Fenolni spojevi u procesu sušenja i proizvodnje soka aronije

Drkelić, Vedrana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:444536

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Vedrana Drkelić
6705

FENOLNI SPOJEVI U PROCESU SUŠENJA I PROIZVODNJE SOKA ARONIJE

Završni rad

Projekt: „Primjena inovativnih tehnologija u proizvodnji biljnih ekstrakata kao sastojaka funkcionalne hrane (IT-PE-FF)".
Financirano sredstvima Hrvatske zaklade za znanost.
Mentor: Prof.dr.sc. Branka Levaj

Zagreb, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

FENOLNI SPOJEVI U PROCESU SUŠENJA I PROIZVODNJE SOKA ARONIJE

Vedrana Drkelić, 0058203118

Sažetak: Ovim je istraživanjem ispitan ukupni udio fenolnih spojeva u procesu sušenja i proizvodnje soka aronije. Udio ukupnih fenola i antocijana određivani su spektrofotometrijski. Pojedini uzorci podvrgnuti su liofilizaciji te je napravljena usporedba udjela ukupne i topljive suhe tvari, pH vrijednosti te udjela ukupnih fenola i antocijana u uzorcima od svježe aronije te uzorcima dehidratiranih liofilizacijom. Uspoređene su i vrijednosti navedenih parametara između svježeg i pasteriziranog soka. Najveći udio fenolnih spojeva i antocijana nalazio se u prethodno liofiliziranim bobicama aronije.

Ključne riječi: antocijan, aronija, fenoli, liofilizacija, sok
Rad sadrži: 23 stranice, 5 slika, 8 tablica, 42 literaturnih navoda
Jezik izvornika: hrvatski
Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb.
Mentor: Prof.dr.sc. Branka Levaj
Pomoć pri izradi: mag. ing. Sanja Lončarić

Datum obrane: 19.09.2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

Department of Food Technology Engineering
Laboratory for Process Preservation and Processing Fruits and Vegetables

PHENOLIC COMPOUNDS IN THE PROCESS OF DRYING AND PRODUCTION OF ARONIA JUICE

Vedrana Drkelić, 0058203118

Abstract: This research investigated total phenolic content in the process of drying and production of aronia juice. Total phenolic and anthocyanin contents were spectrophotometricly determined. Some of the samples were subjected to lyophilization and the comparison was made between contents of total dry matter and soluble dry matter, pH values and contents of total phenolics and anthocyanins between samples of fresh chokeberry and samples subjected to lyophilization. Values of listed parameters were also compared between fresh and pasteurised juice. The biggest content of phenolic compounds and anthocyanins was found in previously lyophilised chokeberry berries.

Key words: anthocyanin**,** black chokeberry,juice, lyophilization, phenolic compounds
Thesis contains: 23 pages, 5 figures, 8 tables, 42 references
Original in: Croatian
Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb
Mentor: Prof.dr.sc. Branka Levaj
Technical support and assistance: mag. ing. Sanja Lončarić

Defence date: 19.09.2017.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 2

ARONIJA (ARONIA MELANOCARPA) 2

2.1. Morfologija i uzgoj aronije 2

KEMIJSKI SASTAV SVJEŽE ARONIJE 3

FENOLNI SPOJEVI 4

2.2. Fenolne kiseline 5

2.3. Flavonoidi 5

2.4. Fenolni spojevi aronije 5

2.5.Utjecaj aronije na ljudsko zdravlje 7

PRERADA ARONIJE 7

2.6. Sok aronije 7

2.7. Kemijski sastav soka aronije 8

2.8. Sušenje aronije 9

3. EKSPERIMENTALNI DIO 11

MATERIJALI 11

3.1. Priprema uzoraka – svježe bobice 11

3.2. Priprema uzoraka- dehidratirane bobice 11

3.3. Uzorci 11

METODE 12

3.4 pH mjerenje 12

3.5. Određivanje udjela topljive suhe tvari 12

3.6. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem 12

3.7. Određivanje udjela ukupnih fenola 13

3.7.1. Priprema ekstrakta 13

3.7.2. Spektrofotometrijsko određivanje udjela fenola 14

3.7.3. Određivanje udjela ukupnih antocijana pH diferencijalnom metodom 15

4. REZULTATI 16

5. RASPRAVA 18

6. ZAKLJUČAK 20

7. LITERATURA 21

1. UVOD

Aronija (*Aronia melanocarpa*) je voće izuzetno visokog udjela mikronutrijenata i fitokemikalija koje posjeduju značajne biološke karakteristike. Bobice aronije imaju velik i pozitivan učinak na ljudsko zdravlje zahvaljujući visokim udjelima prirodnih antioksidansa, poput fenolnih spojeva. Usprkos svojim pozitivnim karakteristikama, konzumacija svježih bobica aronije nije popularna zbog njenog trpkog i specifičnog okusa te mirisa po gorkim bademima. Iz tog je razloga na meti znanstvenika i prerađivačkih industrija. Znanstvenici ju proučavaju u svrhe pronalaska većeg broja načina implementiranja aronije kao funkcionalne hrane s obzirom da je iznimno iskoristiva te je zbog svog bogatog kemijskog sastava već sama po sebi funkcionalni prehrambeni proizvod. Čak i ostatci koji zaostaju pasiranjem puni su fenolnih spojeva pa se mogu koristiti kao prah, čaj ili ekstrakt za nutritivno obogaćivanje drugih proizvoda. S druge strane, u prerađivačkim industrijama se koristi u proizvodnji voćnih sirupa, sokova, nektara, namaza, džemova, pekmeza i alkohola te se poboljšava kvaliteta njenih senzorskih svojstava, posebice karakterističnog trpkog okusa.

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj procesa sušenja i pojedinih faza u procesu proizvodnje soka aronije na udio ukupnih fenola i antocijana. Udio ukupnih fenola i antocijana određen je spektrofotometrijski.

2. TEORIJSKI DIO

ARONIJA *(ARONIA MELANOCARPA)*

Aronija *(Aronia melanocarpa)* je maleno, tamno ljubičasto voće koje pripada porodici ruža (Jakobek i sur., 2007.). Potječe iz istočnih dijelova sjeverne Amerike i istočne Kanade. Njihova migracija u Europu započela je oko 1900. godine kroz Njemačku i Rusiju, a u novije se vrijeme uzgaja u zemljama istočne Europe te u Njemačkoj (Kulling i Rawel, 2008.). Sadi se kao ukrasni grm, ali i kao izvor bobica za sokove, vino i želirane proizvode te kao bogat izvor prirodnih prehrambenih bojila. Proteklih je godina stekla popularnost zahvaljujući visokom udjelu polifenola bogatih antioksidativnom aktivnošću. Sadrži velike količine flavonoida, uglavnom antocijana i proantocijana (Bräunlich i sur., 2013.).

2.1. Morfologija i uzgoj aronije

Biljka aronije (*Aronia melanocarpa*) predstavlja listopadni grm koji cvijeta u proljeće. Može narasti do 2-3 metra visine. Proizvodi tamne, purpurne bobice okruglastog oblika. Vrlo su trpkog okusa zbog čega se ne koriste kao stolno voće, već za industrijsku preradu.
Listovi su debeli i tamno zeleni, a površina im je glatka (Jeppsson i Niklas, 1998.; Plocharski i sur., 1989.).
Dvije vrste bobica aronije mogu se razlikovati: *Aronia melanocarpa* (crna aronija) i *Aronia arbutifolia* (crvena aronija). Treća kontroverzna vrsta je *Aronia prunifolia* (ljubičasta aronija) za koju se smatra da je hibridna vrsta između *Aronia melanocarpe* i *Aronia arbutifolie*.
Uzgajati se može čista crna aronija, ali i neke druge kultivirane vrste. Postoje brojni genotipi aronije, a najvažniji u Europi su: Aron (Danska), Nero (Češka Republika), Viking (Finska), Hugin (Švedska) te Fertödi (Mađarska) (Tolić i sur., 2017.).
Aronija je prilagodljiva raznim vrstama neutralnih i blago kiselih tla te nije osjetljiva na mraz s obzirom na vrijeme cvatnje. Podložna je štetočinama, ali zahvaljujući snazi biljke, nemaju velik negativan utjecaj (McKay, 2001.). Učinak gnojiva na parametre kvalitete voća kod crne aronije pokazao je da povećana uporaba gnojiva rezultira povećanim rastom i većim prinosom dok se sadržaj pigmenata i ukupne kiselosti smanjuje (Kulling i Rawel, 2008.).

KEMIJSKI SASTAV SVJEŽE ARONIJE

Vrsta i udio kemijskih sastojaka aronije ovisi o brojnim faktorima poput sorte, uvjeta uzgoja, stupnja zrelosti, vremena berbe i klimi (Jeppsson i Johansson, 2000). U prosjeku, svježa aronija sadrži 15.6 % suhe tvari dok joj je pH vrijednost u rasponu od 3.3-3.7 (Tanaka i Tanaka, 2001.) Također sadrži 7-10% ukupnih šećera, 0.7-1.3% organskih kiselina, 0.3% tanina, 0.63-0.75% pektinskih komponenti, ali i zamjetne količine vitamina i minerala (Krawiec, 2008.). Tamno obojenje dolazi od antocijana čiji sadržaj može doseći masu od 1600 mg na 100 g mase svježeg voća (Pool-Zobel i sur., 1999.). Specifičan miris badema dolazi od cijanogen glikozida- amigdalina (20 mg/100 g svježeg voća). Kawecki i suradnici (1999.) ističu da sadržaj suhe tvari, vitamina C, organskih kiselina i ukupnih šećera može biti promijenjen uslijed djelovanja organskih ili mineralnih sredstava nanešenih na biljke. Također, u istraživanju NMR analizom, identificirano je nekoliko karakterističnih sastojaka vlakana u svježim plodovima aronije: mikrokristalična celuloza, pektin, lignin, tanin i hemiceluloza (Wawer i sur., 2006.). Aronija je okarakterizirana visokom biološkom i nutritivnom vrijednošću uslijed bogatog sadržaja vitamina i minerala koji su prikazani u tablicama 1 i 2. čije se vrijednosti odnose na prosječne vrijednosti različitih vrsta aronije.

Tablica 1. Vitaminski sastav bobica aronije (Tanaka i Tanaka, 2001.)

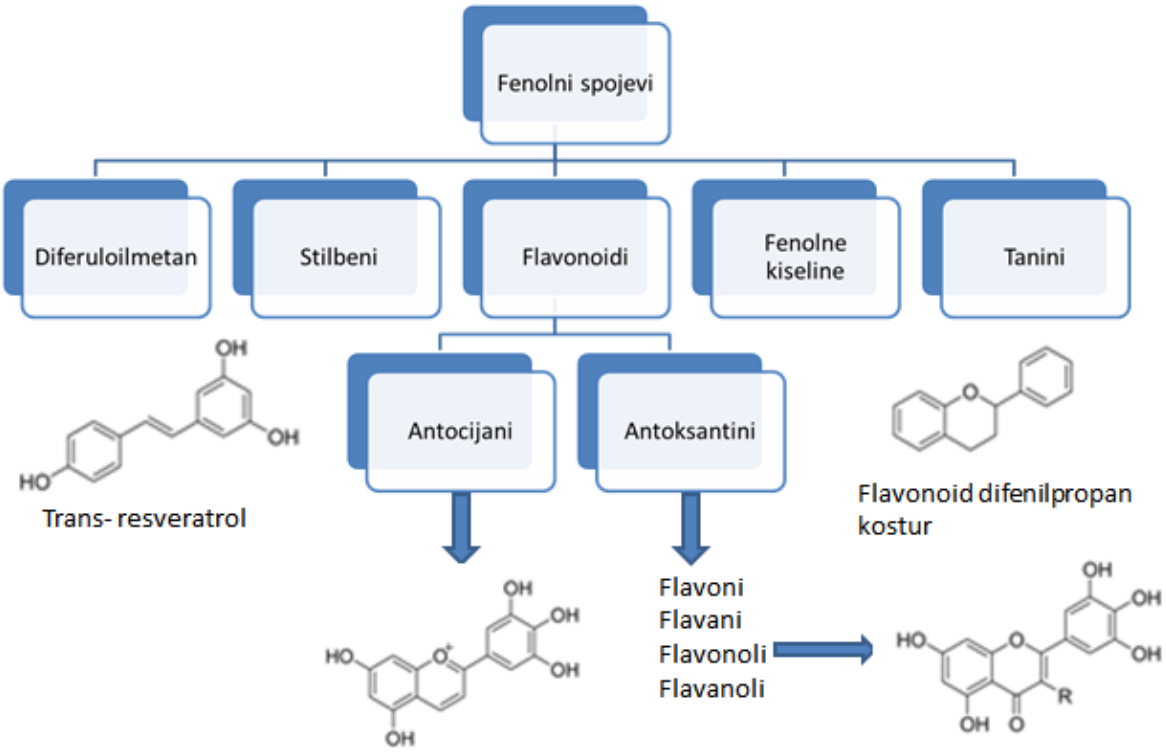
VITAMINI	**BOBICE ARONIJE**
Askorbinska kiselina (C)	137 mg/kg
Tiamin (B1)	180 µg/kg
Riboflavin (B2)	200 µg/kg
Piridoksin (B6)	280 µg/kg
Niacin	3 000 µg/kg
Menakinon (K)	242 µg/kg
Tokoferoli	17.1 mg/kg

Tablica 2. Mineralni sastav bobica aronije (Tanaka i Tanaka, 2001.)

MINERALI	BOBICE ARONIJE
Natrij	26 mg/kg
Kalij	2 180 mg/kg
Kalcij	322 mg/kg
Magnezij	162 mg/kg
Željezo	9.3mg/kg
Cink	1.47 mg/kg

FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su spojevi u kojima je hidroksilna skupina direktno vezana na benzenski ili aromatski prsten, uz prisutne druge supstituente. To su sekundarni biljni metaboliti potrebni za normalan rast i razvoj (Hudec i sur., 2006). Podijeljeni su u grupe prema broju fenolnih prstenova i po strukturnim elementima koji povezuju te prstenove (Han i sur., 2007.). Podjela fenolnih spojeva prikazana je na slici 1.



Slika 1. Podjela fenolnih spojeva (Han i sur., 2007.)

2.2. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline pojavljuju se kao esteri ili glikozidi konjugirani s ostalim prirodnim spojevima poput flavonoida, alkohola, hidroksi-masnih kiselina, sterola i glikozida. Većina fenolnih kiselina je povezana esterskom, eterskom ili acetalnom vezom sa spojevima biljke, sa većim polifenolima ili sa manjim organskim molekulama (Bonfill i sur., 2013.). Dijele se na hidroksicimetne kiseline (C_6-C_3) te hidroksibenzojeve kiseline (C_6-C_1) te njihove derivate (Han i sur., 2007.). Razlikuju se po stupnju hidroksilacije i metilacije aromatskog prstena (Macheix i sur., 1991.).

2.3. Flavonoidi

Flavonoidi su skupina polifenolnih spojeva koji se međusobno razlikuju po strukturi i karakteristikama, nalaze se u biljkama te su dio ljudske prehrane. Identificirano je preko 4000 različitih flavonoida unutar kategorija koje uključuju flavonole, flavone, flavanone, katekine, antocijanine, izoflavone, dihidroflavone i halkone (Cook i Samman, 1996.). Među flavonoidima, antocijani su antioksidansi koji igraju važnu ulogu u smanjenju rizika za brojne bolesti, a njihova stabilnost ovisi o pH vrijednosti (Hidalgo i Almajano, 2017.).

2.4. Fenolni spojevi aronije

Najvažnija podjela fenolnih spojeva u aroniji je na flavonoide i fenolne kiseline. Bobice aronije bogate su sadržajem procijanidina, antocijana te fenolnih kiselina. Velik dio fenolnih spojeva iz bobica nalazi se u soku aronije, ali je i meso bobice koje zaostaje u procesu proizvodnje soka bogato ovim bioaktivnim spojevima (Mayer-Miebach i sur., 2012.). U studiji gdje su analizirane 143 različite biljke na polifenolne spojeve, najviši udio nađen je u aroniji (Ovaskainen i sur., 2008.). Procijanidini su identificirani kao većinski u fenolnom sastavu aronije. Bobice sadrže 460 mg antocijana na 100 g svježeg voća, pretežno cijanidin-3-galaktozida i cijanidin-3-arabinozida za koje se tvrdi da čine 64% i 29% ukupne količine antocijana nađene u koži i mesu ploda. Jeppsson i Johansson (2000.) povezuju sadržaj antocijana i organskih kiselina s vrstom i zrelošću voća. Autori ističu da se sadržaj antocijana može povećati za 180% između sredine kolovoza i sredine rujna što znači da na udio fenolnih spojeva utječu i klima, vrijeme berbe i vrsta aronije, a kod određivanja količine može utjecati i odabrana metoda analize (Krenn i sur., 2007.). Povećan udio antocijana je glavni cilj uzgoja crne aronije.

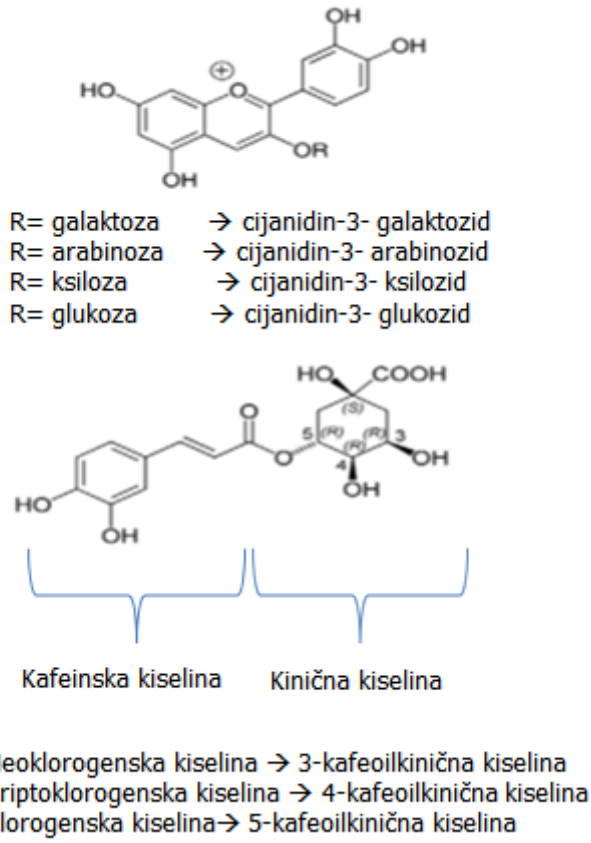
Aronija je također bogat izvor fenolnih kiselina (klorogenske i neoklorogenske, otprilike 96 mg/100 g svježeg voća) (Šnebergrova i sur., 2014.), dok je udio flavonola i katekina

relativno nizak i predstavlja tek 1.3% ukupnih fenola aronije (Oszmiański i Wojdylo, 2005.). Udio fenolnih spojeva u bobicama svježe aronije prikazan je u tablici 3.

Tablica 3. Udio fenolnih spojeva u bobicama svježe aronije

FENOLNI SPOJEVI	SVJEŽE BOBICE ARONIJE	REFERENCE
Procijanidini (ukupni)	664	Wu i sur., 2004.
Antocijani (ukupni)	307-631	Seidemann, 1993.
Cijandin-3-galaktozid	990	Wu i sur., 2004.
Cijanidin-3-glukozid	37.6	Wu i sur., 2004.
Cijanidin-3-arabinozid	399	Wu i sur., 2004.
Klorogenska kiselina	61	Slimestad i sur., 2005.
Neoklorogenska kiselina	123	Slimestad i sur., 2005.

Na slici 2. prikazani su najbrojniji antocijani i fenolne kiseline u svježoj aroniji.



Slika 2. Najbrojniji antocijani i fenolne kiseline svježe aronije (Kulling i Rawel, 2008.)

2.5.Utjecaj aronije na ljudsko zdravlje

Naglo uvođenje aronije u komercijalnu proizvodnju prekinut je krajem 1980.-ih godina uslijed katastrofe u Černobilu 1986. godine te nesretnih televizijskih izjava 1990. godine kojima se indiciralo na ostatak teških metala u aroniji, nadilazeći dozvoljene granice. Tek nakon razdoblja intenzivnih istraživanja 1990.-ih na temu antioksidacijskih svojstava nekih komponenti u ljudskom organizmu su znanstvenici postali zainteresirani za svojstva aronije povezanih s ljudskim zdravljem. Kao rezultat, nastale su brojne objave koje prikazuju jaka antioksidacijska svojstva, pozitivan učinak na želučane čireve, detoksikacijski efekt uslijed trovanja teškim metalima te koristan učinak na bolesti radijacije (Krawiec, 2008.). Također, navodi se da sok aronije može biti koristan u prevenciji i kontroli dijabetesa tipa II te svim komplikacijima povezanih s dijabetesom (Bräunlich i sur., 2013.). In Vitro istraživanja su pokazala da je imala zaštitni učinak i kod bolesti raka crijeva. Bitno je, također, napomenuti da još uvijek ne postoji literatura o nepoželjnim ili toksičnim učincima aronijinih bobica, soka ili drugih proizvoda (Kulling i Rawel, 2008.).

PRERADA ARONIJE

Aronija predstavlja voće visokog udjela biološki aktivnih komponenata koje pružaju širok raspon pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje. Iz tog je razloga postala sirovina koju se često prerađuje u sokove, kaše, pekmeze i žele proizvode, ali ju se također koristi i kao prehrambeno bojilo te nutritivni dodatak prehrani (Jurikova i sur., 2017.).

Na hrvatskom tržištu zasad nalazimo nekolicinu proizvoda od aronije, a to su: matični sok, koncentrirani voćni sok, voćni sok, pekmez, vodeni pripravak od listova i bobica (čaj), sušena aronija, prah, sirup, vino i liker.

Također, upravo se zbog visokog udjela antocijana, fenola, vitamina i minerala smatra funkcionalnom hranom. Svježe bobice aronije, ali i njene prerađevine te ekstrakti dobar su izvor esencijalnih metala kao i organskih spojeva zbog čega je potražnja za preradom i uporabom aronije postala sve veća (Juranović Cindrić i sur., 2017.).

2.6. Sok aronije

Aronija se najčešće koristi u proizvodnji sokova, koji kao i svi voćni sokovi, predstavlja jednu od najznačajnijih skupina voćnih prerađevina s prehrambenog i gospodarskog gledišta (Lovrić i sur., 1994.). Prema Pravilniku o voćnim sokovima (*Pravilnik, 2013*.) voćni sok je proizvod koji može fermentirati ali je nefermentiran, a proizvodi se od jestivog dijela voća koje je zdravo, svježe ili konzervirano hlađenjem ili smrzavanjem jedne ili više vrsta

pomiješanih zajedno, a ima boju, aromu i okus karakterističan za sok od voća od kojega potječe.

Voćni se sokovi razvrstavaju prema određenim fizikalnim svojstvima i primjenjenim tehnologijama u nekoliko osnovnih skupina, a to su: bistri, mutni i kašasti. Plodovi aronije se nakon berbe obično prešaju i dobiveni sok samo ide na pasterizaciju. Time se dobije matični voćni sok koji mali proizvođači prodaju na tržištu. Matični voćni sok je prema definiciji (Lovrić i sur., 1994.) poluproizvod koji se nakon tiještenja (prešanja) konzervira pasterizacijom tj. toplinskom obradom u cijevnim ili pločastim izmjenjivačima topline na temperaturama oko 90 °C (Lovrić i sur., 1994.).

2.7. Kemijski sastav soka aronije

Kemijski sastav svježih sokova razlikuje se među različitim vrstama bobičastog voća, no ono što aroniju razlikuje od ostalih bobica je iznimno visok udio sorbitola i polifenola. Također, u soku aronije nađene su prilično visoke količine minerala cinka i kalija, kao i tiamina, riboflavina, piridoksina, askorbinske kiseline te pantotenske kiseline i niacina (Kulling i Rawel, 2008.). U tablici 3. prikazana su osnovna kemijska svojstva svježeg i pasteriziranog soka aronije, dok su vitaminski i mineralni sastavi svježeg i pasteriziranog soka prikazani u tablici 4. i 5.

Tablica 4. Osnovna kemijska svojstva svježeg i pasteriziranog soka aronije (Ara, 2002.), (Hollman i Katan, 1998.)

Parametar	**Svježe cijeđeni sok**	**Pasteriziran sok**
Relativna gustoća	1.081 (g/L)	1.064 (g/L)
pH	3.6	3.3
Suha tvar (% Brix)	19.5	15.5
Glukoza	41 (g/L)	40 (g/L)
Fruktoza	38 (g/L)	37 (g/L)
Sorbitol	80 (g/L)	55.6 (g/L)

Tablica 5. Vitaminski sastav svježeg soka aronije (Ara, 2002.)

VITAMINI	SVJEŽI SOK
Askorbinska kiselina (C)	200mg/L
Tiamin (B1)	500 µg/L
Riboflavin (B2)	600 µg/L
Piridoksin (B6)	550 µg/L
Niacin	3 400 µg/L
Pantotenska kiselina	2 200 µg/L

Kod pasteriziranog soka primjećena je redukcija u koncentraciji askorbinske kiseline (vitamina C) dok koncentracije ostalih vitamina nisu bile analizirane (Ara, 2002.)

Tablica 6. Mineralni sastav svježeg i pasteriziranog soka aronije (Ara, 2002.)

MINERALI	SVJEŽI SOK	PASTERIZIRAN SOK
Na, mg/L	5	5.7
K, mg/L	2850	1969
Ca, mg/L	150	185
Mg, mg/L	140	160
Fe, mg/L	4	0.4
Zn, mg/L	1.3	0.6

2.8. Sušenje aronije

Sušenje voća, pa tako i aronije, zasniva se na kseroanabiozi, odnosno osmoanabiozi, koje djeluju kao dehidratacija do nekog udjela vode u hrani još dovoljnog za aktivnost mikroorganizama. Osnovni aspekt procesa sušenja vezan je uz utjecaj količine i stanja vode na biološke, kemijske i fizikalne procese koje uvjetuju (Lovrić i sur., 2003.). Sušenjem aronije može se dobiti prah aronije koji kao dodatak ima vrlo široku primjenu u različitim prehrambenim proizvodima zbog visokog sadržaja bioaktivnih komponenti (Tolić i sur., 2015). Uz stare poznate metode sušenja, relativno novim postupkom dehidratacije smatra se liofilizacija koja ima brojne prednosti poput velike trajnosti, održane strukture i vanjskog oblika, dobre rekonstitucije kod ponovnog primanja vode, neznatne promjene boje, arome i okusa, minimalnog gubitka vitamina, ali i dobre topljivosti proizvoda u prahu.To je postupak sušenja namirnica u zamrznutom stanju, a princip na kojemu se temelji je naizgled

jednostavan te se obično definira kao uklanjanje vode sublimacijom leda iz prethodno zamrnutog proizvoda pod vakuumom (Lovrić i sur., 2003.).
Sušenje bobica jedan je od najbitnijih elemenata tijekom proizvodnje dodataka prehrani, funkcionalne hrane ili infuzija čaja (Vattem i sur., 2005.) s obzirom da treba minimizirati degradaciju termolabilnih spojeva te se upravo iz tog razloga liofilizacija pokazala najboljom metodom za sušenje aronije (Oszmiański i Lachowicz, 2016.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

MATERIJALI

Materijal u ovom istraživanju bili su svježi plodovi, bobice aronije *(Aronia Melanocarpa)*, sorte Nero. Ubrana je početkom rujna, 2017. godine u Smiljanu kraj Gospića te je dopremljena u Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu.

Aronija je podvrgnuta preradi i analizi prije koje je bila potrebna priprema uzoraka.

3.1. Priprema uzoraka – svježe bobice

Bobice aronije se očiste od svih prisutnih nečistoća te se potom pasiraju. Dobiveni svježi sok te suhi ostatak zaostao nakon pasiranja prva su dva uzorka.
Treći uzorak dobiven je pasterizacijom svježeg soka pri 90°C u trajanju od 2 minute. Četvrti uzorak je kaša svježih bobica dobiven gnječenjem bobica u tarioniku.

3.2. Priprema uzoraka- dehidratirane bobice

Svježe bobice aronije i suhi ostatak zaostao nakon pasiranja zalede se na temperaturu od -20°C, a onda se nakon 2 sata zamrznu na temperaturu od -80°C. Nakon 24 sata u zamrzivaču, podvrgnu se procesu liofilizacije (korišten uređaj: Christ Alpha 1-4 LSC Plus). Proces liofilizacije traje 48 sati. Nakon što je liofilizacija završila, dobivena su dva uzorka: dehidratirane bobice aronije i dehidratiran ostatak nakon pasiranja.

3.3. Uzorci

Tablica 7. Popis uzoraka i njihova numerička oznaka

BROJ UZORKA	UZORAK
1	Svježi sok
2	Ostatak nakon prešanja
3	Pasterizirani sok
4	Svježe bobice
5	Dehidratirane bobice
6	Dehidratiran ostatak nakon prešanja

METODE

U ovom radu uzorci su bili podvrgnuti sljedećim ispitivanjima: pH mjerenju, određivanju udjela topljive suhe tvari, spektrofotometrijskom određivanju ukupnih fenola, određivanju ukupnih antocijana pH diferencijalnom metodom te određivanju suhe tvari sušenjem. Iz uzoraka su bili pripremljeni ekstrakti koji su se potom koristili u navedenim procesima.

3.4 pH mjerenje

Aparatura i pribor:

- pH metar (Mettler Toledo, Seven easy)
- staklena čaša

Princip:

Uzorci od 1.-4. stave se u staklenu čašu te se pomoću pH elektrode, koja je prethodno kalibrirana i isprana destiliranom vodom, izmjeri pH vrijednost uzoraka.

3.5. Određivanje udjela topljive suhe tvari

Aparatura i pribor:

- refraktometar (Atago, Japan)

Princip:

Refraktometar se ispere destiliranom vode, obriše staničevinom te se nanese uzorak i izvrši očitanje udjela topljive suhe tvari.

3.6. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem

Aparatura i pribor:

- Aluminijske posudice
- Stakleni štapići
- Analitička vaga (OHAUS Adventurer AX224)
- Laboratorijski sušionik (ST-01/02, INSTRUMENTARIA)
- Eksikator

Reagensi:

- Kvarcni pijesak

Postupak:

U osušenu aluminijsku posudicu stavi se kvarcni pijesak i stakleni štapić te su suši u sušioniku na 105°C u trajanju od 60 minuta sa skinutim poklopcem. Nakon sušenja posudica se hladi u eksikatoru, a zatim se izvaže s poklopljenim poklopcem na analitičkoj vagi. U ovako pripremljenu posudicu se izvaže 2 grama pripremljenog uzorka i pomoću staklenog štapića se dobro izmiješa s kvarcnim pijeskom. Posudica s uzorkom se potom stavi u sušionik zagrijan na 105°C i zagrijava 120 minuta sa skinutim poklopcem. Nakon hlađenja u eksikatoru i vaganja, vrši se proračun za ukupnu suhu tvar pomoću sljedeće formule:

$$Suha\ tvar\ (\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} * 100$$

gdje je:

m0= masa posudice i pomoćnog materijala (kvarcni pijesak, stakleni štapić)

m1= masa posudice s ispitivanim uzorkom prije sušenja

m2= masa posudice s ostatkom nakon sušenja.

3.7. Određivanje udjela ukupnih fenola

3.7.1. Priprema ekstrakta

Aparatura i pribor:

- Analitička vaga (OHAUS Adventurer AX224)
- Staklene pipete
- Odmjerne tikvice volumena 25 mL
- Plastične epruvete
- Filtar papir
- Stakleni lijevak

Reagensi:

- zakiseljeni metanol s 1% mravlje kiseline

Postupak:

Na analitičkoj vagi odvaže se 1 gram svakog uzorka koji se prebaci u plastičnu epruvetu te se ulije 20 mL otapala (zakiseljeni metanol). Potom se provodi ekstrahiranje u UV kupelji na 50°C u trajanju od 20 min. Nakon ekstrahiranja provodi se filtracija pomoću lijevka i filtar papira u odmjernu tikvicu od 25 mL te se ona pipetom nadopunjuje otapalom do oznake.

3.7.2. Spektrofotometrijsko određivanje udjela fenola

Princip:

Određivanje ukupne koncentracije fenola temelji se na kolorimetrijskoj reakciji između Folin-Ciocalteu reagansa i reducirajućeg reagensa (polifenoli). Nastali plavo obojeni kompleks je intenzivniji što je veći broja hidroksilnih skupina ili oksidirajućih grupa u fenolnim spojevima. Intenzitet obojenja mjeri se pri valnoj duljini od 765 nm (Shortle i sur., 2014.)

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (VWR UV-1600PC Spectrophotometer)
- Staklene kivete
- Pipete
- Staklene epruvete

Reagensi:

- Folin- Ciocalteu reagens
- Zasićena otopina natrijeva karbonata (20 %-tna otopina)

Postupak:

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 100 μL ekstrakta, 200 μL Folin- Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa se promiješa pomoću vortexa, a potom se uzorci termostatiraju 25 minuta pri temperaturi od 50°C u kupelji od rotavapora. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini od 765 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju.

Potom se za izračunavanje koncentracije ukupnih fenola koristi baždarni pravac standarda galne kiseline, a jednadžba pravca glasi:

$$Y = 0{,}0035 * X$$

gdje je:

Y= apsorbancija pri 765 nm

X= koncentracija fenola (mg/L).

3.7.3. Određivanje udjela ukupnih antocijana pH diferencijalnom metodom

Princip:

Metoda se zasniva na spoznaji da s promjenom pH vrijednosti dolazi do strukturne promjene antocijana. Pri pH=1,0 antocijani su obojeni, a pri pH=4,5 su neobojeni. Iz razlike apsorbancija pomoću dolje navedene formule računa se udio ukupnih antocijana u uzorku (Giusti i Wrolstad, 2001.)

Aparatura i pribor:

- Staklene epruvete
- Pipete
- Staklene kivete
- Spektrofotometar (VWR UV-1600PC Spectrophotometer)

Reagensi:

- Kalijev kloridni pufer, pH=1,0 (kalijev klorid 0,025 M)
- Natrijev acetatni pufer, pH=4,5 (natrijev acetat 0,4 M)

Postupak:

Za svaki se uzorak pripreme dvije staklene epruvete. U svaku se otpipetira po 1 mL ekstrakta, a potom se jedna epruveta nadopuni puferom pH=1,0, a druga puferom pH=4,5. Nakon 20 minuta, pripremljenim reakcijskim otopinama mjeri se apsorbancija pri 520 nm i 700 nm, uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

Koncentracija monomernih antocijana u uzorku izračunava se kao ekvivalent cijanidin-3-glukozida (mg/L) prema formuli:

$$\frac{A * MW * DF * 10^3}{\varepsilon * l}$$

gdje je:

A= apsorbancija te se računa na sljedeći način:

$A=(A_{520nm}- A_{700nm})pH=1,0 – (A_{520nm}- A_{700nm})pH=4,5$

MW= molekulska masa (za cijanidin-3-glukozid iznosi 449,2 $gmol^{-1}$)

DF= faktor razrijeđenja

10^3= faktor za preračunavanje grama u miligrame

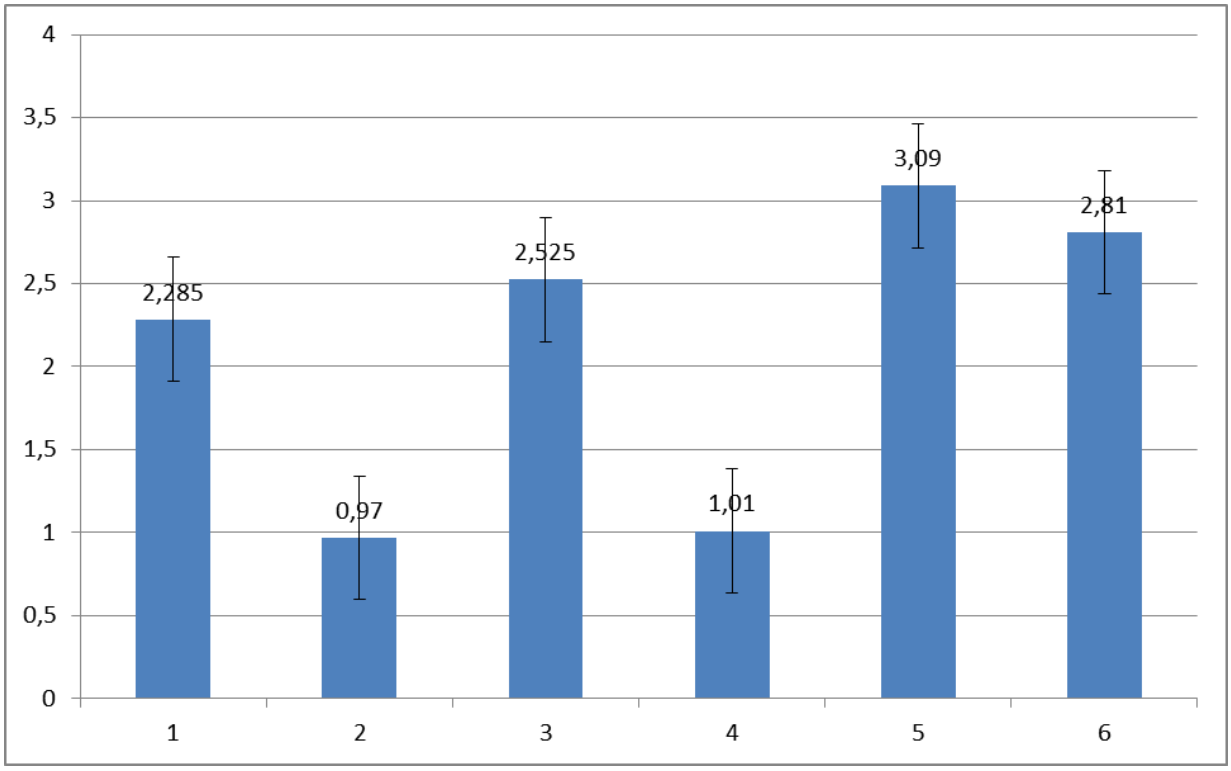
ε= molarni apsorpcijski koeficijent (za cijanidin-3-glukozid iznosi 26900 $Lmol^{-1}cm^{-1}$)

l= debljina kivete (1cm)

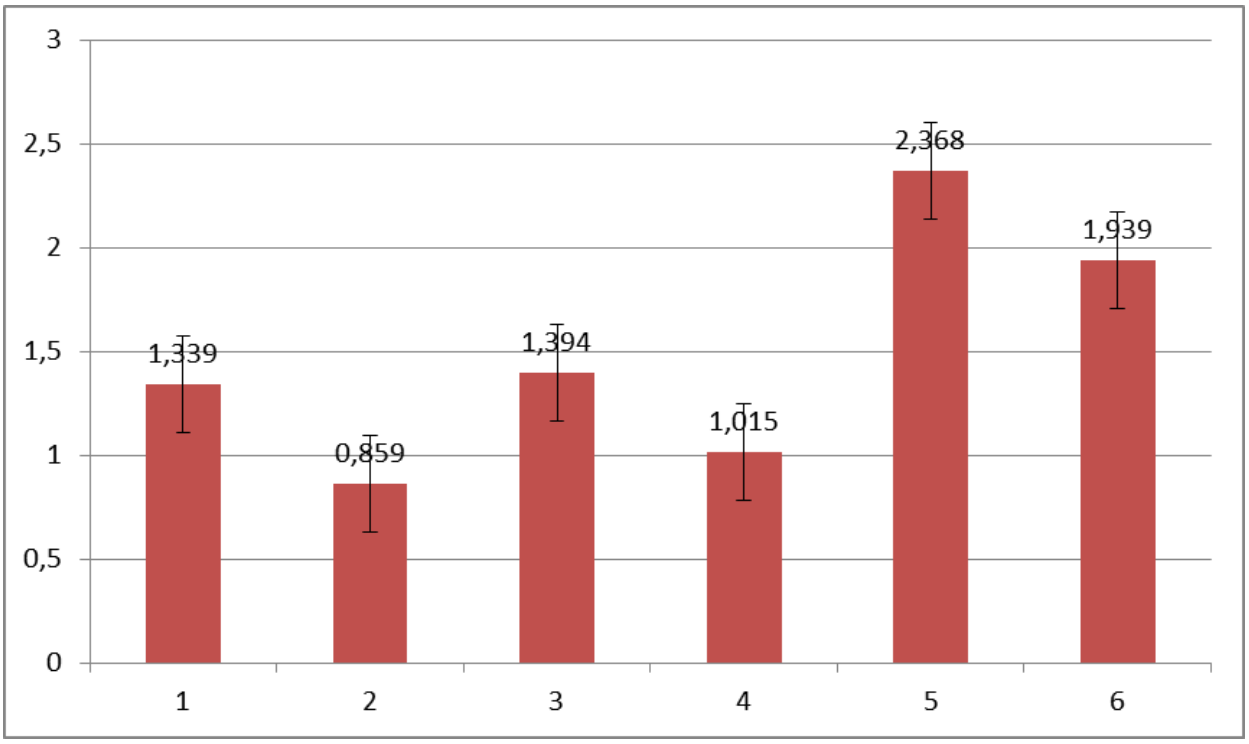
4. REZULTATI

Tablica 8. Rezultati očitanja pH vrijednosti i refraktometrijskog mjerenja udjela suhe tvari

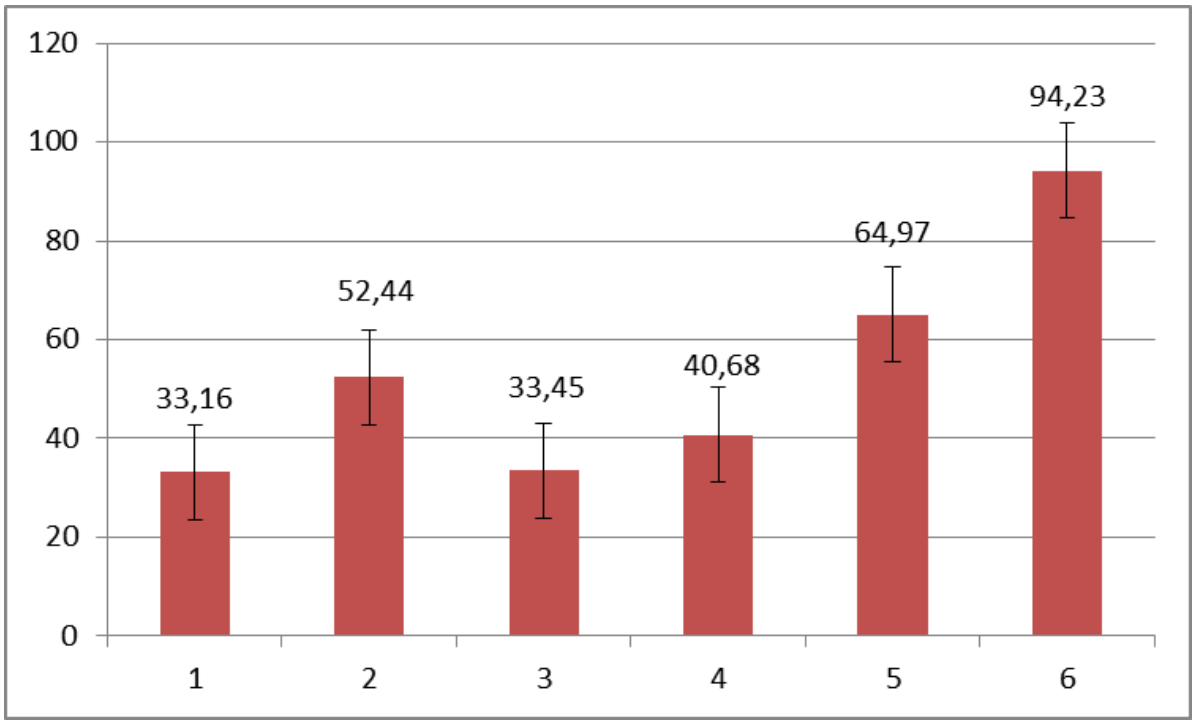
UZORAK	pH	SUHA TVAR (°Brix)
1	3,93	30,60
2	4,06	11,45
3	3,92	30,30
4	3,89	32,60



Slika 3. Koncentracije ukupnih fenola (mg/g) u uzorcima



Slika 4. Koncentracije antocijana (mg/g) u uzorcima



Slika 5. Udjeli suhe tvari (%) u uzorcima

5. RASPRAVA

Zadatak ovog rada bio je odrediti ukupni udio fenola i antocijana u soku aronije te ih usporediti sa udjelima u svježim bobicama aronije, dehidratiranoj aroniji i ostatku nastalom pasiranjem bobica kako bi bolje razumijeli postupke prerade i maksimalno zadržali bogatstvo prirodnih antioksidansa.

Očitanje pH mjerenja pokazalo je da pH vrijednosti svježeg i pasteriziranog soka aronije iznose 3,93 te 3,92 što se relativno podudara rezultatima drugih istraživanja (Ara, 2002.). U istraživanju koje su proveli Strigl i sur. (1995.), pH vrijednost svježih bobica aronije iznosila je 3.3-3.7, dok je u ovom istraživanju iznosila 3,89.

Udio topljive suhe tvari bio je najviši kod pasteriziranog soka aronije te je iznosio 32,6° Brix. Malo niži bio je kod svježeg soka gdje je iznosio 30,60° Brix te kod svježih bobica gdje je iznosio 30,30° Brix. Najniži udio suhe tvari bio je u ostatku nakon pasiranja gdje je iznosio 11,45° Brix.

Ukupni udio suhe tvari pokazao se najvišim kod uzoraka koji su prethodno bili podvrgnuti liofilizaciji. Ostatak nakon pasiranja imao je 94,23% ukupne suhe tvari, a nižu vrijednost imale su dehidratirane bobice aronije čiji je ukupni udio suhe tvari iznosio 64,97%. Od ostalih uzoraka, najveći ukupni udio suhe tvari nalazio se u ostatku nakon pasiranja gdje je iznosio 52,44%. Kod svježih bobica iznosio je 40,68%, a kod svježeg i pasiranog soka udio ukupne suhe tvari bio je najniži te je iznosio 33,16% i 33,45%.
U istraživanju koji su proveli Tolić i sur. (2005.), ukupni udio suhe tvari u soku aronije iznosio je između 13,30- 20,99%, a u dehidratiranim bobicama iznosio je između 82-84,66%. Ovakva odstupanja mogu se pripisati i klimatskim uvjetima s obzirom da je 2017. godina bila relativno sušna te je i sama aronija bila djelomično dehidratirana prije same obrade.

Mjerenje udjela ukupnih fenola obavljeno je spektrofotometrijski te rezultati pokazuju da se najviši udio ukupnih fenola nalazi u dehidratiranim uzorcima; kod bobica aronije iznosi 3,09 mg/g uzorka, a malo niža vrijednost određena je kod dehidratiranog ostatka nakon pasiranja te je iznosila 2,81 mg/g. Kod pasiranog soka udio ukupnih fenola iznosio je 2,525 mg/g, a kod svježog soka dobivena je slična vrijednost u iznosu od 2,285 mg/g. Najniže vrijednosti udjela ukupnih fenola dobivene su kod ostatka nakon pasiranja i svježih bobica, a iznosile su 0,97 mg/g te 1,01 mg/g. Rezultati za ukupne fenole u soku su niži od vrijednosti koje navode

Tolić i sur. (2005.), međutim, oni su analizirali bistre sokove, dok je u ovom radu uzorak bio kašasti sok što također može utjecati na konačni rezultat. Također, u njihovom istraživanju analizirane su i sušene bobice iz komercijalne proizvodnje te u usporedbi s tim rezultatima, rezultati dobiveni u ovom radu znantno su viši što upućuje na to da je proces liofilizacije bio uspješan.

Kod određivanja udjela antocijana najviši udio iznosio je 2,368 mg/g i to kod dehidratiranih bobica aronije. U istraživanju koje su proveli Tolić i sur.(2005.), udio ukupnih antocijana iznosio je između 1,41-1,47 mg/g dehidratiranih bobica aronije.

Udio ukupnih antocijana bio je relativno visok i kod svježeg i pasteriziranog soka te je iznosio 1,339 mg/g i 1,394 mg/g. Nešto niži bio je kod svježih bobica i iznosio je 1,015 mg/g, a najniži je bio kod ostatka nakon pasiranja gdje je iznosio 0,859 mg/g što je u skladu s rezultatima Tolić i sur., (2005.)

Na udio ukupnih antocijana utječu faktori poput pH vrijednosti, kemijskog sastava, temperature, svijetla i kisika, ali i procesi proizvodnje soka, ponajviše pasiranje, bistrenje i pasterizacija (Kapci i sur., 2013.; Walkowiak-Tomczak, 2007.). U prerađenim uzorcima aronije tj. u sokovima i sušenim proizvodima određene su više vrijednosti ukupnih fenola i antocijana što je vjerojatno posljedica bolje ekstrakcije navedenih spojeva iz prerađenih uzoraka u odnosu na svježe uzorke. Tijekom sušenja dolazi i do koncentriranja sastojaka aronije, ali je povećanje ukupnih fenola i antocijana veće od povećanja udjela suhe tvari.

6. ZAKLJUČAK

Uslijed obavljenog istraživanja i obrađenih rezultata, ovim radom zaključujem sljedeće:

1. Ukupna suha tvar svježe aronije iznosila je 40,68%, a topljiva je bila 32,60° Brix dok su u pasteriziranom soku vrijednosti bile 33,45 % i 30,30° Brix.

2. Proces proizvodnje soka nema utjecaja na pH vrijednost koja se kreće od 3,89 (svježe bobice) do 3,92 (pasterizirani sok).

3. Pasterizacijom soka aronije dolazi do porasta udjela ukupnih fenolnih spojeva i ukupnih antocijana. Udio ukupnih fenola u svježoj aroniji iznosio je 1,01 mg/g, dok je u pasteriziranom soku iznosio 2,525 mg/g. Udio ukupnih antocijana u svježoj aroniji iznosio je 1,015 mg/g, dok je u pasteriziranom soku iznosio 1,394 mg/g.

4. Proces sušenja bobica rezultirao je višestrukim povećanjem udjela ukupnih fenola (3,09 mg/g) i ukupnih antocijana (2,368 mg/g), većim od samog povećanja udjela suhe tvari (64,97%).

5. Ostatak nakon pasiranja ima ukupnu suha tvar višu od svježih bobica i iznosi 52,44%, dok ima najniži udio topljive suhe tvari (11,45° Brix), ukupnih fenola (0,97 mg/g) i antocijana (0,859 mg/g). Proces sušenja ostatka nakon pasiranja rezultirao je povećanjem udjela suhe tvari (94,23%), ukupnih fenola (2,81 mg/g) i ukupnih antocijana (1,939 mg/g).

7. LITERATURA

- Ara V. (2002) FACHTHEMEN-Schwarzfruchtige Aronia: Gesund--und bald in aller Munde?. Flussiges Obst, **69**(10): 653-657.
- Bräunlich M., Slimestad R., Wangensteen H., Brede C., Malterud K. E., Barsett H. (2013) Extracts, anthocyanins and procyanidins from Aronia melanocarpa as radical scavengers and enzyme inhibitors. Nutrients, **5**(3): 663-678.
- Cook N. C., Samman S. (1996) Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. The Journal of nutritional biochemistry, **7**(2): 66-76.
- Giusti M. M., Wrolstad R. E. (2001) Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry.
- Bonfill M., Goleniowski M., Cusido R., Palazón J. (2013) Phenolic acids. In Natural Products (str. 1951-1973). Springer Berlin Heidelberg.
- Han X., Shen T., Lou H. (2007) Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences, **8**(9): 950-988.
- Hidalgo G. I., Almajano M. P. (2017) Red fruits: Extraction of Antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. Antioxidants, **6**(1): 7.
- Hollman P. C., Katan M. B. (1998) Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. In Diversification in Toxicology—Man and Environment (str. 237-248). Springer.
- Hudec J., Bakoš D., Mravec D., Kobida L. U., Burdová M., Turianica I., Hlušek J. (2006) Content of phenolic compounds and free polyamines in black chokeberry (Aronia melanocarpa) after application of polyamine biosynthesis regulators. Journal of agricultural and food chemistry, **54**(10): 3625-3628.
- Jakobek L., Šeruga M., Medvidović-Kosanović M., Novak I. (2007) Antioxidant activity and polyphenols of aronia in comparison to other berry species. Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS), **72**(4): 301-306.
- Jeppsson N., Niklas J. (1998) Evaluation of black chokeberry, Aronia melanocarpa, germplasm for production of natural food colourants. Acta. Hort. **484**: 193-198.
- Jeppsson N., Johansson R. (2000) Changes in fruit quality in black chokeberry (Aronia melanocarpa) during maturation. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, **75**(3): 340-345.
- Juranović Cindrić I., Zeiner M., Mihajlov-Konanov D., Stingeder G. (2017) Inorganic Macro-and Micronutrients in "Superberries" Black Chokeberries (Aronia melanocarpa) and Related Teas. International journal of environmental research and public health, **14**(5): 539.
- Jurikova T., Mlcek J., Skrovankova S., Sumczynski D., Sochor J., Hlavacova I., Orsavova, J. (2017) Fruits of Black Chokeberry Aronia melanocarpa in the Prevention of Chronic Diseases. Molecules, **22**(6): 944.
- Kapci B., Neradová E., Čížková H., Voldřich M., Rajchl A., Capanoglu E. (2013) Investigating the antioxidant potential of chokeberry (Aronia melanocarpa) products. J. Food Nutr. Res, **52**: 219-229.
- Kawecki Z., Kopytowski J.,Tomaszewska Z. (1999) Wplyw stosowania dwoch sposobow utrzymania gleby na wzrost i plonowanie 11 odmian jabloni

uszlachetnionych na podkladce M 26. Biuletyn Naukowy. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, **3**: 49-59.
- Krawiec P. (2008) Effects of biostimulators on growth, cropping and fruit quality of chokeberry. Monographs Series: Biostimulators in Modern Agriculture: Fruit Crops: 42-48.
- Krenn L., Steitz M., Schlicht C., Kurth H.,Gaedcke F. (2007) Anthocyanin-and proanthocyanidin-rich extracts of berries in food supplements–analysis with problems. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, **62**(11): 803-812.
- Kulling S. E.,Rawel H. M. (2008) Chokeberry (Aronia melanocarpa)–A review on the characteristic components and potential health effects. Planta medica, **74**(13): 1625-1634.
- Lovrić T., Tripalo B., Hribar J., Pozderović A. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva., Hinus., str. 179, 180, 212, 213
- Lovrić T., Piližota V., Genter T. (1994) Konzerviranje i prerada voća i povrća., Nakladni zavod Globus., str. 83
- Macheix J. J., Sapis J. C., Fleuriet A., Lee C. Y. (1991) Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, **30**(4): 441-486.
- Mayer-Miebach E., Adamiuk M.,Behsnilian D. (2012) Stability of chokeberry bioactive polyphenols during juice processing and stabilization of a polyphenol-rich material from the by-product. Agriculture, **2**(3): 244-258.
- McKay S. A. (2001) Demand increasing for aronia and elderberry in North America. New York Fruit Quarterly, **9**(3): 2-3.
- Oszmiański J., Lachowicz S. (2016) Effect of the production of dried fruits and juice from chokeberry (Aronia melanocarpa L.) on the content and antioxidative activity of bioactive compounds. Molecules, **21**(8): 1098.
- Oszmiański J., Wojdylo A. (2005) Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. European Food Research and Technology, **221**(6): 809-813.
- Ovaskainen M. L., Törrönen R., Koponen J. M., Sinkko H., Hellström J., Reinivuo H., Mattila P. (2008) Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. The Journal of Nutrition, **138**(3): 562-566.
- Plocharski W., Zbroszczyk J., Lenartowicz W. (1989) Aronia fruit (Aronia melanocarpa, Elliot) as a natural source of anthocyanin colorants. The stability of the color of aronia juices and extracts. Fruit Science Reports, **16**(1).
- Pool-Zobel B. L., Bub A., Schröder N., Rechkemmer G. (1999) Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells. European Journal of Nutrition, **38**(5): 227-234.
- Pravilnik o voćnim sokovima i njima sličnim proizvodima namijenjenim za konzumaciju (2013.) *Narodne novine* 48 (NN 48/2013)
- Seidemann J. Chokeberries a fruit little-known till now. Dtsch Lebensmitt Rundsch 1993; **89**: 149–51
- Shortle E., O'Grady M.N., Gilroy D., Furey A., Quinn N., Kerry J.P. (2014) Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (Crataegus monogyna) extracts in bovine muscle homogenates. Meat Science **98**(4): 828-834.

- Slimestad R., Torskangerpoll K., Nateland H. S., Johannessen T., Giske N. H. (2005) Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa. Journal of Food Composition and Analysis, **18**(1): 61-68.
- Strigl A. W., Leitner E., Pfannhauser W. (1995) Die schwarze Apfelbeere (Aronia melanocarpa) als natürliche Farbstoffquelle. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, **91**(6): 177-180.
- Šnebergrová J., Čížková H., Neradova E., Kapci B., Rajchl A., Voldřich, M. (2014) Variability of characteristic components of aronia. Czech J Food Sci, **32**: 25-30.
- Tanaka T., Tanaka A. (2001) Chemical components and characteristics of black chokeberry. Journal- Japanese society of food science and technology, **48**(8): 606-610.
- Tolić M. T., Jurčević I. L., Krbavčić I. P., Marković K., Vahčić N. (2015) Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (Aronia melanocarpa) products. Food technology and biotechnology, **53**(2): 171.
- Tolić M. T., Krbavčić I. P., Vujević P., Milinović B., Jurčević I. L., Vahčić N. (2017) Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of Chokeberries (Aronia melanocarpa L.). Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, **67**(1): 67-74.
- Vattem D. A., Ghaedian R., Shetty K. (2005) Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. Asia Pacific journal of clinical nutrition, **14**(2): 120.
- Walkowiak-Tomczak D. (2007) Changes in antioxidant activity of black chokeberry juice concentrate solutions during storage. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, **6**(2): 49-54.
- Wawer I., Wolniak M., Paradowska K. (2006) Solid state NMR study of dietary fiber powders from aronia, bilberry, black currant and apple. Solid state nuclear magnetic resonance, **30**(2): 106-113.
- Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. (2004) Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. Journal of agricultural and food chemistry, **52**(26): 7846-7856.

Izjava o izvornosti

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

Vedrana Drkelić

Vedrana Drkelić