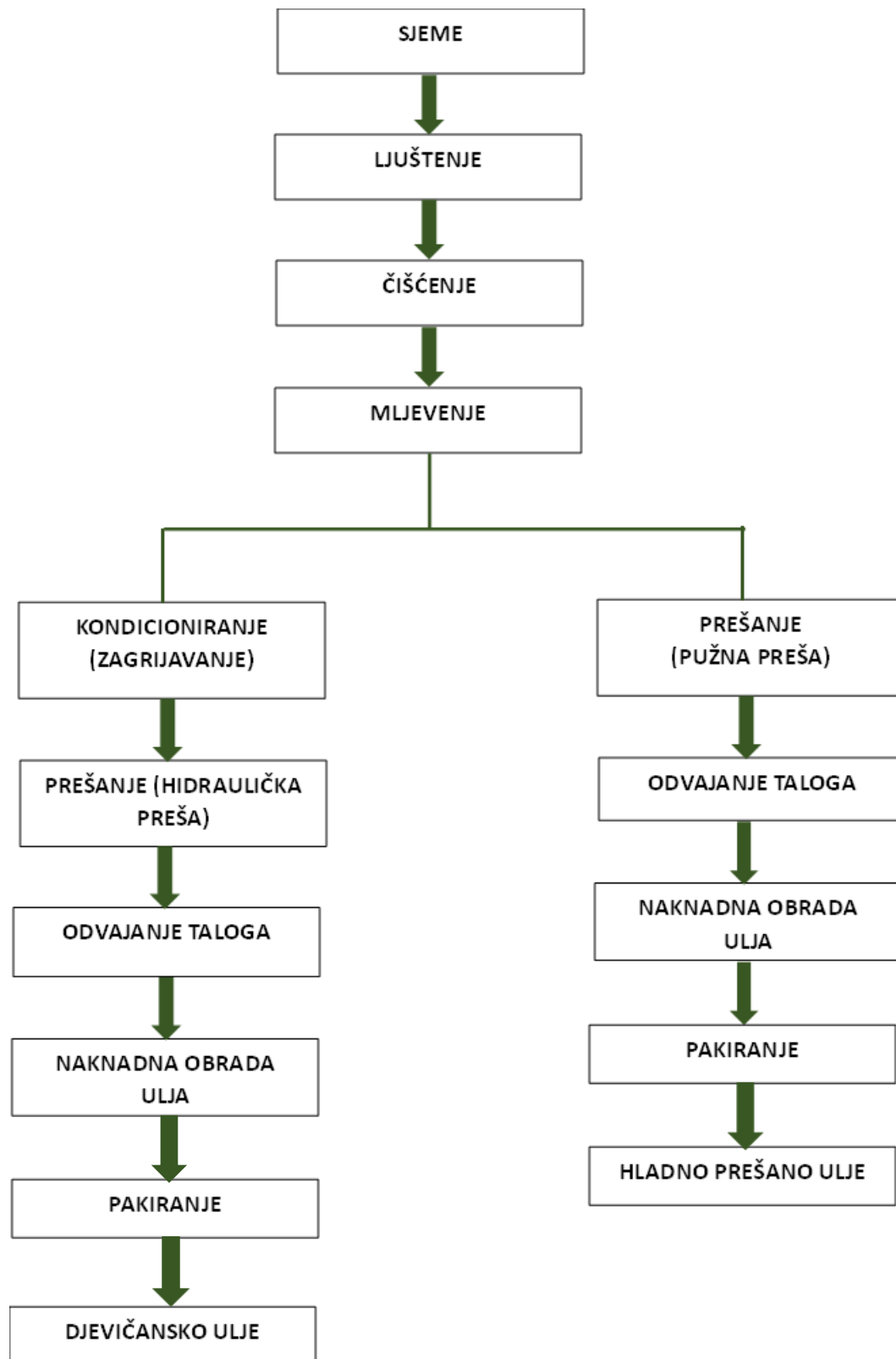


## 2.4. Priprema sirovine, proces proizvodnje i skladištenje hladno prešanih ulja

Kako bi se osigurala visoka kvaliteta ulja dobivenih hladnim prešanjem, osim što je potrebno pravilno provoditi proces proizvodnje, važno je na samom početku izvršiti odgovarajuću pripremu sirovine, kao i na posljetku pakiranje i skladištenje dobivenog ulja u kontroliranim uvjetima.

Nakon što se provede žetva, sjemenke se suše i čiste čime se odstranjuju biljni ostaci od sjemenki kako bi se spriječila kontaminacija. Također, važno je obratiti pozornost na pravilno vrijeme žetve, jer prerana žetva može rezultirati povećanom vlagom u sjemenu što će najvjerojatnije uzrokovati razvoj plijesni i kontaminaciju sjemenki. Nakon toga slijede koraci čišćenja i sušenja kako bi se smanjio udio vlage u sjemenu na optimalnu razinu za najbolju iskoristivost sirovine. Sušenje se može provoditi na dva načina, putem isparavanja ili uporabom vakuum sušenja, pri čemu je vakuum sušenje češći pristup (Dimić, 2005). Završni korak prilikom pripreme sirovine je njezino skladištenje. Glavni cilj skladištenja je očuvati kvalitetu sirovine i njezinu komercijalnu vrijednost. Razlikujemo dva osnovna tipa skladišta, trajna i privremena. Trajna skladišta uključuju silose i podna skladišta, dok se privremena skladišta mogu realizirati natkrivenom površinom s koje se sirovina u kratkom vremenskom roku premješta. S obzirom na to da su gubitci sirovine i kvarenje neizbježni u ovoj fazi, od velike je važnosti provoditi postupke provjetravanja i sušenja sirovine kako bi se minimalizirali gubici (Bockisch, 1998).

Najstariji način proizvodnje hladno prešanih biljnih ulja je putem postupka poznatog kao prešanje. Prešanje uključuje primjenu visokog tlaka kako bi se mehanički izdvojilo ulje iz sirovine. Ovim procesom trebaju biti zadovoljeni ključni zahtjevi prešanja, a to su: očuvanje prirodnih svojstava ulja nakon prešanja, smanjenje prisutnosti nepoželjnih komponenata, očuvanje ugodnog mirisa i okusa koji su karakteristični za sirovinu visoke kvalitete (Čorbo, 2008). Prije nego što sirovina prođe kroz proces prešanja, prolazi kroz faze čišćenja, ljuštenja i mljevenja. Konačni proizvod, hladno prešano ulje, dobije se prolaskom sirovog ulja kroz postupke pročišćavanja, koji uključuju upotrebu vode, filtriranje, taloženje i centrifugiranje (**Slika 6**).



**Slika 6** Blok shema proizvodnje jestivog hladno prešanog ulja i djevičanskog ulja (Dimić i sur., 2002)

Za pakiranje hladno prešanih ulja koriste se različiti materijali kao ambalaža, uključujući spremnike od nehrđajućeg čelika, tamno staklo, te polimerne i kombinirane materijale. Sam proces pakiranja ulja uključuje korake poput punjenja, zatvaranja, obilježavanja pakiranja, etiketiranja te paletizacije (Dimić, 2005). Jestiva biljna ulja su proizvodi visoke osjetljivosti i nestabilnosti, što znači da ambalaža u koju se pakiraju mora pružiti potpunu zaštitu sve do trenutka upotrebe samog ulja. Kvalitetna ambalaža treba osiguravati potpunu zaštitu proizvoda, spriječiti interakciju s proizvodom, posjedovati barijere za plinove, paru i svjetlost, imati odgovarajuća fizikalno-mehanička svojstva, biti laka za rukovanje i posjedovati sve potrošaču potrebne informacije (Čorbo, 2008). Za pakiranje hladno prešanih ulja najčešće se koriste tamno zelene ili smeđe staklene boce. Upakirano ulje se čuva u suhim, prozračnim prostorijama, bez prisustva sunčeve svjetlosti. Važno je izbjegavati skladištenje ulja s drugim namirnicama intenzivnog mirisa jer ulje lako upija strane mirise, što može negativno utjecati na njegovu kvalitetu (Curaković i sur. 1996).

### 2.5. Solni stres kao abiotički stresni čimbenik

Stres je posljedica nepovoljnih životnih uvjeta ili utjecaja različitih tvari koje ometaju metabolizam, rast i razvoj biljke. Klimatske promjene i njezine posljedice imaju sve izraženiji negativan utjecaj na rast i razvoj biljaka (Ahrens i sur., 2020). Biljni stres uzrokuju razni abiotički i biotički čimbenici. Čimbenici koji uzrokuju abiotički stres su suša, salinitet, teški metali, hladnoća, povišena temperatura, radijacija i vjetar, dok su čimbenici koji uzrokuju biotički stres, virusi, bakterija, gljivice, kukci i slično. Ovisno o tome koliko stres traje može se podijeliti na kratkotrajan i dugotrajan stres. Ukoliko stres kratko traje, može se nadomjestiti aklimatizacijom, homeostaznim mehanizmima ili biostimulatorima, dok se dugotrajnim stresom može uzrokovati nepovratna oštećenja stanica (Devi i sur., 2017; Lichtenthaler, 1996)

Salinitet danas predstavlja česti abiotički stresni čimbenik koji utječe na rast i razvoj biljaka zbog sve izraženijih klimatskih promjena. Pod utjecajem kako prirodnih procesa tako i ljudskih aktivnosti, salinizacija tla postala je sve ozbiljnija ekološka i okolišna briga globalnih razmjera (Wang i sur., 2020). Prema podacima iz Izvješća o stanju okoliša u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2005. – 2008., Agencije za zaštitu okoliša (AZO, 2012), u Hrvatskoj najviše zaslanjenih tala nalazi se u dolini Neretve, na području Vranskog bazena i u donjim tokovima rijeke Mirne i Raše u Istri. Zaslanjivanje tala u tim područjima povezano je s prodorom morske vode u

zaobalje ali i korištenjem morske vode za navodnjavanje. Rezultat korištenja morske vode u sustavu navodnjavanja je smanjenje prinosa i degradacija zemljišta. S druge strane, alkalna tla u Republici Hrvatskoj uglavnom se nalaze na području Slavonije i Baranje, a pretpostavlja se da je približno 410 hektara tla u istočnoj Slavoniji alkalizirano. Alkalna tla imaju izuzetno nepovoljna fizikalno-mehanička svojstva zbog visokih koncentracija natrija i magnezija prisutnih na adsorpcijskom kompleksu, što dovodi do retencije vode koja je onda nedostupna biljkama.

## 2.6. Neutralni i bazični solni stres

Stresni abiotički faktori poput saliniteta, neutralnog solnog stresa i alkaliteta, bazičnog solnog stresa, predstavljaju ograničenja u vodnoj opskrbi biljaka, uzrokujući ionski stres zbog kojeg dolazi do narušavanja ravnoteže iona unutar stanica. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (FAO), približno 20 % svjetskih navodnjavanih tala pati od zaslanjivanja. Zaslanjivanje tla ima negativan utjecaj na rast biljaka i prinos, smanjuje učinkovitost iskorištavanja tla i izaziva dodatne ekološke i okolišne probleme. Zaslanjena tla mogu sadržavati različite vrste soli, uključujući neutralne i alkalne soli.

Solni stres proizlazi iz nakupljanja soli poput NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i drugih neutralnih soli u tlu, što rezultira povećanjem koncentracije Na<sup>+</sup> u stanicama biljaka te uzrokuje osmotski i ionski stres. Osmotski stres uzrokuje staničnu dehidraciju što dovodi do pada hidrostatskog tlaka i promjene unutarstaničnog volumena (Sairam i Tyagi, 2004). Suprotno tome, visoke koncentracije Na<sup>+</sup> iona unutar stanice izazivaju ionski stres koji ometa unos hranjivih tvari (K<sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> i Ca<sup>2+</sup>), a povišene koncentracije Cl<sup>-</sup> inhibiraju unos NO<sub>3</sub><sup>-</sup> i H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> (Munns i Tester, 2008; Liu i sur., 2022). Ionski stres uzrokovan salinitetom inducira proizvodnju reaktivnih kisikovih (ROS) i dušikovih čestica (RNS) uzrokujući denaturaciju proteina, oštećenja biomembrana i nukleinskih kiselina, inhibiciju fotosinteze, ekspresiju specifičnih gena i indukciju stresnih proteina (Omoto i sur., 2012; Marček i sur., 2014; Marček i sur., 2016). Povećan udio HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> u tlima rezultat je evaporacije vode ili može biti rezultat prirodnog ispiranja stijena (Stavi i sur., 2021.). Prema količini soli i pH vrijednosti, intenzitet alkalizacije može biti slab (udio soli je < od 3 ‰ ; pH = 7,1-8,5), umjeren (udio soli iznosi od 3-6 ‰ ; pH = 8,5-9,5) te jaki intenzitet (udio soli > 6 ‰ ; pH = > 9,5) (Fang i sur., 2021).

Prisutnost soli u tlu značajno utječe na proces klijanja sjemena u određenim uvjetima. Brzina rasta većine usjeva u solnim okruženjima ima negativne posljedice. Prethodna istraživanja ukazuju na to da solni stres odgađa ili čak sprječava klijanje, djelujući putem osmotskih i ionskih efekata (Welbaum i sur., 1990). Također, visoki sadržaj soli može rezultirati potpunim inhibiranjem klijanja kod koncentracija koje prelazi granicu tolerancije određene biljne vrste (Guan i sur., 2009).

Promjene izazvane bazičnim stresom kojega izazivaju alkalne soli poput  $\text{NaHCO}_3$  i  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , ne razlikuju se značajno od promjena izazvanih neutralnim solima, osim što alkalne soli dodatno povećavaju pH vrijednost tla (Wang i sur., 2022). Povećanjem pH vrijednosti tla, talože se divalentni iona poput  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$  koji mogu ometi unos drugih hranjivih tvari u biljku što utječe na fiziološke i metaboličke procese (Chen i sur., 2017).

Salinitet i alkalitet nepovoljno utječu na svaku fazu razvoja biljke, a posebno na fazu klijanja zbog direktnog dodira klice s otopinom soli u tlu (Hu i sur., 2018). Zbog toga se proučavanje procesa klijanja smatra prilično pouzdanim testom u istraživanju tolerancije saliniteta i alkaliteta određene vrste ili genotipa.

### 2.7. Proces klijanja

Klijanje sjemena predstavlja ključnu fazu u razvoju biljke i može se istovremeno smatrati važnim faktorom produktivnosti biljaka. Promjene na fiziološkoj i biokemijskoj razini, praćene morfološkim transformacijama tijekom klijanja, usko su povezane sa stopom preživljavanja mladih biljaka i njihovim vegetativnim rastom. Ove povezanosti nadalje imaju posljedični utjecaj na prinos i kvalitetu biljaka (Ali i Elozeiri, 2017).

Za inicijaciju procesa klijanja, sjeme mora biti klijavo, trebaju biti zadovoljeni odgovarajući ekološki čimbenici (voda, temperatura, kisik, svjetlost, pH vrijednost tla) te treba biti savladana primarna dormantnost (Okçu i sur., 2005; Finch-Savage i Leubner-Metzger, 2006; Cokkizgin, 2012). Proces klijanja sjemena odvija se u četiri faze: upijanje vode (imbibicija), formiranje i aktiviranje enzimskih sustava, početak razvoja klijanaca te daljnji rast i razvoj klijanaca, kako opisuje međunarodna udruga za testiranje sjemena (ISTA). U procesu klijanja najkritičnija je druga faza, kada dolazi do bitnih fizioloških i biokemijskih procesa kao što su hidroliza, biosinteza makromolekula, stanično disanje, nastajanje staničnih struktura i što rezultira inicijacijom klijanja (Ali i Elozeiri, 2017).

Upijanje vode u klijajućem sjemenu potiče embrij na proizvodnju fitohormona i to uglavnom giberelinske kiseline (GA) koja može difuzijom prelaziti u aleuronski sloj pokrećući signalnu kaskadnu reakciju koja rezultira sintezom  $\alpha$ -amilaza i drugih hidrolitičkih enzima. Ovi hidrolitički enzimi se oslobađaju unutar endosperma (Bethke i sur., 1997).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### 3.1. Zadatak

Eksperimentalni dio rada sastojao se od dva dijela. Zadatak prvog dijela rada odnosio se na ispitivanje utjecaja procesnih parametara prešanja sjemenki konoplje dva genotipa: *Futura 83* i *Santhica 70*, na proizvodnju hladno prešanog ulja i ispitivanje osnovnih parametara kvalitete ulja. Drugi dio rada odnosio se na ispitivanje otpornosti istih genotipova konoplje na solni stres prateći klijavost i morfometrijske pokazatelje.

Zadatak ovog rada bio je:

- Prešanje sjemenki konoplje i proizvodnja hladno prešanog ulja korištenjem pužne preše uz zadane uvjete: veličina nastavka za izlaz pogače (10 mm, 12 mm, 16 mm), temperatura grijača glave preše (70 °C, 85 °C, 100 °C, 110 °C) i frekvencija elektromotora (25 Hz, 30 Hz, 40 Hz),
- Određivanje osnovnih parametara kvalitete dobivenog ulja i utvrđivanje sukladnost prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19),
- Kroz preliminarni postav utvrditi učinak bazičnih ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  i  $\text{NaHCO}_3$ ) i neutralnih soli ( $\text{NaCl}$  i  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) u koncentraciji od 100 mM na klijanje i rast genotipova konoplje (prvi postav),
- Na temelju preliminarnog postava, izabrati jednu neutralnu i jednu bazičnu sol koje su pokazale najmanji inhibitorni učinak te kroz novi eksperimentalni postav utvrditi njihov učinak na klijanje i rast u različitim koncentracijama (0, 35, 70 i 140 mM) (drugi postav).



## 3.2. Materijal i metode

### 3.2.1. Proizvodnja hladno prešanog ulja konoplje

Za istraživanje korištene su osušene i neoljuštene sjemenke industrijske konoplje dva genotipa: *Santhica 70* i *Futura 83*, dobivene iz tvrtke Organica Vita, Hrvatska. Dobivanje hladno prešanog ulja konoplje provodilo se na kontinuiranoj laboratorijskoj pužnoj preši, kapaciteta 20-25 kg/h proizvođača ElektroMotor – Šimon d.o.o. (Slika 7). Dva tjedna nakon prešanja, što podrazumijeva vrijeme taloženja nečistoća iz sirovog ulja, provedena je vakuum filtracija u svrhu dobivanja finalnog hladno prešanog ulja konoplje (Slika 8).



Slika 5 Dobivanje sirovog hladno prešanog ulja konoplje na kontinuiranoj pužnoj preši  
(Fotografirala: L. Spajić)



Slika 6 Vakuum filtracija (Fotografirala: L. Spajić)

### 3.2.2. Određivanje udjela vode i ulja u sjemenkama i pogači

#### 3.2.2.1. Određivanje vlage u sjemenkama i pogači

Ispitivanje sadržaja vlage u sjemenkama i pogači provodi se prema standardnoj metodi (ISO 665:1991) u sušioniku na temperaturi od  $103 \pm 2$  °C. Prvo, u prethodno izvaganu i osušenu posudicu stavlja se 5g uzorka, nakon čega se posudica smješta u sušionik (**Slika 9**). Nakon 2 sata sušenja, posudica se pažljivo zatvara poklopcem, te se ostavlja da se ohladi do sobne temperature u eksikatoru. Nakon toga, postupak sušenja ponavlja se svakih sat vremena, pri čemu se poklopac posudice ostavlja podignutim, sve dok se ne postigne konstantna masa ili dok razlika između dvaju uzastopnih mjerenja ne prelazi 0,005g.

Udio vode u sjemenkama i pogači računa se po **formuli (1)**:

$$\% \text{ vode} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} * 100$$

$m_0$  – masa prazne posudice (g),

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

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



**Slika 7** Postupak sušenja i vaganja sjemenki i pogače za određivanje udjela vode

(Fotografirala: L. Spajić)

### 3.2.2.2. Određivanje udjela ulja u sjemenkama i pogači SoxROC metodom

Udio ulja u sjemenu uljarica jedan je od osnovnih parametara za procjenu njegove kvalitete. Za određivanje udjela ulja koriste se metode propisane nacionalnim ili međunarodnim normama. SoxROC je metoda koja je u ovom radu korištena za određivanje ulja, a postupak se sastoji od nekoliko koraka:

Priprema uzorka podrazumijeva homogeniziranje, predušenje i vaganje uzorka. Osim toga, potrebno je izvagati i tuljke s kuglicama za vrenje u koje će uzorak biti prebačen (**Slika 10**).



**Slika 8** Uzorak u tuljku za ekstrakciju (Fotografirala: L. Spajić)

Ekstrakcija se provodi u dva koraka – vrenjem i ispiranjem, te naknadnim sušenjem. Ekstrakcija se provodi u uređaju – SoxROC Extraction Unit (**Slika 11**). Vrenje započinje postavljanjem „čaha“ s uzorcima u uređaj i odabire se željeni program čime započinje grijanje uzorka preko grijače podloge što rezultira isparavanjem uzorka. Pare će kondenzirati i prelaziti u spremnik iznad čaha. Kada je spremnik napunjen, kondenzat će se prelijevati u čaše preko tuljka čime će ujedno ispirati sadržaj tuljka. Uzorak u čaši je ekstrahiran. Zadnji korak je sušenje uzorka koji se odvija u sušioniku. Nakon sušenja uzorak se važe i udio ulja računa se prema **formuli (2)**:

$$Udio\ ulja = \frac{(a - b) * 100}{c} (\%)$$

a – masa tikvice s uljem (g),

b – masa prazne tikvice (g),

c – masa ispitivanog uzorka (g).



Slika 9 SoxROC Extraction Unit (Fotografirala: L. Spajić)

### 3.2.3. Izračunavanje stupnja djelovanja preše

Količina ulja dobivenog prešanjem računa se prema **formuli (3)**:

$$U (\%) = U_o - U_p \times ( a/b )$$

U – količina prešanog ulja (%),

U<sub>o</sub> – udio ulja u sirovini (%),

U<sub>p</sub> – udio ulja u pogači (%),

a – suha tvar u sirovini (%),

b – suha tvar u pogači (%).

Stupanj djelovanja prešanja se računa prema **formuli (4)**:

$$P = \left( \frac{U}{U_o} \right) * 100 (\%)$$

U – količina prešanog ulja (%),

U<sub>o</sub> – udio ulja u sirovini (%).

### 3.2.4. Određivanje parametara kvalitete ulja

#### 3.2.4.1. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidni broj je pokazatelj stupnja oksidacijskog kvarenja neke masti ili ulja, te se koristi za određivanje prisutnosti primarnih oksidacijskih produkata, tj. hidroperoksida i peroksida.

Postupak uključuje dodavanje ledene octene kiseline i kloroforma u uzorak ulja te se miješa i dodaje otopina kalijevog jodida (KI). Zatim se uzorak miješa tijekom jedne minute i razrjeđuje s prethodno prokuhanom i ohlađenom destiliranom vodom. Nakon toga, u uzorak se dodaju nekoliko kapi otopine škroba kao indikatora, te se titrira s otopinom natrijeva tiosulfata sve dok boja ne nestane i ostane konstantna tijekom 15 sekundi. Rezultat je izražen kao mmol aktivnog kisika koji potječe iz nastalih peroksida prisutnih u 1 kg ulja (mmol O<sub>2</sub>/kg). Vrijednost peroksidnog broja (PB) izračunava se prema **jednadžbi (1)**:

$$Pbr \text{ (mmol O}_2\text{/kg)} = (V_1 - V_0) * 5/m$$

V<sub>1</sub> – volumen otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 mol/L) utrošen za titraciju uzorka ulja (mL),

V<sub>0</sub> – volumen otopine Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 mol/L) utrošen za titraciju slijepa probe (mL),

m – masa uzorka ulja (g)

#### 3.2.4.2. Određivanje slobodnih masnih kiselina

Masti i ulja, osim što sadrže masne kiseline povezane u triacilglicerole, također uključuju slobodne masne kiseline (SMK) kao dio svog kemijskog sastava. Udio SMK u uljima varira ovisno o sirovini koja se koristi, postupku dobivanja i uvjetima skladištenja. Ovaj udio može biti izražen kroz različite parametre kao što su kiselinski broj, kiselinski stupanj ili udio oleinske kiseline. Metoda za određivanje ovog parametara temelji se na titraciji ulja s otopinom natrijevog hidroksida (NaOH) uz dodatak fenolftaleina kao indikatora, sve do trenutka kada dođe do promjene boje.

Udio SMK izražen kao % oleinske kiseline, računa se prema **formuli (5)**:

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

V – volumen utrošene otopine NaOH za titraciju (mL),

c – koncentracija NaOH utrošenog za titraciju (0,1 mol/L),

M – molekulska masa oleinske kiseline (282 g/L),

m – masa uzorka ulja (g)

### 3.2.4.3. Određivanje netopljivih nečistoća

Netopljive nečistoće u ulju obično su mehaničke nečistoće koje mogu sadržavati mineralne tvari ili organske komponente. U uljima visoke kvalitete, udio ovih nečistoća obično ne prelazi 0,05 %.

Da bismo odredili udio netopljivih nečistoća, uzorak se podvrgava tretmanu s organskim otapalima poput n-heksana ili petrol-etera. Nastala otopina filtrira se kroz stakleni lijevak sa sinteriranim dnom, pri čemu se talog ispire istim otapalom. Nakon toga, netopljivi talog ostavlja se da se osuši do postizanja konstantne mase i zatim se izvaže i udio netopljivih nečistoća se računa prema **formuli (7)**:

$$\% NN = m_2 - m_1 / m_0 * 100$$

$m_0$  – masa uzorka (g),

$m_1$  – masa osušenog lijevka (g),

$m_2$  – masa lijevka s nečistoćama nakon sušenja (g).

### 3.2.5. Istraživanje učinka solnoga stresa na klijancima

#### 3.2.5.1. Uzgoj biljnog materijala

U istraživanju su uključena dva genotipa industrijske konoplje - *Santhica 70* i *Futura 83*. Prije naklijavanja u prozirne posude s poklopcem dimenzija 20 cm x 15 cm x 3 cm s dvoslojnim filter papirom dodano je 15 mL destilirane vode (dH<sub>2</sub>O) (kontrola), odnosno u posudice koje su predstavljale solni stres dodana je odgovarajuća otopina soli istog volumena. U preliminarnom postavu za izazivanje neutralnog stresa korištene su otopine NaCl i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> koncentracije 100 mM, a za izazivanje alkalnog stresa korištene su otopine NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> iste koncentracije. U drugom postavu, u posudice koje su predstavljale neutralni solni stres dodana je otopina NaCl, dok se otopina NaHCO<sub>3</sub> koristila za izazivanje alkalnog solnog stresa. Učinak otopina NaCl i NaHCO<sub>3</sub> promatran je pri koncentraciji 0, 35, 70 i 140 mM.

Na natopljene filter papire postavljeno je 30 sjemenki u jednakim razmacima. Također, sjemenke su bile odabrane tako da budu približno jednakih veličina i bez mehaničkih oštećenja



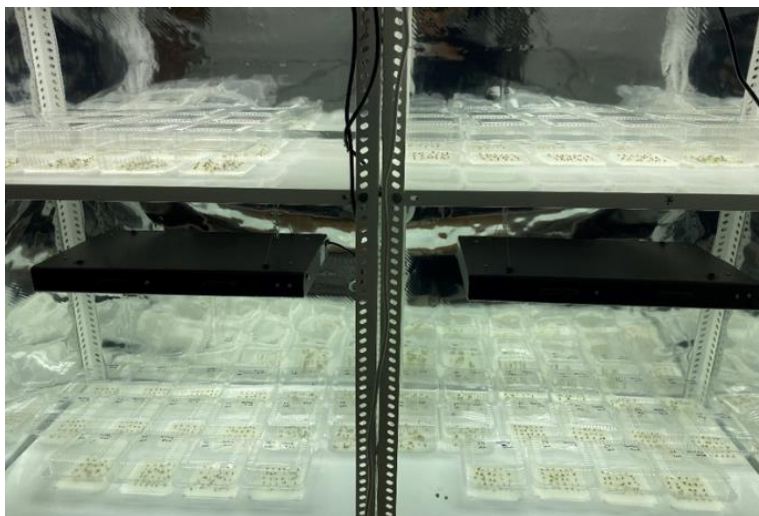
(Slika 12). U svakom postavu za svaki genotip korišteno je po tri posudice za svaki tretman i koncentraciju. Učinak neutralnog i alkalnog solnog stresa u preliminarnom postavu praćen je kroz četiri dana, a u drugom sedam dana.

U oba postava, u posudama s neutralnim i bazičnim solima filter papir je mijenjan svaka dva dana u cilju održavanja konstantne koncentracije soli na filter papiru. Filter papiri u kontrolnim posudama bili su zalijevani  $\text{dH}_2\text{O}$  također svaki drugi dan. Nakon naklijavanja, sjemenke su prva dva dana bile držane u tami, a potom su prebačene u kontrolirane uvjete uzgoja pod umjetnim osvjetljenjem fluorescentnih lampi ( $80 \mu\text{mol fotona m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), fotoperiodu 12 sati svjetla/12 sati tami i temperaturi  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  (Slika 13).



**Slika 10** Sjemenke konoplje

(Fotografirala: L. Spajić)



**Slika 11** Uzgoj biljnog materijala

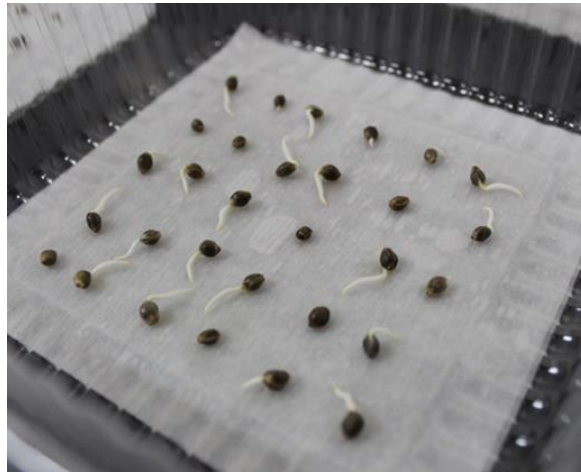
(Fotografirala: L. Spajić)

### 3.2.5.2. Određivanje germinacije i rasta izdanka i korijena

Klijavost je praćena svaka dva dana uzgoja uzimajući pri tome, kao kriterij klijavosti, pojavnost korjenčića duljeg od 1 mm (**Slika 14**). Unutar svake posude i svakog tretmana prebrojane su proklijale sjemenke. Postotak klijavosti (G) izračunat je prema **formuli (8)** (Thabet i sur., 2018):

$$G(\%) = \frac{n}{N} * 100$$

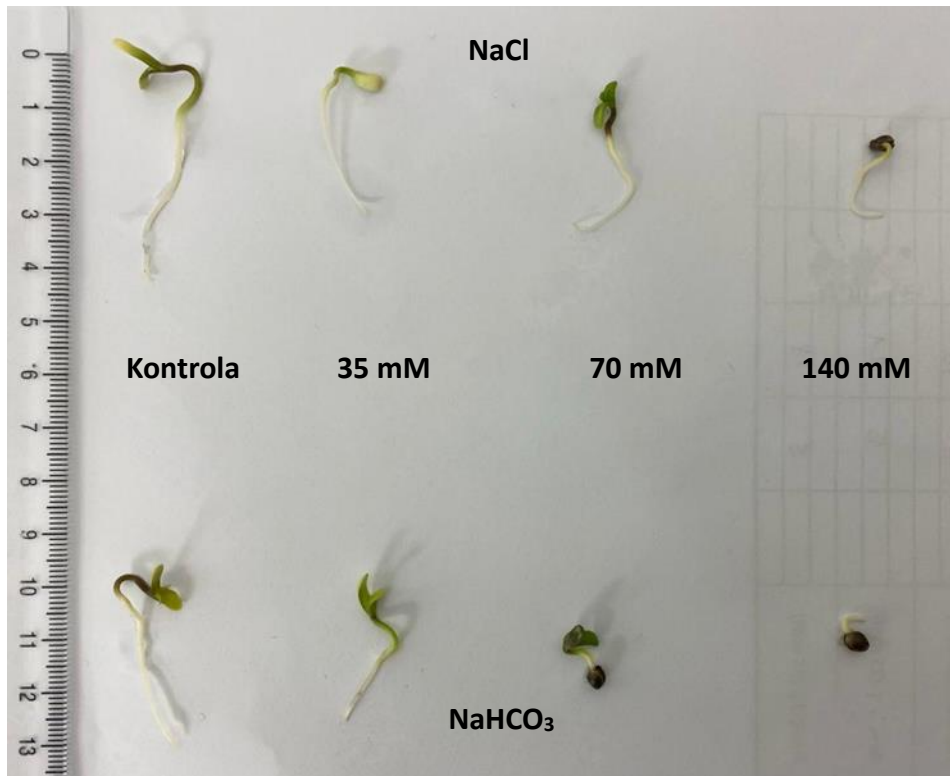
Gdje, n predstavlja broj proklijalih sjemenki, a N ukupan broj sjemenki u jednoj posudi.



**Slika 12** Pojavnost korjenčića kod genotipa *Santhica 70* nakon drugog dana rasta pri 35 mM. NaCl (Fotografirala: L. Spajić)

Duljine korijena i izdanka mjerena je ravnalom. Prilikom mjerenja odabrano je po 10 reprezentativnih uzoraka za svaku posudu i tretman (**Slika 15**). Duljina korijena zabilježena je nakon 4. dana rasta (1. postav) te nakon 7. dana rasta (2. postav).





**Slika 13** Izdanci i korijen genotipa *Santhica 70* kod trećeg dana uzgoja u uvjetima neutralnog (NaCl) i bazičnog (NaHCO<sub>3</sub>) solnog stresa pri koncentracijama 0, 35, 70 i 140 mM.

(Fotografirala: L. Spajić)

### 3.2.5.3. Određivanje postotka suhe tvari

Postotak suhe tvari korijena i izdanka određen je samo za drugi postav. Nakon 7 dana uzgoja, skupljeno je svježe tkivo korijena i izdanka. Uzorci tkiva su smješteni u Eppendorf epruvete volumena 2 ml, izvagani na analitičkoj vagi te sušeni u sušioniku tijekom 24 sata pri 90 °C. Nakon sušenja, izvagana je suha masa tkiva (**Slika 16**) a postotak suhe tvari izračunat je prema sljedećoj **formuli (9)**:

$$\text{Postotak suhe tvari} = \frac{(\text{masa tubice} + \text{svježa tvar}) - \text{masa prazne tubice}}{(\text{masa tubice} + \text{suha tvar}) - \text{masa prazne tubice}} \times 100$$



**Slika 14** Suha biomasa izdanka (lijevo) i korijena (desno).

(Fotografirala: L. Spajić)

### 3.3. Statistička obrada podataka

Podatci su obrađeni korištenjem jednofaktorijalne analize varijance (One-Way ANOVA). Za utvrđivanje statistički značajnih razlika između genotipova i tretmana korišten je Fisherov LSD test pomoću statističkog programa (Statistica 14.0.0.15) ( $P \leq 0.05$ ).

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Utjecaj procesnih parametara prešanja na dobivanje hladno prešanog ulja konoplje

**Tablica 2** Utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja s pužnicom dubine navoja 10 mm. Udio ulja u sjemenkama je 27,12 %, a udio vlage u sjemenkama je 8,44 %. Masa uzorka za prešanje je 1 kg.

DUBINA NAVOJA PUŽNICE: 10 mm										
Parametri prešanja				Sirovo i hladno prešano ulje			Pogača			Stupanj djelovanja preše (%)
N (mm)	T (°C)	F (Hz)	Vrijeme (min)	Volumen sirovog ulja (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Volumen finalnog ulja (mL)	Masa pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	
16	70	30	3,30	160	40	107	848,27	20,04	7,86	26,57
12	70	30	3,48	250	44	185	773,17	12,25	7,82	55,13
10	70	30	3,47	250	40	190	760,23	11,70	7,83	57,14

N= veličina otvora glave preše (mm), F= frekvencija elektromotora (Hz), T= temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Najveći volumen kako sirovog ulja (250 mL) tako i finalnog ulja (190 mL), dobiven je korištenjem najmanje veličine otvora glave preše za izlaz pogače od 10 mm (**Tablica 2**) pod uvjetom da su ostali parametri prešanja (temperatura grijača glave preše i frekvencija elektromotora) bili konstantni. Stupanj djelovanja preše najveći je kod korištenja najmanjeg otvora glave preše.

**Tablica 3** Utjecaj frekvencije elektromotora tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja s pužnicom dubine navoja 10 mm.

DUBINA NAVOJA PUŽNICE: 10 mm										
Parametri prešanja				Sirovo i hladno prešano ulje			Pogača			Stupanj djelovanja preše (%)
N (mm)	T (°C)	F (Hz)	Vrijeme (min)	Volumen sirovog ulja (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Volumen finalnog ulja (mL)	Masa pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	
16	70	40	2,28	130	41	80	882,73	21,46	7,65	21,54
16	70	30	3,30	160	40	107	848,27	20,04	7,86	26,57
16	70	25	3,53	190	41	130	802,81	17,19	8,10	36,84

N= veličina otvora glave preše (mm), F= frekvencija elektromotora (Hz), T= temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Pri konstantnim uvjetima temperature grijača glave preše i korištenjem iste veličine otvora glave preše, a promjenom frekvencije elektromotora, najveći volumen ulja dobiven je korištenjem najniže frekvencije od 25 Hz. Volumen sirovog ulja bio je 190 mL, dok je volumen finalnog ulja 130 mL (**Tablica 3**). Stupanj djelovanja preše najveći je kod najniže frekvencije elektromotora.

**Tablica 4** Utjecaj temperature grijača glave preše tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja s pužnicom dubine navoja 10 mm.

DUBINA NAVOJA PUŽNICE: 10 mm										
Parametri prešanja				Sirovo i hladno prešano ulje			Pogača			Stupanj djelovanja preše (%)
N (mm)	T (°C)	F (Hz)	Vrijeme (min)	Volumen sirovog ulja (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Volumen finalnog ulja (mL)	Masa pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	
10	70	25	4,24	245	46	190	754,52	11,64	7,64	57,45
10	85	25	4,25	260	49	200	751,88	10,98	7,32	60,00
10	100	25	4,18	250	50	195	762,17	10,99	7,36	59,87
10	110	25	4,19	250	51	205	746,42	10,85	7,55	60,45

N= veličina otvora glave preše (mm), F= frekvencija elektromotora (Hz), T= temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Korištenjem najviše temperature grijača glave preše (110 °C) prilikom prešanja dobiven je najveći volumen finalnog ulja (205 mL) uz uvjet da su ostali parametri prešanja konstantni (**Tablica 4**). Stupanj djelovanja preše najveći je kod najviše temperature grijača glave preše.

**Tablica 5** Utjecaj veličine otvora glave preše za izlaz pogače tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Futura 83* na iskorištenje ulja s pužnicom dubine navoja 10 mm. Udio ulja u sjemenkama je 30,15 %, a udio vlage u sjemenkama je 7,43 %.

DUBINA NAVOJA PUŽNICE: 10 mm										
Parametri prešanja				Sirovo i hladno prešano ulje			Pogača			Stupanj djelovanja preše (%)
N (mm)	T (mm)	F (Hz)	Vrijeme (min)	Volumen sirovog ulja (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Volumen finalnog ulja (mL)	Masa pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	
16	70	30	3,41	175	41	115	826,15	19,45	6,81	35,92
10	70	30	3,56	199	44	188	749,22	10,88	6,76	64,17

N= veličina otvora glave preše (mm), F= frekvencija elektromotora (Hz), T= temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Najveći volumen sirovog ulja (199 mL) i finalnog ulja (188 mL), dobiven je korištenjem najmanje veličine otvora glave preše za izlaz pogače od 10 mm (**Tablica 5**) pod uvjetom da su ostali parametri prešanja (temperatura grijača glave preše i frekvencija elektromotora) bili konstantni. Stupanj djelovanja preše najveći je kod korištenja najmanjeg otvora glave preše.

**Tablica 6** Utjecaj frekvencije elektromotora tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Futura 83* na iskorištenje ulja s pužnicom dubine navoja 10 mm.

DUBINA NAVOJA PUŽNICE: 10 mm										
Parametri prešanja				Sirovo i hladno prešano ulje			Pogača			Stupanj djelovanja preše (%)
N (mm)	T (mm)	F (Hz)	Vrijeme (min)	Volumen sirovog ulja (mL)	Temp. sirovog ulja (°C)	Volumen finalnog ulja (mL)	Masa pogače (g)	Udio ulja u pogači (%)	Udio vode u pogači (%)	
16	70	40	3,26	141	40	93	879,23	20,98	6,76	30,91
16	70	30	3,47	175	41	115	826,15	19,45	6,81	35,92
16	70	25	3,68	210	42	152	780,36	16,39	7,16	45,80

N= veličina otvora glave preše (mm), F= frekvencija elektromotora (Hz), T= temperatura grijača glave preše kod izlaza pogače (°C)

Pri najmanjoj frekvenciji elektromotora (25 Hz) dobiven je najveći volumen sirovog (210 mL) i finalnog (152 mL) ulja. U skladu s time, stupanj djelovanja preše također je bio najveći kod najmanje frekvencije elektromotora. Ostali parametri prešanja bili su nepromijenjeni.

#### 4.2. Ispitivanje osnovnih parametara kvalitete dobivenog hladno prešanog ulja konoplje

**Tablica 7** Osnovni parametri kvalitete proizvedenog hladno prešanog konopljinog ulja sorte *Santhica 70* u usporedbi s maksimalnim dopuštenim vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19).

Parametar kvalitete ulja	Rezultat	Max. vrijednost prema Pravilniku
Peroksidni broj, Pbr (mmol O <sub>2</sub> /kg)	1,99	7
Slobodne masne kiseline, SMK (%)	0,84	2
Vlaga (%)	0,055	0,4
Netopljive nečistoće, NN (%)	0,35	0,05

Analizom osnovnih parametara kvalitete hladno prešanog ulja sorte *Santhica 70* dobivene su vrijednosti peroksidnog broja koji iznosi 1,99 mmol O<sub>2</sub>/kg, udio slobodnih masnih kiselina od 0,84 % , udio vlage 0,055 % i udio netopljivih nečistoća od 0,63 % (**Tablica 5**). Sve vrijednosti su u granicama maksimalnog dopuštenih razina prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima, osim udjela netopljivih nečistoća čija vrijednost odstupa od dopuštenih vrijednosti prema Pravilniku.

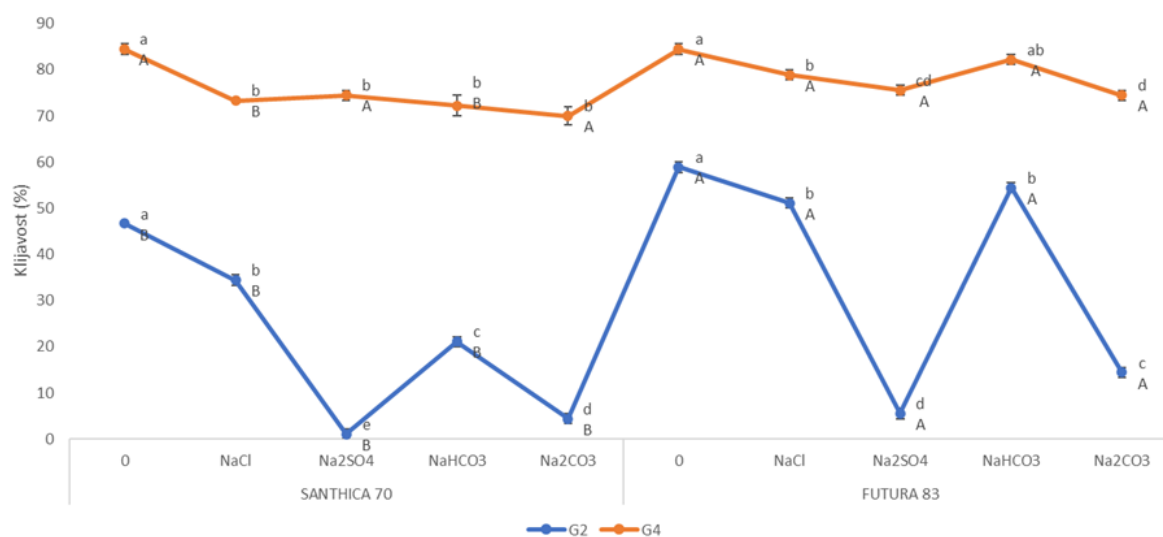
#### 4.3. Učinak solnog stresa na klijanje i rast korijena prvog postava

Prvi postav eksperimenta odnosi se na preliminarno istraživanje u kojem su za izazivanje neutralnog i alkalnog stresa na dva genotipa konoplje korištene četiri soli: NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pri koncentraciji od 100 mM.

##### 4.3.1. Učinak solnog stresa na klijanje

Rezultati pokazuju da je izlaganje sjemena na svim otopinama soli (NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) uzorkovalo značajnu redukciju postotka klijavosti u odnosu na kontrolu u obje

promatrane točke (2. i 4. dan) za oba genotipa konoplje (**Slika 17**). Nakon drugog dana (G2), sjeme genotipa *Santhica 70* pokazalo je najbolju klijavost pri NaCl tretmanu, u odnosu na tretmane drugim solima. Unutar genotipa *Futura 83*, također nakon drugog dana uzgoja, nije bilo značajne razlike u klijavosti između NaCl i NaHCO<sub>3</sub> tretmana. Konačno, najslabiji postotak klijavosti pokazalo je sjeme na otopini Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u oba genotipa. U kasnijoj fazi uzgoja (G4), nije bilo statistički značajne razlike između solnih tretmana u klijavosti genotipa *Santhica 70*. Unutar genotipa *Futura 83*, biljke uzgojene na NaCl i NaHCO<sub>3</sub> tretmanima pokazuju bolju klijavost od onih uzgojenih na Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Uspoređujući razlike u klijavosti (G2) između genotipova, vidljivo je da genotip *Futura 83* pokazuje veću otpornost na stres na svim solnim tretmanima u odnosu na genotip *Santhica 70*. Nadalje, genotip *Futura 83* pokazala je bolju klijavost (G2) od genotipa *Santhica 70* i na kontroli. U kasnijoj fazi uzgoja (G4) genotip *Futura 83* pokazuje bolju klijavost od genotipa *Santhica 70* na NaCl i NaHCO<sub>3</sub> tretmanima, dok na preostala dva tretmana kao i na kontroli nije bilo statistički značajne razlike u postotku klijavosti između ova dva genotipa.

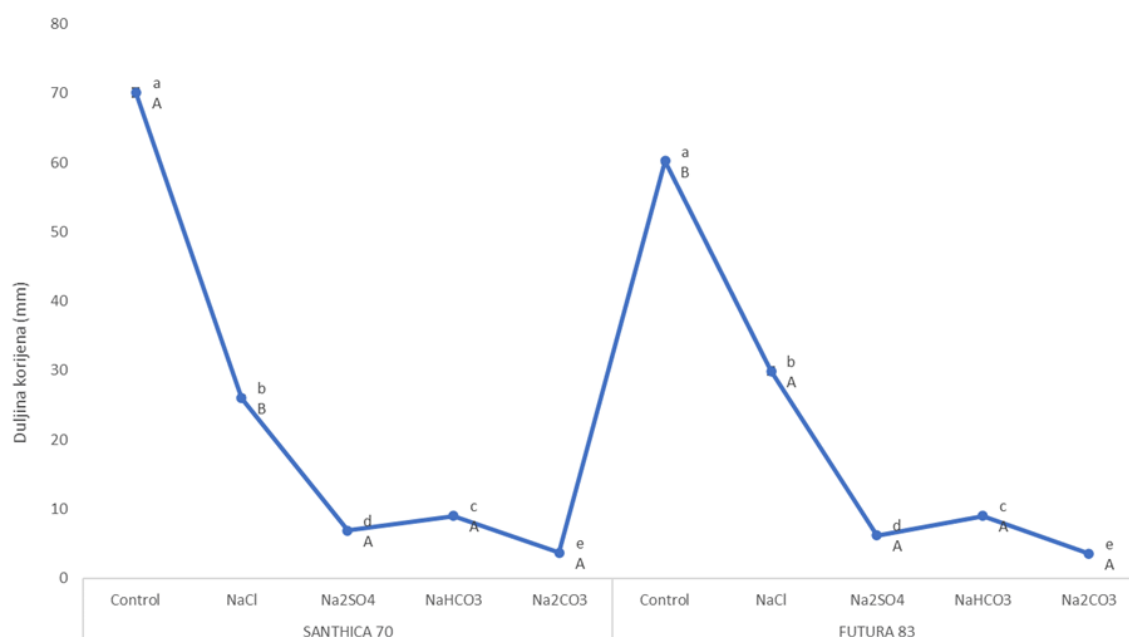


**Slika 15** Klijavost genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) pri izlaganju neutralnom (NaCl i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i alkalnom (NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) solnom stres na kontroli i tretmanu 100 mM tijekom vremena. G2: 2. dan (G2), G4: 4. dan uzgoja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 replike ± standardna devijacija (S.D.) Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.



### 4.3.2. Učinak solnog stresa na rast korijena

Neutralni i alkalni stres imali su negativan učinak na rast korijena oba genotipa konoplje u odnosu na kontrolu (**Slika 18**). Slično kao i kod klijanja, otopina NaCl imala je najmanji inhibitorni učinak na rast u odnosu na ostale solne tretmane dok je otopina Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> uzrokovala najjaču redukciju rasta u oba genotipa konoplje. U kontrolnim uvjetima *Santhica 70* razvila je duži korijen u odnosu na *Futura 83*. Suprotno, na NaCl tretmanu *Futura 83* razvila je značajno duži korijen u odnosu na genotip *Santhica 70*.



**Slika 16** Rast korijena genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) pri izlaganju neutralnom (NaCl i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i alkalnom (NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) solnom stresu na kontroli i tretmanu 100 mM nakon 4. dana rasta. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 replike ± standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.

### 4.4. Učinak solnog stresa na klijanje i rast korijena drugog postava

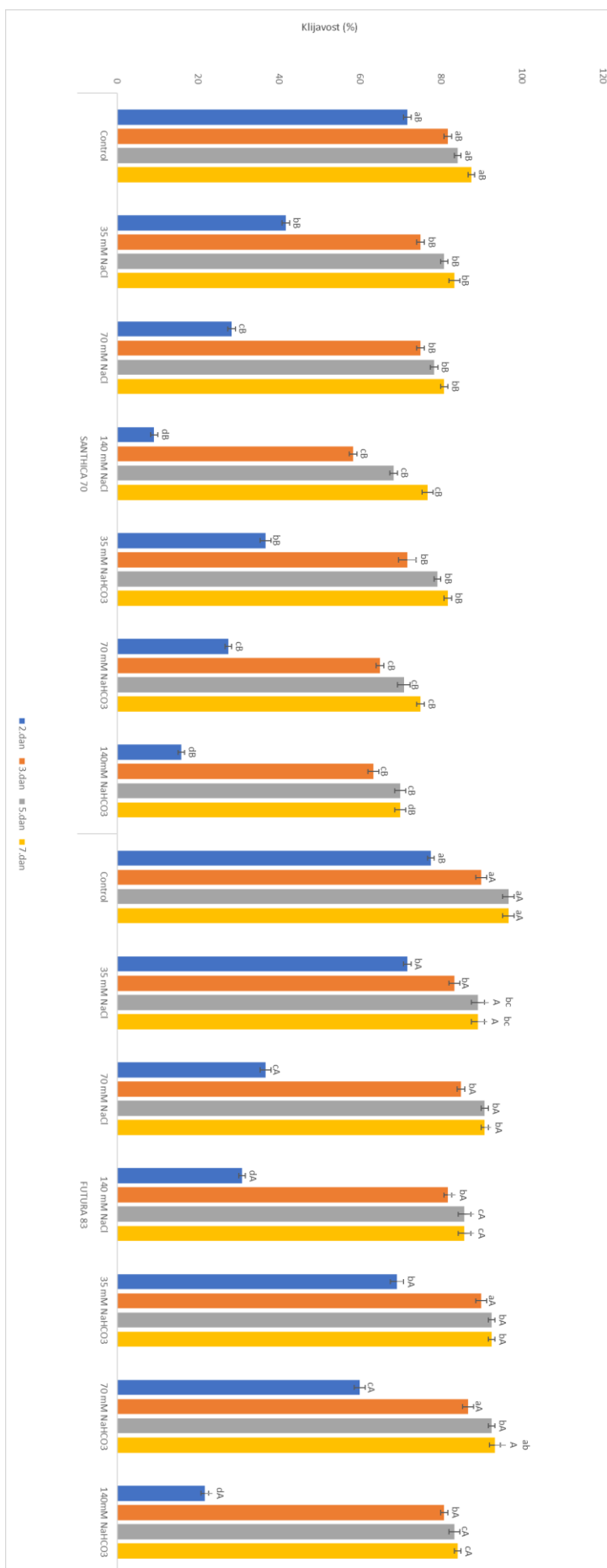
Drugi postav eksperimenta postavljen je na temelju rezultata dobivenih preliminarnim istraživanjem. U tom postavu najmanji inhibitorni učinak na klijanje i rast od svih neutralnih

solni pokazala je otopina NaCl, dok je najmanji inhibitorni učinak u skupini alkalnih soli imala otopina NaHCO<sub>3</sub>. Koncentracije odabranih otopina iznosile su 35, 70, 140 mM.

#### 4.4.1. Učinak solnog stresa na klijanje

Primjena solnog stresa (NaCl i NaHCO<sub>3</sub>) na svim tretmanima (35, 70 i 140 mM) u odnosu na kontrolne biljke, smanjila je postotak klijavosti u oba genotipa u svim vremenskim točkama (**Slika 19**). Također, s porastom koncentracije pojedine soli u ranoj fazi klijanja (G2) došlo je do pada klijavosti. Međutim, tijekom vremena razlike između viših i nižih koncentracija soli nisu uočene. Primjerice, broj iskljanih zrna (G3, G5 i G7) pri 35 mM NaCl nije bio značajno povećan u odnosu na 70 mM koncentraciju iste soli u oba genotipa. Čak štoviše, u Future 83 postotak klijavosti (G3, G5 i G7) pri najvećoj (140 mM) koncentraciji NaCl nije se razlikovao od sjemenki uzgojenih pri 35 i 70 mM. Negativne posljedice neutralnog stresa najjačeg intenziteta (140 mM NaCl) postale su vidljive s vremenom. Tako je u oba genotipa nakon 7. dana (u Future 83 i nakon 5. dana) postotak klijavosti bio veći pri 70 mM NaCl nego pri koncentraciji 140 mM NaCl. Za razliku od neutralnog solnog stresa, u genotipa *Futura 83* primjena alkalnog stresa u najvišoj koncentraciji (140 mM NaHCO<sub>3</sub>) značajno je smanjila klijavost (G3, G5 i G7) u odnosu na koncentracije od 35 i 70 mM NaHCO<sub>3</sub>, dok u genotipa *Santhica 70* nije nađena značajnost u klijavosti (G3, G5 i G7) između alkalnom solnog stresa najjačeg intenziteta (140 mM NaHCO<sub>3</sub>) i stresa umjerenog intenziteta (70 mM NaHCO<sub>3</sub>).

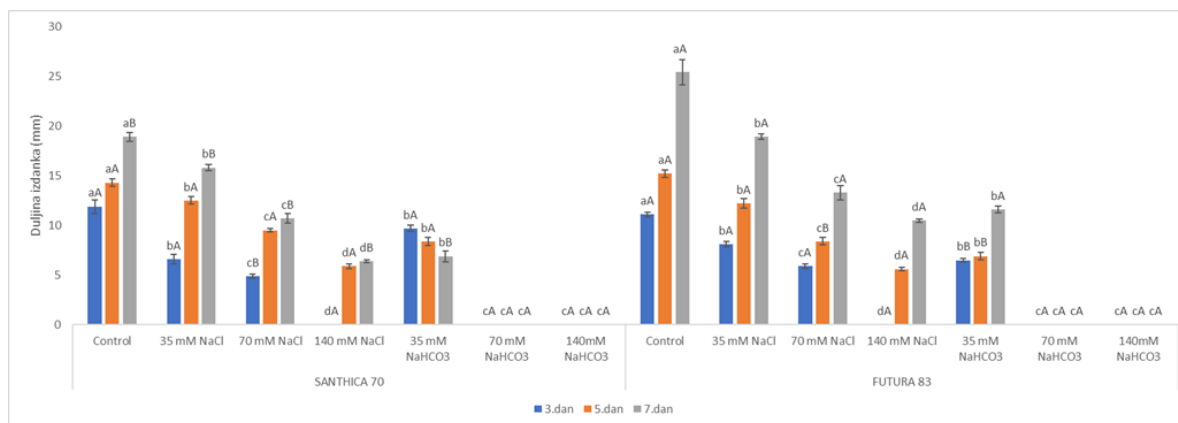
Uspoređujući postotak klijavosti između genotipova pri istom tretmanu i koncentraciji, vidljivo je da genotip *Futura 83* bolji u odnosu na genotip *Santhica 70*, na oba solna tretmana i kontroli nakon 3. (G3), 5. (G5) i 7. (G7) dana rasta. Izuzetak su kontrolne biljke 2. dana rasta (G2), kod kojih nije bilo genotipskih razlika u postotku klijavosti.



**Slika 17** Klijavost genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) pri izlaganju neutralnom (NaCl) i alkalnom (NaHCO<sub>3</sub>) solnom stresu na kontroli i na tretmanima pri koncentracijama soli od 35, 70 i 140 mM nakon 2., 3., 5. i 7. dana uzgoja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 replike ± standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.

#### 4.4.2. Učinak solnog stresa na rast izdanka

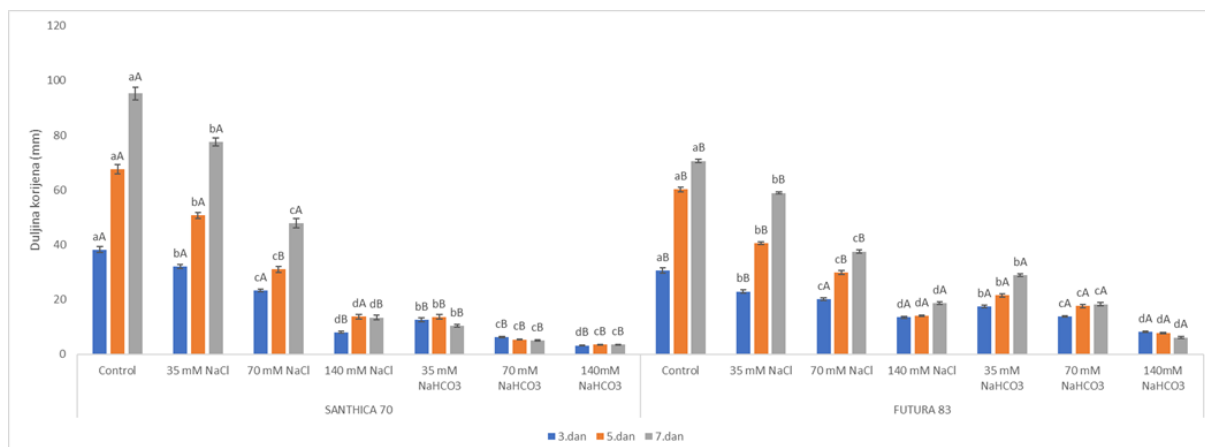
Biljke izložene bazičnom i neutralnom solnom stresu imale su kraći izdanak u odnosu na netretirane u svim vremenskim točkama (**Slika 20**). Nadalje, povećanje koncentracije soli u oba tretmana, djelovalo je negativno na rast izdanka u oba genotipa. Tako su veće koncentracije otopine NaHCO<sub>3</sub> (70 i 140 mM) naknadno inhibirale razvoj izdanka (5. i 7. dan rasta) u odnosu na 35 mM otopinu NaHCO<sub>3</sub>. Za razliku od bazičnog solnog stresa, neutralna sol primijenjena u većoj koncentraciji (140 mM NaCl) uzrokovala je raniju inhibiciju rasta izdanka (3. dan) a izdanci su uočeni tek 5. i 7. dana rasta. Usporedbom duljine izdanka između genotipova na istom tretmanu, uočeno je da je genotip *Futura 83* razvio dulji izdanak od genotipa *Santhica 70* pri koncentraciji 0, 35, 70 i 140 mM NaCl u krajnjoj vremenskoj točki (7. dan rasta). Izuzetak je bila 70 mM otopina NaCl koja je u genotipa *Santhica 70* nakon 5. dana potaknula brži rast izdanka nego u genotipa *Futura 83*. Genotipske razlike na bazičnom solnom stresu bile su jedino izražene pri 35 mM otopini NaHCO<sub>3</sub>. Pri ovim uvjetima genotip *Santhica 70* imao je duži izdanak od genotipa *Futura 83* u ranijim fazama rasta (3. i 5. dana), dok su nakon 7. dana rasta izdanci genotipa *Futura 83* bolje rasli od izdanaka genotipa *Santhica 70*.



**Slika 18** Rast izdanka genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) na kontroli i tretmanima pri izlaganju neutralnom (NaCl) i alkalnom (NaHCO<sub>3</sub>) solnom stresu na kontroli i na tretmanima pri koncentraciji 35, 70 i 140 mM nakon 3., 5. i 7. dana uzgoja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost 3 replike ± standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.

#### 4.4.3. Učinak solnog stresa na rast korijena

S povećanjem intenziteta bazičnog i neutralnog solnog stresa rast korijena u oba genotipa se usporio u svim vremenskim točkama (**Slika 21**). Izuzetak je korijen genotipa *Santhica 70* u kojega nije bilo značajnosti u brzini rasta između otopine NaHCO<sub>3</sub> koncentracije 70 mM i 140 mM. Duljina korijena genotipa *Santhica 70* bila je veća od duljine korijena genotipa *Futura 83* pri otopini NaCl koncentracije 35 mM (3., 5. i 7. dan) i 70 mM (7. dan). Iznenadujuće, pri najvećoj koncentraciji neutralnog solnog stresa (140 mM NaCl), genotip *Futura 83* razvio je dulji korijen od genotipa *Santhica 70* (3. i 7. dana rasta). Na alkalnom solnom stresu korijen genotipa *Futura 83* bio je duži od korijena genotipa *Santhica 70* na svim koncentracijama NaHCO<sub>3</sub> i u svim vremenskim točkama.

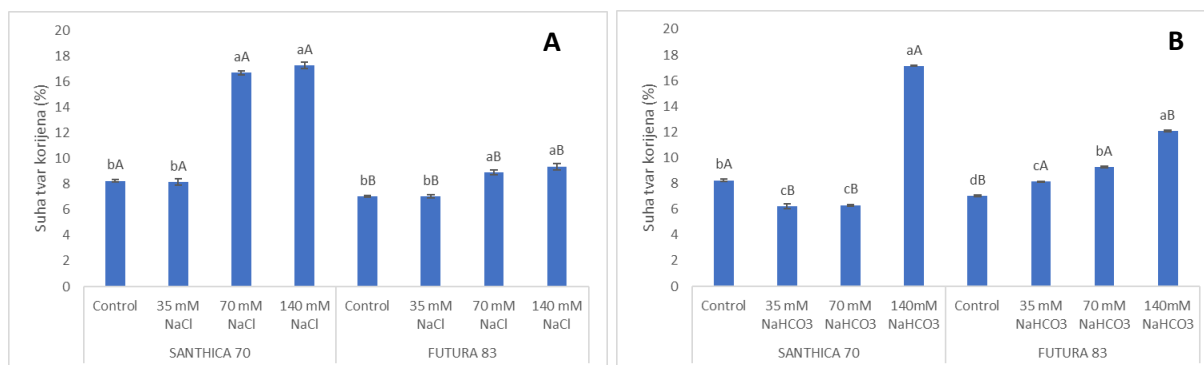


**Slika 19** Rast korijena genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) na kontroli i tretmanima pri izlaganju neutralnom (NaCl) i alkalnom (NaHCO<sub>3</sub>) solnom stresu pri koncentraciji 35, 70 i 140 mM nakon 3., 5. i 7. dana uzgoja. Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost 3 replike ± standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.

## 4.5. Učinak solnog stresa na suhu biomasu

### 4.5.1. Suha biomasa korijena

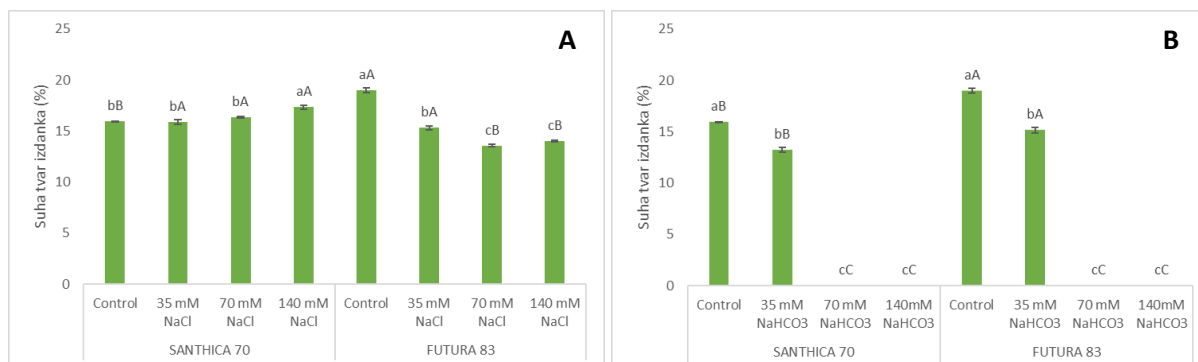
Suha biomasa korijena oba genotipa bila je značajno veća na kontroli te neutralnom stresu najniže koncentracije (35 mM NaCl) u odnosu na otopine koncentracije 70 i 140 mM NaCl (**Slika 22A**). Nadalje, bazični solni stres najjačeg intenziteta (140 mM NaCl) uzrokovao je redukciju suhe mase korijena u oba genotipa u odnosu na kontrolu i ostale koncentracije (**Slika 22A**). U genotipa *Santhica 70* na solnim tretmanima (35 i 70 mM NaHCO<sub>3</sub>) biomasa korijena bila je manja u odnosu na kontrolne biljke, dok je u genotipa *Futura 83* zabilježeno povećanje biomase s porastom koncentracije alkalne soli (**Slika 22B**). Tako je korijen genotipa *Futura 83* imao veću masu pri otopinama 35 i 70 mM NaHCO<sub>3</sub> nego na kontroli, odnosno, pri otopini 70 mM NaHCO<sub>3</sub> pokazao značajni porast biomase u odnosu na alkalni stres najslabijeg intenziteta (35 mM NaHCO<sub>3</sub>). Genotipski odgovor na solni stres, ovisio je o vrsti solnog stresa. Naime, genotip *Santhica 70* imao je značajno povećanu suhu masu korijena na neutralnoj soli na svim koncentracijama i kontroli, dok je genotip *Futura 83* pokazao veće vrijednosti na alkalnoj soli.



**Slika 20** Suha tvar korijena na neutralnom (A) i alkalnom solnom stresu (B) u genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) na kontroli i tretmanima pri koncentraciji 35, 70 i 140 mM nakon 7. dana uzgoja. Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost 3 replike  $\pm$  standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.

#### 4.5.2. Suha biomasa izdanka

U genotipa *Santhica 70*, slično kao i u korijena, suha masa izdanka bila je veća na NaCl tretmanu najjačeg intenziteta (140 mM) (**Slika 23A**). Suprotno, genotip *Futura 83* pokazao je redukciju mase izdanka na svim koncentracijama otopine NaCl u odnosu na kontrolu. Međutim, primjena neutralnog solnog stresa niže koncentracije (35 mM NaCl) u istog genotipa uzrokovala je porast suhe biomase izdanka u odnosu na otopine 70 i 140 mM NaCl. Aplikacija najniže koncentracije alkalne soli (35 mM NaHCO<sub>3</sub>) uzrokovala je pad biomase izdanka u odnosu na kontrolu u oba genotipa (**Slika 23B**). U slučaju neutralnog solnog stresa, genotip *Santhica 70* pokazao je veću biomasu izdanka od genotipa *Futura 83* (70 i 140 mM NaCl) dok su izdanci genotipa *Futura 83* imali veću suhu masu pri 35 mM NaHCO<sub>3</sub> od genotipa *Santhica 70*. Primjena bazičnog solnog stresa umjerenog i jakog intenziteta (70 i 140 mM NaHCO<sub>3</sub>) uzrokovala je odsutnost izdanka u oba genotipa (**Slike 23A i 23B**).



**Slika 21** Suha tvar izdanka na neutralnom (A) i alkalnom solnom stresu (B) u genotipova konoplje (*Santhica 70* i *Futura 83*) na kontroli i tretmanima pri koncentraciji 35, 70 i 140 mM nakon 7. dana uzgoja. Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost 3 replike  $\pm$  standardna devijacija (S.D.). Velika slova iznad stupaca označavaju statistički značajne razlike između genotipova unutar istog tretmana, dok mala slova označavaju razlike između različitih koncentracija istog tretmana unutar genotipa.



## **5. RASPRAVA**

Analitičkim metodama ustanovljena je količina ulja u sjemenkama konoplje sorte *Santhica 70* te iznosi 27,12 % i udio vlage u tim sjemenkama 8,44 %, dok udio ulja u sjemenkama druge sorte, *Futura 83*, iznosi 30,15 %, a udio vlage 7,43 %.

Rezultati istraživanja učinka različitih procesnih parametara kao što su dubina navoja pužnice, veličina otvora glave preše za izlaz pogače, frekvencija elektromotora i temperatura grijača glave preše na iskorištenje ulja tijekom procesa prešanja sjemenki konoplje prikazani su u Tablicama 2 - 6.

U **Tablici 2** prikazani su rezultati utjecaja veličine otvora glave preše za izlaz pogače tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja koristeći pužnicu dubine navoja 10 mm, pri konstantnoj temperaturi glave preše (70°C) i frekvenciji elektromotora (30 Hz). Iz podataka u tablici vidljivo je da je vrijeme trajanja prešanja bilo najkraće prilikom korištenja nastavka najvećeg promjera N=16 mm, te je iznosilo 3 minute i 30 sekundi. Nadalje, korištenjem istog nastavka dobiven je najmanji volumen sirovog ulja u odnosu na ostale veličine nastavaka. Volumen ulja nakon sedimentacije i filtracije iznosio je 107 ml što predstavlja najmanji volumen finalnog ulja u odnosu na ostale veličine nastavaka. Stupanj djelovanja preše iznosi 26,57 %. Korištenjem veličine otvora glave preše promjera 12 mm i 10 mm, dobiven je jednak volumen sirovog ulja i to 250 ml, dok je više finalnog ulja dobiveno korištenjem nastavka veličine 10 mm (190 mL). Sukladno tome, stupanj djelovanja preše za ovaj nastavak iznosi 57,14% što je ujedno i najveći stupanj djelovanja preše u usporedbi s ostalim rezultatima u tablici. Udio zaostalog ulja u pogači najveći je kod korištenog nastavka veličine 16 mm, a najmanji kod nastavka veličine 10 mm. Usporedbom i analizom podataka vidljivo je da smanjenjem veličine otvora glave preše zaostaje manje ulja u pogači, odnosno veći je volumen finalnog ulja pa samim time i stupanj djelovanja preše. To je rezultat povećanja tlaka primjenom manjih promjera otvora što znači veće iskorištenje ulja.

U **Tablici 3** prikazani su rezultati utjecaja frekvencije elektromotora tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja koristeći pužnicu dubine navoja 10 mm, pri konstantnoj veličini otvora glave preše (16 mm) i temperature glave preše (70°C). Volumen sirovog ulja obrnuto je proporcionalan frekvenciji elektromotora, odnosno smanjenjem frekvencije elektromotora, povećava se volumen kako sirovog ulja tako i finalnog ulja. Prema tome, najmanje ulja zaostaje u pogači koja je izlazila iz preše pri frekvenciji elektromotora 25 Hz, kada je i stupanj djelovanja preše bio najveći i iznosio 36,84 %. Najviši udio zaostalog ulja

u pogači je kod frekvencije elektromotora 40 Hz, kada je i stupanj djelovanja preše iznosio najmanje i to 21,54 %. Temperatura sirovog ulja kod svake frekvencije elektromotora je  $40 \pm 1^\circ\text{C}$ . Vrijeme prešanja najkraće je kod najveće korištene frekvencije elektromotora (2,28 min), dok se smanjenjem frekvencije vrijeme prešanja produžuje na maksimalno 3,53 min. Dakle, smanjenjem frekvencije elektromotora postiže se veće iskorištenje ulja.

**Tablica 4** prikazuje rezultate utjecaja temperature grijača glave preše tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Santhica 70* na iskorištenje ulja koristeći pužnicu dubine navoja 10 mm, pri konstantnoj veličini otvora glave preše (10 mm) i frekvenciji elektromotora (25 Hz). Pri temperaturi glave preše  $70^\circ\text{C}$ , dobiven je najmanji volumen kako sirovog (245 mL), tako i finalnog ulja (190 ml). Također, najveći udio zaostalog ulja u pogači je kod najniže temperature te iznosi 11,64 %. Prema tome, stupanj djelovanja preše je najmanji i iznosi 57,45 %. Povećanjem temperature glave preše, povećava se i volumen dobivenog ulja, a smanjuje udio ulja u pogači. Najviše finalnog ulja dobiveno je pri najvišoj temperaturi glave preše ( $110^\circ\text{C}$ ) i to 205 ml, dok je volumen sirovog ulja bio 250 mL. Općenito, povećanjem temperature glave preše, povećava se iskorištenje ulja.

U **Tablici 5** prikazani su rezultati utjecaja veličine otvora glave preše za izlaz pogače tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Futura 83* na iskorištenje ulja koristeći pužnicu dubine navoja 10 mm, pri konstantnom temperaturi glave preše ( $70^\circ\text{C}$ ) i frekvenciji elektromotora (30 Hz). Iz rezultata u tablici vidljivo je da je, jednako kao kod prešanja sorte *Santhica 70*, najveći volumen sirovog i finalnog ulja dobiven primjenom najmanjeg otvora glave preše (10 mm), te je stupanj iskorištenja preše iznosio je 64,17 %. Povećanjem veličine otvora glave preše, zaostaje više ulja u pogači, te je manje iskorištenje prešanja.

**Tablica 6** prikazuje rezultate utjecaja frekvencije elektromotora tijekom prešanja sjemenki konoplje sorte *Futura 83* na iskorištenje ulja koristeći pužnicu dubine navoja 10 mm, pri konstantnoj veličini otvora glave preše (16 mm) i temperature glave preše ( $70^\circ\text{C}$ ). Koristeći najnižu frekvenciju elektromotora postignuto je najbolje iskorištenje prešanja, odnosno dobiven je najveći volumen ulja (152 mL) i stupanj djelovanja preše bio je najveći i iznosio je 45,80 %. Povećanjem frekvencije elektromotora smanjuje se stupanj djelovanja preše i volumen dobivenog ulja, a suprotno tome povećava se udio zaostalog ulja u pogači.

**Tablica 7** prikazuje osnovne parametri kvalitete hladno prešanog konopljinog ulja, uključujući peroksidni broj, udio slobodnih masnih kiselina, vlage i udio netopljivih nečistoća. Te vrijednosti uspoređene su s dopuštenim vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19). Analizom rezultata uočava se da su vrijednosti peroksidnog broja, slobodnih masnih kiselina i udjela vlage u skladu s navedenim Pravilnikom. Međutim, značajno je napomenuti da udio netopljivih nečistoća iznosi 0,35%, što nije u skladu s Pravilnikom jer maksimalna dopuštena vrijednost iznosi 0,05 %. Zbog toga je potrebno produžiti vrijeme trajanja sedimentacije (taloženja sirovog ulja) kako bi udio netopljivih nečistoća bio do vrijednosti propisane Pravilnikom.

Rezultati prvog postava pokazuju da je izlaganje sjemenki konoplje solnom stresu korištenjem 100 mM otopina soli NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> u oba genotipa (*Santhica 70* i *Futura 83*) imalo za posljedicu smanjenje postotka klijavosti u odnosu na kontrolne biljke u obje promatrane točke (2. i 4. dan) (**Slika 17**). Ovo može bit posljedica pada osmotskog potencijala zbog ulaska Na<sup>+</sup> u biljku i ograničenog unosa vode (Baha, 2022). Nakon 2. dana uzgoja, genotip *Santhica 70* pokazao je najbolju klijavost na NaCl tretmanu u odnosu na ostale solne tretmane, dok je kod sjemena genotipa *Futura 83* uočena podjednako dobra klijavost na NaCl i NaHCO<sub>3</sub> tretmanima ukazujući na veći raspon tolerantnost ovog genotipa na različiti tip solnoga stresa. Slično je uočeno i kod soje te vrste *Chenopodium glaucum* u kojih je sjeme izloženo alkalnom stresu (NaHCO<sub>3</sub>) pokazalo veću klijavost od sjemena na neutralnoj soli (NaCl) (De Lacerda i sur. 2003; Chen i sur., 2023). Najjača redukcija klijavosti u oba genotipa zabilježena je na otopini Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> u odnosu na kontrolu i ostale solne tretmane nakon 2. dana uzgoja (**Slika 17**). Slični rezultati dobiveni su i u istraživanju (Hu i sur., 2018) koji su pokazali da 150 mM otopina Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> jače inhibira klijanje konoplje nego otopina NaCl iste koncentracije. Suprotno, veća toksičnost NaCl od Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> uočena je i u riže koja ima prirodno slabu toleranciju saliniteta uzrokovanog NaCl (Irakoze i sur., 2020). Autori ovo tumače slabijom mobilizacijom SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> u biljku u odnosu na Cl<sup>-</sup>. Iz ovoga slijedi kako konoplja možda koristi dodatne adaptivne mehanizme pomoću kojih bolje tolerira povišene koncentracije Cl<sup>-</sup> u stanici. Za razliku od genotipa *Santhica 70*, *Futura 83* pokazao je značajnije bolju klijavost i nakon 4. dana rasta na solnom stresu izazvanom otopinama NaCl i NaHCO<sub>3</sub> iz čega slijedi da ovaj genotip pokazuje veću toleranciju. Slično, veću toleranciju saliniteta, pokazao je tolerantni genotip konoplje (YM5) u odnosu na osjetljivi kultivar (var. Bamahuoma) (Hu i sur., 2018).

Primjena alkalnih i neutralnih soli inhibirala je rast korijena u oba genotipa u odnosu na kontrolne biljke iako je negativni učinak ovisio o vrsti soli (**Slika 18**). Naime, najduži korijen razvio se na NaCl tretmanu kod oba genotipa, dok je najveći inhibitory učinak na rast korijena uzrokovala primjena Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. U komparativnoj studiji usmjerenoj na provjeru učinka alkalnog i neutralnog solnog stresa kod soje (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), primjena 100 mM otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> uzrokovala je jaču inhibiciju rasta te pad aktivnosti fotosintetskih sustava (PSII i PSI) nego 100 mM otopine Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub> i NaCl (Zhang i sur., 2018). Nadalje, zob (*Avena sativa* L.) tretirana otopinom Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pokazala je značajno povećanu inhibiciju rasta u odnosu na otopinu NaHCO<sub>3</sub> (Gao i sur., 2012). Autori ovo tumače povećanim utroškom energije povezanim s izbacivanjem unutarstaničnog Na<sup>+</sup> u ekstracelularni prostor i pohranom Na<sup>+</sup> vakuole, sintezom kompatibilnih osmolita, smanjenom fotosintetskom aktivnosti te povećanom permeabilnosti membrana. Uspoređujući duljinu korijena između genotipova, *Futura 83* razvila je dulji korijen na NaCl tretmanu od genotipa *Santhica 70* iz čega slijedi da *Futura 83* bolje tolerira solni stres uzrokovan NaCl.

U drugom postavu neutralna (NaCl) i alkalna (NaHCO<sub>3</sub>) sol uzrokovale su smanjenje klijavosti i rasta korijena i izdanka u odnosu na kontrolne biljke, na svim koncentracijama (35, 70 i 140 mM) te svim vremenskim točkama (G2, G3, G5 i G7) (**Slika 19**). Redukcija klijavosti i rasta na solnim tretmanima može biti posljedica oksidacijskog stresa. Naime, solni stres izaziva oksidacijski stres kojeg prati povećana sinteza reaktivnih kisikovih (ROS) i dušikovih čestica (RNS) uzrokujući denaturaciju proteina, oštećenja biomembrana i nukleinskih kiselina, inhibiciju fotosinteze, ekspresiju specifičnih gena i indukciju stresnih proteina (Omoto i sur., 2012; Marček i sur., 2014; 2016). Najvidljivija razlika u klijavosti oba genotipa bila je u najranijoj fazi uzgoja, odnosno drugoga dana iz čega se može zaključiti da je rana faza klijanja najosjetljivija. Nadalje, rezultati klijavosti pokazuju da je 7. dana rasta klijavost oba genotipa bila značajno smanjena (140 mM NaCl) iz čega slijedi kako duže izlaganje sjemena povišenoj koncentraciji NaCl imalo inhibitory učinak na daljnji rast i razvoj. Slično je navedeno i u istraživanju odgovora duhana na stres izazvan NaCl u kojemu je povećanje koncentracija soli značajno smanjilo klijavost i razvojne parametre (Yep i sur., 2020). Genotip *Futura 83*, na oba solna tretmana (NaCl i NaHCO<sub>3</sub>) pokazao je bolju klijavost od genotipa *Santhica 70* pri istom tretmanu i koncentraciji iz čega se može zaključiti da se radi o tolerantnom genotipu što je i potvrđeno u prvom postavu.

Biljke oba genotipa izložene alkalnom i neutralnom solnom stresu imale su kraći izdanak i korijen u odnosu na netretirane u svim vremenskim točkama, s time da je negativniji učinak bio vidljiviji s povećanjem koncentracije soli (**Slike 20 i 21**). Izuzetak je korijen genotipa *Santhica 70* u kojega nije bilo značajnosti u duljini na alkalnom stresu (70 mM NaHCO<sub>3</sub>) nakon 5. i 7. dana, iz čega slijedi da korijen genotipa *Santhica 70* možda ranije akumulira NaHCO<sub>3</sub> što inhibira njegov rast nego *Futura 83*, kod koje je duljina korijena petog dana (70 mM NaHCO<sub>3</sub>) bila veća od duljine korijena uzgojenog sedmog dana. Ovo potvrđuje i analiza suhe biomase korijena rađena nakon 7. dana, koja je u Future 83 značajno porasla pri 70 mM NaHCO<sub>3</sub> u odnosu na kontrolu i 35 mM otopinu NaHCO<sub>3</sub> (**Slika 22**). Uspoređujući odgovor genotipova na stres izazvan otopinom NaCl, vidljivo je da je izdanak genotipa *Futura 83* bio duži od izdanka genotipa *Santhica 70* pri svim NaCl tretmanima (0, 35, 70 i 140 mM). Također, isti je genotip imao duži korijen na neutralnom stresu najjačeg intenziteta (140 mM NaCl) što potvrđuje da *Futura 83* uspješno tolerira povećane koncentracije NaCl. Genotip *Futura 83* na alkalnoj soli (35 mM NaHCO<sub>3</sub>) razvio je duži izdanak (7. dan) i imao veći postotak suhe mase izdanka od genotipa *Santhica 70*. Nadalje, korijen genotipa *Futura 83* bio je dulji od korijena genotipa *Santhica 70* na svim koncentracijama i vremenskim točkama te pokazao značajno povećanje suhe tvari (35 i 70 mM NaHCO<sub>3</sub>). Ovo govori da osim što pokazuje toleranciju neutralnog solnog stresa, genotip *Futura 83* bolje podnosi bazični stres izazvan NaHCO<sub>3</sub> od genotipa *Santhica 70*.

U oba genotipa vrijednosti suhe mase korijena na višim koncentracijama NaCl i NaHCO<sub>3</sub> (70 i 140 mM), bile su značajno povećane u odnosu na kontrolu i koncentraciju 35 mM (**Slika 22**). Ovo se može pripisati povećanom akumulacijom osmotski aktivnih tvari uključenih u adaptivni odgovor. Sinteza osmolita (šećera, poliola, prolina, glicin-betaina i dr.) je energetski skup proces što se odražava na redukciju rasta biljke, ali pomaže u smanjivanju vrijednosti vodnog potencijala tla, djeluje antioksidativno i sudjeluje u očuvanju turgora (Munns i sur., 2008.). Slični porast suhe biomase izdanka i korijena pri 50 mM otopini NaCl zabilježeni su kod 228 varijeteta uljane repice (*Brassica napus* L.) (Wassan i sur., 2021; Chen i sur., 2023) dok je primjena veće koncentracije (100 mM NaCl) uzrokovala jaču redukciju suhe tvari (Yong i sur., 2015).

## **6. ZAKLJUČCI**

Na temelju provedenog istraživanja, prešanja sjemenki dva genotipa konoplje *Santhica 70* i *Futura 83*, ispitivanja utjecaja procesnih parametara na prešanje i parametara kvalitete dobivenog ulja te ispitivanja otpornosti istih genotipova konoplje na solni stres prateći klijavost i morfometrijske pokazatelje, prema dobivenim rezultatima i provedenom raspravom, može se zaključiti slijedeće:

- Veličina otvora glave preše za izlaz pogače utječe na iskorištenje hladno prešanog ulja konoplje. Korištenjem nastavka za izlaz pogače manjeg promjera (10 mm) proizvedena je veća količina sirovog i finalnog hladno prešanog ulja uz manji udio zaostalog ulja u pogači nego primjenom nastavaka promjera (12 mm) i (16 mm) kod obje sorte: *Santhica 70* i *Futura 83*,
- Frekvencija elektromotora utječe na iskorištenje ulja dobivenog prešanjem sjemenki konoplje. Kod nižih frekvencija elektromotora (25 Hz) dobiva se veći volumen ulja i manje zaostalog ulja u pogači u odnosu na prešanje pri višim frekvencijama (30 i 40 Hz) kod obje sorte,
- Temperatura grijača glave preše utječe na iskorištenje ulja tijekom procesa prešanja sjemenki konoplje. Primjena viših temperatura rezultira većim volumenom dobivenog ulja i manjim udjelom zaostalog ulja u pogači kod sorte *Santhica 70*,
- Osnovni parametri kvalitete dobivenog hladno prešanog konopljinog ulja sorte *Santhica 70* (Pbr, SMK, udio vlage i NN) u skladu su s dopuštenim vrijednostima prema Pravilniku o jestivim uljima i mastima (NN 11/19),
- Primjena neutralnih (NaCl i Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i bazičnih (NaHCO<sub>3</sub> i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) soli uzorkovala je smanjenje postotka klijavosti i duljine korijena u oba genotipa u odnosu na kontrolne biljke,
- U ranoj fazi rasta (2. dan) najveći inhibitorni učinak na klijanje imala je otopina Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dok je otopina NaCl imala najslabiji štetni učinak u oba genotipa,
- Najjači inhibitorni učinak na rast korijena oba genotipa uzrokovala primjena otopine Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a najslabija redukcija rasta uočena je pri otopini NaCl,
- Za razliku od genotipa *Santhica 70*, genotip *Futura 83* pokazuje značajnije bolju klijavost tijekom vremena na otopinama NaCl i NaHCO<sub>3</sub>, te dulji korijen na otopini NaCl,



- Povećanje koncentracije (0, 35, 70 i 140 mM) neutralne (NaCl) i bazične (NaHCO<sub>3</sub>) soli, uzrokovalo je redukciju klijavosti te rast korijena i izdanka tijekom vremena u oba genotipa konoplje,
- Genotip *Futura 83*, na oba solna tretmana (NaCl i NaHCO<sub>3</sub>) pokazao je bolju klijavost te dulji izdanak od genotipa *Santhica 70* pri istoj koncentraciji (35, 70 i 140 mM),
- Pri neutralnom solnom stresu najjačeg intenziteta (140 mM NaCl) korijen genotipa *Futura 83* bio je značajno dulji od korijena genotipa *Santhica 70*,
- Primjena neutralnog (NaCl) i bazičnog (NaHCO<sub>3</sub>) solnog stresa umjerenog (70 mM) i jakog (140mM) intenziteta uzrokovala je značajno povećane vrijednosti suhe mase korijena u odnosu na kontrolu i 35 mM otopine soli,
- Rezultati prvog i drugog postava pokazuju da genotip *Futura 83*, u odnosu na genotip *Santhica 70*, pokazuje veću toleranciju alkaliteta i saliniteta.

## **7. LITERATURA**

- Ahrens, C. W., Andrew, M. E., Mazanec, R. A., Ruthrof, K. X., Challis, A., Hardy, G., Byrne, M., Tissue, D. T., Rymer, P. D: Plant functional traits differ in adaptability and are predicted to be differentially affected by climate change. *Ecology and Evolution*, 10 (1), 232-248, 2020.
- Ali, Awatif, S., Elozeiri, Alaaeldin, A: *Metabolic Processes During Seed Germination*, 2017.
- AZO, Agencija za zaštitu okoliša, *Izvešće o stanju okoliša u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2005.-2008.*,2012.  
[http://dokumenti.azo.hr/Dokumenti/Izvjescje\\_o\\_stanju\\_okolisa\\_2005-2008.pdf](http://dokumenti.azo.hr/Dokumenti/Izvjescje_o_stanju_okolisa_2005-2008.pdf)  
[15.7.2023.]
- Baha, N: Comparative effects of osmotic and salt stresses on germination and seedling growth of alfalfa: *Physiological Responses Involved. Agriculturae Conspectus Scientificus*. 87(4): 311-319, 2022.
- Bethke, P.C., Schuurink, R., Jones, R.L: Hormonal signaling in cereal aleurone. *Journal of Experimental Botany*. 48:1337-1356, 1997.
- Bockisch M: *Fats and oils handbook*. AOCS Press, Champaign, Illinois, 1998.
- Bócsa, I. i M. Karus, M: *The cultivation of hemp: Botany, varieties, cultivation and harvesting*, 1998.
- Božić-Ostojić, Lj., Antunović, S., Vujčić, B., Martić, M: Industrijska konoplja – biljka prošlosti i budućnosti. *8th International scientific/professional conference „Agriculture in nature and environment protection*; 133.-137, Hrvatska, 2015.
- Chen, B., Bian, x., Tu, M., Yu, T., Jiang, L., Lu, Y., Chen, X: Moderate salinity stress increases the seedling biomass in oilseed rape (*Brassica napus L.*). *Plants*, 12(8), 1650, 2023.
- Chen, H., Zhang, Q., Cai, H., Xu, F: Ethylene mediates alkaline-induced rice growth inhibition by negatively regulating plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in roots. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1839., 2017.
- Clarke, R. C: Botany of the genus Cannabis. *Advances in Hemp Research*, 1999.

- Cokkizgin A: Salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed Germination. *Not Bot Horti Agrobo* 40 (1): 177-182, 2012.
- Curaković M., Gvozdenović J., Vujković I., Lazić V: *Metode i uređaji za kontrolu ambalažnih materijala i ambalaže u prehrambenoj industriji i potreba izrada standarda i propisa. Ambalaža, manipulacija, skladištenje, transport*, 1—2, 1996.
- Čorbo S: *Tehnologija ulja i masti*. Bemust, Sarajevo, 2008.
- De Lacerda, C.F., Cambraia, J., Oliva, M.A., Ruiz, H.A., Prisco, J.T: Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49(2), 107–120, 2003.
- Devi, E. L., Kumar, S., T. Singh, T. B., Susheel, K. S., Beemrote, A., Devi, C. P., Chongtham, S. K., Singh, C. H., Yumlembam R. A., Haribhushan, A., Prakash, N., Shabir H. Wani, S. H: *Adaptation Strategies and Defence Mechanisms of Plants During Environmental Stress*, 2017.
- Dimić E, Radoičić J, Lazić V, Vukša V: Jestiva nerafinisana ulja suncokreta – Problemi i perspektive, U *Tematski zbornik*, Novi Sad, 2002.
- Dimić, E: *Hladno ceđena ulja*, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2005.
- Domac, R: *Flora Hrvatske*, Školska knjiga, Zagreb, 2002.
- Dubreta, N: *Konoplja – sociološki aspekti uzgoja i upotrebe*. Vol 15, No. 1-2 (103-123), 2006.
- Feeney, M., Punja, Z. K: *Tissue culture and agrobacterium-mediated transformation of hemp (Cannabis sativa L.)*, 2003.
- Finch – Savage E.W. i Leubner – Metzger, G: Seed dormancy and the control of germination, *New Phytologist* 171(3), 501-523, 2006.
- Gadžo, D., Đikić, M., Mijić, A: *Industrijsko bilje*. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Univerziteta u Sarajevu, 2011.
- Gagro, M: *Industrijsko i krmno bilje*. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb, 1998.

- Gao, Z.W., Zhuang, J.T., Liu, Xu, Q.T., Li, X.J., Chun-Shen, M: Comparative effects of two alkali stresses,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and  $\text{NaHCO}_3$  on cell ionic balance, osmotic adjustment, pH, photosynthetic pigments and growth in oat (*Avena sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 6(6), 995–1003, 2012.
- Grlić Lj: *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*. Biblioleka Natura, Rijeka, 2005
- Guan, Y., Hu, J., Wang, X., Shao, C: Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 10, 427–433, 2009.
- Hu, H., Liu, H., Liu, F: Seed germination of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars responds differently to the stress of salt type and concentration. *Industrial Crops and Products*, 123, 254–261, 2018.
- Hulina, N: *Više biljke stablašice*, Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb, 2011.
- Irakoze, W.; Prodjimoto, H.; Nijimbere, S.; Rufyikiri, G.; Lutts, S: NaCl and  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  salinities have different impact on photosynthesis and yield-related parameters in rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy*, 10, 864, 2020.
- Karlović Đ., Andrić N: *Kontrola kvalitete semena uljarica*, Tehnološki fakultet Novi Sad, Savezni zavod za standardizaciju, 1996.
- Kolak I. i Šatović, Z: Sustavi razmnožavanja biljaka. *Sjemenarstvo* 10(93)5, str. 289-315, 1993.
- Lichtenthaler, H.K: Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14, 1996.
- Liu, D., Ma, Y., Rui, M., Lv, X., Chen, R., Chen, X., Wang, Y: Is high pH the key factor of alkali stress on plant growth and physiology? A case study with wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Agronomy*, 12(8), 1820, 2022.
- Marček, T., Tkalec, M., Vidaković-Cifrek, Ž., Ježić, M., Ćurković-Perica, M: Effect of NaCl stress on dihaploid tobacco lines tolerant to potato virus Y. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(7), 1739–1747, 2014.

- Marček, T., Tkalec, M., Vidaković-Cifrek, Ž., Ježić, M., Ćurković-Perica, M: Expression of dehydrins, HSP70, Cu/Zn SOD, and RuBisCO in leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) dihaploids under salt stress. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 52(3), 233–240, 2016.
- Merfield, C: *Industrial hemp and its potential for New Zealand*, 1999.
- Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o jestivim uljima i mastima*, Narodne novine 11/19, 2019.
- Munns, R., Tester, M: Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 651-681, 2008.
- Okçu, G., Kaya, M.D., Atak, M: Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turk J Agric For* 29: 237-242, 2005.
- Omoto, E., Taniguchi, M., Miyake, H: Adaptation responses in C4 photosynthesis of maize under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 169(5), 469–477, 2012.
- Sairam, R. K., Tyagi, A: Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 83, 407-421, 2004.
- Small E. i Cronquist A: *A practical and natural taxonomy for Cannabis*, 25: 405-435, 1976.
- Thabet, S.G., Moursi, Y.S., Karam, M.A., Graner, A., Alqudah, A.M: Genetic basis of drought tolerance during seed germination in barley. *PLOS ONE*, 13(11), 2018.
- Turner, CE, Elsohly, MA and Boeren, E: Constituents of Cannabis sativa L. XVII. *A review of the natural constituents*. *J Nat Prod.*, 43: 169–234, 1980.
- Wahby, I., Juan M. Caba, J. M., Ligerio, F: (2013) Agrobacterium infection of hemp (*Cannabis sativa* L.): establishment of hairy root cultures, *Journal of Plant Interactions*, 8:4, 312-320, 2013.
- Wang, J.; Jiang, X.; Zhao, C.; Fang, Z.; Jiao, P: Transcriptomic and metabolomic analysis reveals the role of CoA in the salt tolerance of *Zygophyllum* spp. *BMC Plant Biol.*, 20, 9, 2020.

- Wassan, G.M.; Khanzada, H.; Zhou, Q.; Mason, A.S.; Keerio, A.A.; Khanzada, S.; Solangi, A.M.; Faheem, M.; Fu, D.; He, H: Identification of genetic variation for salt tolerance in *Brassica napus* using genome-wide association mapping. *Mol. Genet. Genom.* 296, 391–408, 2021.
- Welbaum, G.E., Tissaoui, T., Bradford K.J: Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) III. Sensitivity of germination to water potential and abscisic acid during development. *Plant Physiology*, 92, pp. 1029-1037, 1990.
- Wirtshafter D.J.D: *Why hemp seed? Bioresource Hemp, Proceedings of Symposium*, Frankfurt am Main, Germany, 1995.
- Yep, B., V.Gale, N., Zheng Y: *Aquaponic and hydroponic solutions modulate NaCl-induced stress in drug-type Cannabis sativa* L., 2020.
- Yong, H.Y.; Wang, C.; Bancroft, I.; Li, F.; Wu, X.; Kitashiba, H.; Nishio, T.: Identification of a gene controlling variation in the salt tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Planta*, 242, 313–326, 2015.
- Zhang, H., Xu, N., Wu, X., Wang, J., Ma, S., Li, X., Sun, G: Effects of four types of sodium salt stress on plant growth and photosynthetic apparatus in sorghum leaves. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 506–513, 2018.
- Web 1: <https://www.alamy.com/stock-photo-cannabis-with-a-root-50332419.html> [17.8.2023.]
- Web 2: <https://fibershed.org/2020/09/16/harvesting-hemp-reflecting-on-opportunities-with-the-one-acre-exchange/> [19.8.2023.]
- Web 3: <https://www.sovereignfields.com/how-to-id-identify-male-hemp-plants/> [19.8.2023.]
- Web 4: <https://woodlandfoods.com/products/toasted-hemp-seeds%2C-shell-on/c-23/p-14144> [19.8.2023.]