

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Lucija Kirin

7153/N

**UTJECAJ DODATKA SOKA JABUKE NA
SASTAV I SVOJSTVA NAPITKA OD LISTA
MASLINE**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta: Primjena inovativnih tehnologija u proizvodnji biljnih ekstrakata kao sastojaka funkcionalne hrane (IT-PE-FF)

Mentor: Prof.dr.sc.Branka Levaj

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

UTJECAJ DODATKA SOKA JABUKE NA SASTAV I SVOJSTVA NAPITKA OD LISTA MASLINE

Lucija Kirin, 0058207463

Sažetak:

U ovom istraživanju ispitao se utjecaj dodatka soka jabuke na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva napitka od lista masline s ciljem mogućeg kreiranja jednog funkcionalnog napitka. Priređeno je 8 uzoraka s različitim udjelima soka jabuke s ili bez dodane saharoze. Određivao se udio suhe tvari, pH vrijednost i boja (CIELab metodom) napitaka te ukupni fenoli Folin – Ciocalteu metodom i antioksidacijska aktivnost DPPH metodom. Boja, okus, miris i aroma senzorski su ocjenjivani kvantitativnom deskriptivnom analizom. S dodatkom soka jabuke topljiva suha tvar napitka od lista masline s početnih 0,2% raste do 79%, pH vrijednost s 5,38 pada do 3,82, parametri boje b^* , C^* i H^0 rastu, a a^* se smanjuje te udio ukupnih fenola raste s početnih 0,206 do 0,342 mg/mL i antioksidacijski kapacitet raste s početnih 0,688 do 0,866 $\mu\text{mol/mL}$. Uzorak s najvećim udjelom soka jabuke senzorski je najbolje ocijenjen, ima najviše ukupnih fenola i najveću antioksidacijsku aktivnosti.

Ključne riječi: antioksidacijska kapacitet, fenoli, funkcionalno piće, list masline, oleuropein

Rad sadrži: 34 stranice, 8 slika, 5 tablica, 70 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnici

**Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23,
Zagreb**

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Pomoć pri izradi: dr.sc. Maja Repaić

Datum obrane: 19.09.2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University study Nutrition
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

**Effect of adding apple juice to the physical and chemical properties of a beverage
made out of olive leaves**

Lucija Kirin, 0058207463

Abstract:

The aim of this research was the testing effect of adding apple juice to the physical and chemical properties and the organoleptic characteristics of a beverage made out of olive leaves with the aim of creating a functional beverage. Eight samples have been prepared with different proportion of apple juice with or without added sucrose. Dry matter content, pH value and the colour (CIELab colour scale) and total phenols by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity by the DPPH assay. The color, taste, smell and aroma were evaluated by quantitative descriptive analysis. With the addition of apple juice, the soluble dry matter from the olive leaf from the starting 0.2% increases to 79%, the pH value ranges from 5.38 to 3.82, the color parameters b^* , C^* and H^0 increase, and a^* decreases. The content of total phenols increases from the initial 0.206 to 0.342 mg / mL and the antioxidant capacity increases from the initial 0.688 to 0.866 $\mu\text{mol} / \text{mL}$. Sample with the highest proportion of apple juice is best rated, has the most total phenols and the highest antioxidant activity.

Keywords: antioxidant capacity, oleuropein, olive leaf, soft drinks, total phenol

Thesis contains: 34 pages, 8 figures, 5 tables, 70 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Phd Branka Levaj, Full professor

Technical support and assistance: Phd Maja Repajić, Senior Scientific Assistant

Defence date: September 19, 2018

SADRŽAJ

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Maslina	2
2.2. List masline	2
2.2.1. Kemijski sastav lista masline.....	3
2.2.2. Fenolni spojevi.....	3
2.2.3. Fenolni spojevi lista masline	4
2.2.4. Oleuropein	4
2.2.5. Utjecaj oleuropeina na zdravlje ljudi.....	5
2.3. Jabuka	5
2.4. Osvježavajuća bezalkoholna pića	6
2.4.1. Funkcionalni napitci	6
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	8
3.1. Materijali.....	8
3.1.1. Sirovine.....	8
3.1.2. Napitak od lista masline	8
3.1.3. Napitak od lista masline s dodatkom koncentrata jabuke	8
3.2. METODE	10
3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari	10
3.2.2. Određivanje pH vrijednosti	10
3.3.3. Određivanje boje CIELAB metodom.....	11
3.3.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola.....	12
3.3.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom	14
3.3.6. Određivanje senzorskih svojstava napitka	17
3.3. REZULTATI I RASPRAVA	18

3.3.1. Topljiva suha tvar.....	18
3.3.2. pH vrijednost.....	19
3.3.3. Boja.....	20
3.3.4. Ukupni fenoli	21
3.3.5. Antioksidacijski kapacitet.....	23
3.3.6. Senzorska analiza.....	24
4. ZAKLJUČAK	27
5. LITERATURA.....	<u>2728</u>

1.UVOD

Počeci uzgoja maslina datiraju iz daleke prošlosti, a najviše je rasprostranjen u mediteranskom bazenu zbog umjereno tople klime u kojoj ne dolazi do prevelikih i pre naglih promjena temperature što maslini kao biljci odgovara.

Plod stabla masline koristi se u proizvodnju maslinovog ulja koje čini sastavni dio mediteranskog tipa prehrane koji zbog pozitivnog učinka na ljudsko zdravlje često služi kao primjer zlatnog standarda pravilne prehrane u Znanosti o prehrani. Glavni aktivni sastojci ulja su oleinska kiselina, skvalen i fenolni spojevi koji imaju snažno antioksidacijsko djelovanje.

Prilikom uzgoja masline stvara se velika količina otpada u koje se donedavno ubrajalo i lišće masline. Tijekom obrezivanja stabla dolazi do njegova nakupljanja i može se naći u velikim količinama pri proizvodnji maslinovog ulja prilikom odvajanja plodova za proizvodnju ulja. U prošlosti listovi masline imali su vrlo važnu ulogu u liječenju te su na području Mediterana tisućama godina bili poznati kao narodni lijek. Lišće se oralno uzimalo za crijevne bolesti, ali i kao sredstvo za čišćenje usta. Sušeni listovi uzimali su se oralno za sprječavanje dijareje i liječenje infekcija dišnog i mokraćnog sustava. Brojna istraživanja utvrdila su kako je lišće masline bogato fenolnih spojeva i antioksidanata, čime se popularizirala njegova upotreba u prehrambenoj industriji.

Najčešće se osušeno lišće masline koristi za pripremu čaja, a ekstrakt u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji te medicini. Posljednjih dvadesetak godina u prehrambenoj industriji porasla je potražnja za funkcionalnim proizvodima pa je tako i u industriji bezalkoholnih osvježavajućih pića stavljen naglasak na proizvodnju funkcionalnih napitaka, koji hidriraju organizam te pozitivno djeluje na ljudsko zdravlje zbog prisutnosti biološki aktivnih komponenti. Zbog svog kemijskog sastava i dokazanih pozitivnih utjecaja na ljudsko zdravlje ekstrakt lista masline mogao bi postati novi trend u prehrambenoj industriji.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj dodatka soka od jabuke te dodatka soka od jabuke i saharoze na sastav i svojstva napitka od lista masline. Određivala su se fizikalno-kemijska svojstva pripremljenih napitaka (udio suhe tvari, pH vrijednost i boja), koncentracija ukupnih fenola pripremljenih napitaka i antioksidacijska aktivnost te je provedena i senzorska analiza, čime su određivana senzorska svojstva- boja, okus, miris i aroma.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Maslina

Maslina (*Olea europaea L.*), simbol Mediterana i dio njegova kulturnog obilježja, prepuna je simbolike i egzistira s ljudima već oko 5000-6000 godina. Uzgaja se diljem svijeta, ali najveći dio ipak otpada na područje Mediterana (98%) (Abaza i sur., 2015). U Republici Hrvatskoj uzgoj masline veže se uz osnivanje grčkih naseobina na području priobalja u 4. stoljeću pr.Kr. (Defilippis, 2001). Uzgajaju se brojni kultivari, a najzastupljeniji kultivar je Oblica sa 75% fondom stabala masline u Hrvatskoj (Strikić i sur., 2007).

Maslina je zimzelena biljka iz porodice Oleaceae. Korijen masline je razgranat, a visina stabla može narasti od 8 do 10 metara. Listovi su nasuprotni, cjeloviti, kožasti, ovalno kopljasti, u prosjeku dugački 5-8 cm, zelenog lica i srebrnastog naličja, prosječnog životnog vijeka oko 3 godine. Raste na oskudnom tlu, gotovo bez vode, ali uz obilje sunca. Zbog svoje dugovječnosti, pojedina živuća stabla su stara i preko tisuću godina (Benčić i sur., 2011).

2.2. List masline

Maslina se dugi niz godina uzgaja zbog plodova koji se konzerviraju ili prerađuju u ulje jednostavnim mehaničkim cijedenjem ploda (Koprivnjak, 2006). Zbog visokog sadržaj nezasićenih masnih kiselina i visokog sadržaja polifenola te drugih fitokemikalije, maslinovo ulje izrazito povoljno djeluje na ljudsko zdravlje (Baccouri i sur., 2008) te je glavna okosnica mediteranskog načina prehrane (Obied i sur., 2012).

Posljednjih nekoliko godina sve više se istražuje jedan od nusproizvoda masline, list (slika 1). U narodnoj medicini koristi se stoljećima u liječenju dijabetesa, hipertenzije ili čak hiperkolesterolemije (de Bock i sur., 2013).



Slika 1: List masline (Anonymous 1, 2015)

Lišće predstavlja 10% masenog udjela maslina prikupljenih za ekstrakciju ulja (Herrero i sur., 2011), a procjenjuje se da rezidualna biomasa od prinosa obrezivanja maslina iznosi od 1 do 11 tona/ha, što ih čini ogromnim, jeftinim i neiskorištenim izvorom energije i bioaktivnih komponenata (Spinelli i Picchi, 2010).

2.2.1. Kemijski sastav lista masline

Kemijski sastav lista masline varira ovisno o podrijetlu, udjelu grančica, uvjetima skladištenja, klimatskim uvjetima, sadržaju vlage i stupnju onečišćenja te ovisno o primijenjenim procesima prerade, tj. procesima sušenja i ekstrakciji (El i sur., 2009). List masline sastoji se od ugljikohidrata, ulja, sirovih proteina, vlakna, anorganskih spojeva i brojnih drugih sekundarnih biljnih metabolita (Skaltsounis i sur., 2015). Udio sirovih proteina varira između 9,5 i 12,9 %. Najzastupljenije aminokiseline su prolin, leucin, arginin, glicin, valin i alanin (Vogel i sur., 2015). Od ugljikohidrata u listu masline nalaze se glukoza i šećerni alkoholi od kojih je najvažniji manitol (Therios, 2008). Od anorganskih tvari u listu masline prisutni su kalcij, kalij, magnezij, fosfor, sumpor i silicij (Alcázar Román i sur., 2014). No upravo su fenolni spojevi zaslužni za njihovu biološku vrijednost.

2.2.2. Fenolni spojevi

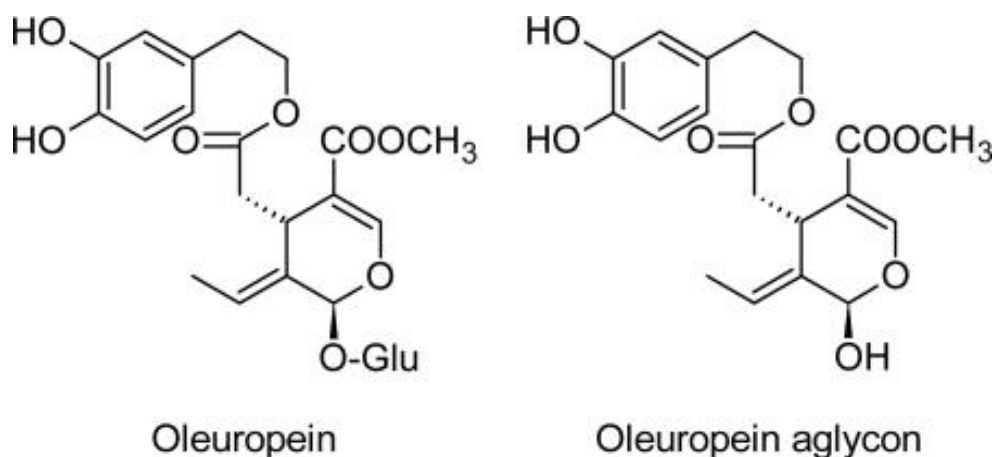
Fenolni spojevi su velika skupina biološki aktivnih fitokemikalija koji imaju veliku antioksidacijsku aktivnost i sposobnost smanjenja nastanka oštećenja biljnih stanica uslijed pojave oksidacijskog stresa. Prisutni su u svim višim biljkama, iako postoje velike kvalitativne i kvantitativne razlike između vrsta (Kähkönen i sur., 1999). U istraživanju Kähkönen i sur. (1999) analizirali su ukupni fenolni sadržaj 92 biljne vrste čime su dokazali da se velike količine fenolnih spojeva nalaze u bobičastom voću, a u manjim koncentracijama u žitaricama i povrću. Sadrže jednu ili više hidroksilnih skupina vezanih na aromatski prsten, a strukturno su građeni u rasponu od jednostavnih fenolnih molekula do visokopolimeriziranih spojeva (Bravo, 1998). Prema kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide i ostale fenolne spojeve kao što su fenolne kiseline i ostali srodni spojevi. Budući da nastaju kao sekundarni biljni metaboliti različitih metaboličkih puteva (pentoza fosfatni put, put šikiminske kiseline i fenilpropanoidni put) (Talhaoui i sur., 2015.) imaju vrlo važnu fiziološku i morfološku ulogu u rastu i reprodukciji biljke, zaštiti protiv patogena i predatora (Bravo, 1998) te pridonose boji i senzorskim karakteristikama voća i povrća (Alasalvar i sur., 2001).

2.2.3. Fenolni spojevi lista masline

U plodu i listu masline fenolni spojevi variraju ovisno o razvoju i zrenju biljke. List masline smatra se jeftinim i lako dostupnim prirodnim izvorom fenolnih spojeva (Piné i sur., 2012) s obzirom na prisutnost brojnih fenolnih spojeva različite prirode (Abaza i sur., 2015). U odnosu na maslinovo ulje u kojem se nalazi 0,005-0,12% fenola, u listu masline ta vrijednost je 1-14% (Vogle i sur., 2015). Kombinacija fenola prisutnih u ekstraktu lista masline ima antioksidacijsko i antimikrobno djelovanje (Sudjana i sur., 2009). Najzastupljeniji polifenolni spojevi u ekstraktu lista masline su: oleuropein, verbaskozid, luteolin-7-O-glukozid, hidroksitirozol, i tirozol (Hayes i sur., 2011). Najznačajniji spoj u listovima masline, sa snažnim antioksidacijskim djelovanjem je oleuropein (Mazziotti i sur., 2007).

2.2.4. Oleuropein

Oleuropein (slika 2) je heterozidni ester β -glikozilirane elenolske kiseline i 3,4-dihidroksi-feniletanola (hidroksitirozola) te pripada skupini sekoiridoida koji se nalaze isključivo u biljkama obitelji Olearaceae (Bendini i sur., 2007). Otkriven je 1908. godine od strane Bourquelot i Vintilesco. Sadrži orto-difenolnu (katehol) strukturu koja djeluje kao antioksidans (Tuck i Hayball, 2002). Niz čimbenika kao što su prisutnost zraka, svjetla, kiselina, metalnih iona i povišena temperatura dovodi do hidrolize oleuropeina i nastaje hidroksitirozol (Yuan i sur., 2015), spoj velikog antioksidacijskog kapaciteta (Erbay i Icier, 2010). U sirovom ekstraktu lista masline je najzastupljeniji fenolni spoj (29%) (Atiok i sur., 2008).



Slika 2: Struktura oleuropeina (Omar, 2010).

2.2.5. Utjecaj oleuropeina na zdravlje ljudi

Oleuropein pokazuje brojne farmakološke učinke - antioksidacijsko, protuupalno, antiaterogeničko, protutumorsko, antimikrobno i antivirusno djelovanje te antiaging djelovanje i u zaštiti kože (kozmetika) (Omar, 2010). Ovisno o dozi oleuropein snažno inhibira oksidaciju bakrovog sulfata u LDL-u (lipoprotein male gustoće). Osim što povećava rezistentnost LDL-a na oksidaciju, istovremeno smanjuje ukupni, slobodni i esterificirani kolesterol u plazmi (Omar, 2010). Istraživanja su pokazala kako oleuropein povećava proizvodnju dušikovog oksida u makrofagima povećanjem aktivnosti inducibilnog oblika NO-sintaze te inhibira aktivnost lipooksigenaze pri čemu djeluje protuupalno (de la Puerta i sur., 1999). Djeluje antimikrobno protiv gram-negativnih i protiv gram-pozitivnih bakterija, ali i protiv mikoplazmi tako da oštećuje bakterijsku membranu i/ili oštećuje sloj peptidoglikana, inhibira sintezu aminokiselina potrebnih za rast bakterija ili potiče fagocitozu (Bisignano i sur., 1999). Ublažava inicijaciju, promociju i progresiju tumorskih stanica. Ujedno se pokazao i kao najpotentniji fenolni spoj za smanjenje sposobnosti života stanica raka dojke (Goulas i sur., 2009). Martorell i sur. (2016) istražujući neuroprotektivno djelovanja oleuropeina, dokazali su njegov utjecaj na smanjenje agregacije β -amiloida, proteina svojstvenog za Alzheimerovu bolest te pozitivan učinak na demenciju.

2.3. Jabuka

Jabuka, plod stabla jabuke, jedno od najpopularnijeg voća u svijetu. Plodovi sazrijevaju od srpnja do listopada, ovisno o sorti jabuke, te su slatko-kiselog okusa. Sveprisutna je u ljudskoj prehrani upravo zbog kemijskog sastava koji ju čini bogatim izvorom monosaharida, prehrambenih vlakana, minerala i brojnih drugih bioloških aktivnih spojeva kao što su fenoli (Boyer i Liu, 2004). Fenolni spojevi su odgovorni za antioksidacijska svojstva zbog velikog broja dvostrukih veza i hidroksilnih skupina koje direktno utječu na antioksidacijsku aktivnost (Lee i sur., 2003). Prema Boyer i Liu (2004) jabuke imaju najvišu razinu antioksidansa (nakon brusnica) u odnosu na crveno grožđe, jagode, breskve i limun. 100 g jestivog dijela jabuke ima antioksidativnu aktivnost jednaku 1,500 mg vitamina C (D'Angelo et al., 2007). Brojne studije povezuju konzumaciju jabuke i pozitivne učinke na ljudsko zdravlje: smanjenje kolesterola u plazmi i smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti, antiproliferativno djelovanje protiv stanica raka te antimikrobno djelovanje (Kalinowska i sur., 2014).

2.4. Osvježavajuća bezalkoholna pića

U osvježavajuća bezalkoholna pića svrstavaju se proizvodi dobiveni odgovarajućim tehnološkim postupkom od vode ili mineralne vode, šećera, voćnog soka, koncentriranog voćnog soka, voćne pulpe, voćnog marka, voćne baze, biljnih ekstrakata, žitarica, proizvoda od žitarica, sirutke, proizvoda od sirutke, sirupa za osvježavajuća bezalkoholna pića, s dodatkom ili bez dodatka ugljičnog dioksida i aditiva dopuštenih pravilnikom (Pravilnik, 1997).

Zbog brojnih aditiva (sintetskih boja, umjetnih sladila, pojačivača okusa) i šećera koji se dodaju u takva pića i njihovog utjecaja na ljudsko zdravlje, pokrenute su brojne kampanje diljem svijeta čiji je cilj zabraniti njihovu konzumaciju u školama i uklanjane automata s hranom i pićima (Hawkes, 2010). Istraživanja su pokazala kako se redovna konzumacija bezalkoholnih pića sa šećerom može smatrati primarnim izvorom dodanog šećera u prehrani, što se povezuje s pojavom pretilosti i dijabetesa tipa 2 (de Koning i sur., 2011). Dodatkom kiseline, najčešće fosforne ili limunske kiseline, pH bezalkoholnih osvježavajućih pića je nizak zbog čega djeluju erozivno na zubnu caklinu uzrokujući karijes (de Carvalho Sales-Peres i sur., 2007). Zbog negativnog pogleda na njihove proizvode, kompanije su se početkom 21. stoljeća okrenule proizvodnji funkcionalnih bezalkoholnih osvježavajućih pića (Szakály i sur., 2012).

2.4.1. Funkcionalni napitci

Funkcionalni napitak je proizvod koji potrošaču, osim svoje primarne funkcije-hidracije ljudskog organizma, ima i nutritivnu vrijednost koja je direktno povezane s pozitivnim utjecajem na ljudsko zdravlje (Ashurst, 2005). Dije se na napitke obogaćene sokovima, vitaminima i mineralima, sportske i energetske napitke, mliječne napitke, biljne i voćne napitke te nutraceutike.

Posljednjih godina povećala se upotreba biljnih ekstrakata kao baza funkcionalnog napitka zbog širokog raspona fitokemikalija (polifenola, karotenoidi, vitamina i minerala) koje pojedini biljni ekstrakt sadrži. Biljni ekstrakt je spoj ili smjesa spojeva dobivena različitim postupkom ekstrakcije iz svježih ili sušenih biljaka ili dijelova biljaka (list, cvijet, sjemenke, korijen ili kora) (Vinatoru, 2001). Razlikuju se infuzije, dekoti, tekući ekstrakti, polukruti (pilularni) ekstrakti, praškasti ekstrakti i tinkture (Handa i sur., 2008). Zbog jednostavnosti pripreme i ekonomičnosti, infuzije se najčešće koriste u proizvodnji napitaka. Biljni ekstrakti se u funkcionalna pića dodaju u fazi nastajanja sirupa zajedno s drugim sastojcima kao što su arome, boje, sladila i konzervansi. Prilikom njihove upotrebe u proizvodnji pića važno je obratiti pozornost na dvije značajke. Čest je intenzivan okus koji obično maskira željeni okus

proizvoda kao i izvorna intenzivna boja, u većini slučajeva smeđa. No zbog male količine ekstrakata koje se dodaju u pića, najčešće njihov dodatak ne uzrokuje problem u okusu i boji konačnog napitka (Ashurst, 2005).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Sirovine

Za izradu napitka koristile su se sirovine: list masline i koncentrat jabuke. Lišće masline prikupljeno je u hrvatskim maslinicima, iz okolice Ravnih Kotara, i mješavina je sorata Orkula (90%), Leccina (5%), Garbunčela i Marokanka. Sakupljeno lišće je dostavljeno na Prehrambeno-biotehnološki fakultet i rašireno po stolu s ciljem sušenja tri dana na sobnoj temperaturi. Nakon sušenja lišće je skladišteno u kartonskoj kutiji na sobnoj temperaturi. Koncentrat jabuke nabavljen je u suradnji s tvrtkom Prijedorčanka d.o.o. (Prijedor, Bosna i Hercegovina).

3.1.2. Napitak od lista masline

Prema prethodnom istraživanju za pripreme napitka od lista masline koristio se omjer 4 g lišća masline i 100 mL destilirane vode. Lišće je prethodno oprano, posušeno na sobnoj temperaturi i usitnjeno na manje komadiće. Prilikom vrenja destilirane vode u posudu su stavljeni listići i kuhani točno 3 minute na temperaturi vrenja, a zatim su još 10 min odstajali u vodi. Sljedeći korak je bio procijediti napitak preko cijedila kako bi uklonili listiće te profiltrirati napitak preko filter papira (Marić, 2017; Novak, 2017). Za istraživanje pripremljeno je oko 2,5 L napitka.

3.1.3. Napitak od lista masline s dodatkom koncentrata jabuke

U prethodno pripremljen i ohlađen napitak dodani su različiti volumeni koncentrata jabuke i saharoze. Ukupno je pripremljeno 8 napitaka volumena 250 mL. U uzorke J1, J2, J3 i J4 dodavao se samo koncentrat jabuke, a u uzorke J5, J6, J7 i J8 uz koncentrat i saharozu prema omjeru 1:1 kako bi topljiva suha tvar tog napitka bila jednaka topljivoj suhoj tvari napitka bez saharoze (tablica 1).

Tablica 1 . Popis pripremljenih uzoraka i njihove oznake

OZNAKA	UZORCI
N	Napitak od lista masline
K	Koncentrat jabuke
PRIPREMA NAPITAKA	
J1	98 mL napitka od lista masline + 2 mL koncentrata jabuke
J2	96 mL napitka od lista masline + 4 mL koncentrata jabuke
J3	94 mL napitka od lista masline + 6 mL koncentrata jabuke
J4	92 mL napitka od lista masline + 8 mL koncentrata jabuke
J5	Napitak od lista masline + 1 mL koncentrata jabuke + 0,80 g saharoze
J6	Napitak od lista masline + 2 mL koncentrata jabuke + 1,60 g saharoze
J7	Napitak od lista masline + 3 mL koncentrata jabuke + 2,15 g saharoze
J8	Napitak od lista masline + 4 mL koncentrata jabuke + 3,20 g saharoze

Tako pripremljeni napitci stavljeni su u prethodno oprane i osušene staklenke te su hermetički zatvoreni i skladišteni u hladnjaku 24h do analize. Sve analize osim senzorske provedena su na dva paralelna uzorka te su svi rezultati prikazani kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija.

3.2. METODE

3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari

Princip metode

Određivanje se temelji na očitavanju topljive suhe tvari digitalnim refraktometrom čije mjerenje se temelji na fizikalnom zakonu loma svjetlosti.

Aparatura i pribor

1. Refraktometar (ATAGO, PAL)

Reagensi

1. Destilirana voda

Postupak određivanja

Prije početka mjerenja potrebno je izbaždariti refraktometar na nulu pomoću destilirane vode tako da se par kapi nanese na optičko okno i pritisne tipka „start“ . Na isti način stavljaju se uzorci te nakon svakog mjerenja se optičko okno ispire destiliranom vodom. Mjerenje suhe tvari u svakom uzorku provedeno je u duplikatu nakon čega je izračunata srednja vrijednost i standardna devijacija.

3.2.2. Određivanje pH vrijednosti

Princip metode

Mjerenje pH vrijednosti uzoraka provodi se pomoću pH-metra. Kombinirana elektroda se uranja u uzorak i vrijednost se očitava na uređaju.

Aparatura i pribor

1. SevenEasy pH-metar (Mettler Toledo, Švicarska)

Reagensi

1. Destilirana voda

Postupak određivanja

Prije početka određivanja kombinirana elektroda se obavezno ispiru destiliranom vodom nakon čega se uranja u čašu s ispitivanim uzorkom. Promiješa se i nakon stabiliziranja vrijednosti očita se pH vrijednost uzorka.

3.3.3. Određivanje boje CIELAB metodom

Princip metode

Određivanje boje temelji se na parametrima trodimenzionalnog spektra boja (L, a i b) pomoću kolorimetra koji mjeri stupanj reflektirane svjetlosti od mjerne površine. Parametar L* je mjera svjetline iskazana vrijednostima od 0 do 100 (0=crveno, 100=bijelo). Vrijednost a* je iskazana vrijednostima od -60 do 60, a iskazuje spektar od crvene (pozitivne vrijednosti) do zelene (negativne vrijednosti) boje, pri čemu veća pozitivna vrijednost karakterizira crveniju boju. Vrijednost b* parametra ukazuje na spektar nijansi između žute i plave boje, a veća vrijednost označava izraženost žutog dijela spektra (McGuire, 1992). Kombinacijom a* i b* vrijednosti dobiva se zasićenost (C*) i ton (H*) boje uzorka, a L* vrijednost predstavlja svjetlinu te boje.

Aparatura i pribor

1. Staklena kiveta za kolorimetrijsko mjerenje
2. kolorimetar Spectrophotometer CM-5, Chroma meter CR-5 (Konica Minolta)

Postupak određivanja

Prije mjerenja kolorimetar je baždaren za to predviđenom originalnom bijelom i crnom pločicom. U uzorcima napitaka izmjereni su L*, a*, b* parametri.

Izračunavanje

Pomoću dobivenih vrijednosti parametara L*, a*, b* mogu se izračunati ton boje [1] te intenzitet ili zasićenost [2].

Ton boje (H): $H = \arctg(b/a)$ [1]

Intenzitet boje (C): $C = (a^2 + b^2)^{1/2}$ [2]

3.3.4. Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Princip metode

Određivanje koncentracije ukupnih fenola temelji se na reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom pri čemu dolazi obojenja uzorka. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibdenske kiseline. Pri blago alkalnim uvjetima fenolne tvari oksidiraju, a ove kiseline se reduciraju u wolframov oksid i molbidenov oksid koji oboje uzorak u plavo. Što je veći broj hidroksilnih grupa ili oksidirajućih grupa u fenolnim spojevima to će obojenje biti intenzivnije. Pomoću spektrofotometra mjeri se intenzitet obojenja pri valnoj duljini od 765 nm (Shortle i sur., 2014).

Aparatura i pribor

1. Spektrofotometar UV – 1600 PC (VWR, SAD)
2. Staklene kivete
3. Tehnička vaga K7 (E. Mettler, Zürich)
4. Analitička vaga AX224 (Ohaus Corporation, SAD)
5. Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
6. Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 1 L
7. Menzura, volumena 100 mL i 1 L
8. Staklene epruvete
9. Plastična ladica za vaganje

Reagensi

1. Folin-Ciocalteu reagens (Merck, Njemačka)
2. Natrijev karbonat bezvodni (Grammol, Hrvatska)
3. Zasićena otopina natrijeva karbonata (20%-tna otopina)

Priprema: 200 g anhidrida natrijeva karbonata otopi se u 800 mL vruće destilirane vode, a potom se ohladi na sobnu temperaturu. Doda se nekoliko kristalića natrijeva karbonata, nadopuni destiliranom vodom u odmjerne tikvici od 1000 mL i nakon 24 h filtrira.

Priprema uzorka

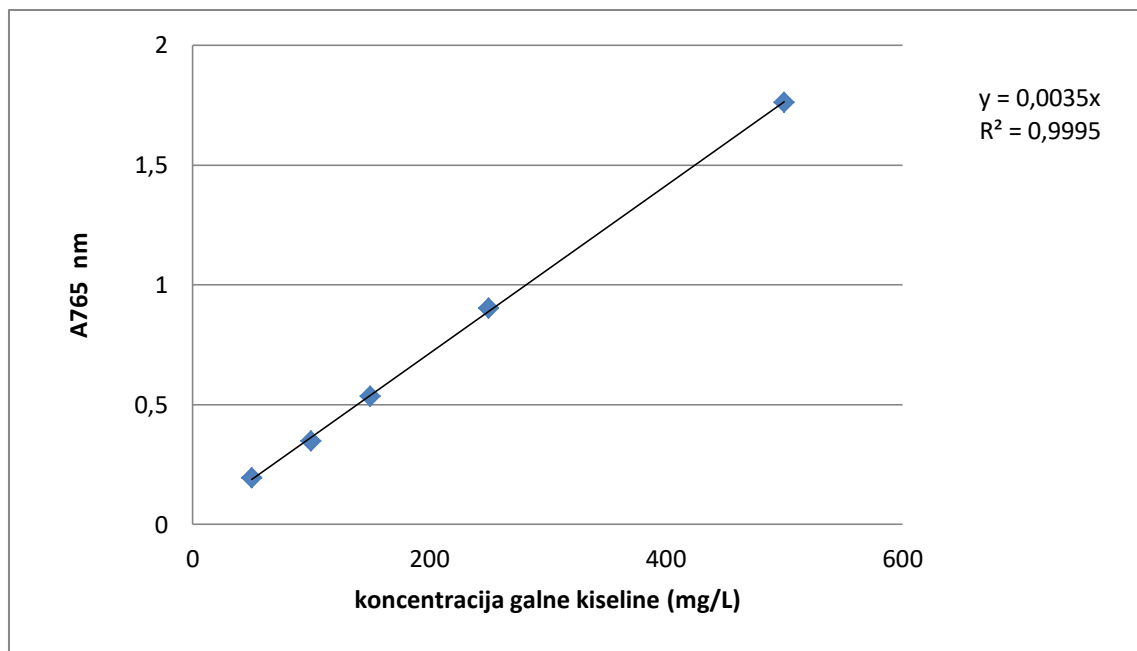
Prije početka analize koncentrat jabuke je razrijeđen 10 puta, a napitak od lista masline i pripremljeni napitci nisu razrijeđeni.

Postupak određivanja

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 100 μ L uzorka, 200 μ L Folin Ciocalteu reagens, 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve skupa se pomiješa pomoću Vortexa te se uzorci termostatiraju 25 minuta na 50° C u vodenoj kupelji. Slijedi mjerenje apsorbancije pri 765 nm. Osim uzoraka potrebno je pripremiti i slijepu probu na isti način, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju, u ovom slučaju destilirana voda.

Izrada baždarnog dijagrama

Za pripremu baždarnog pravca odvaži se 0,5 g galne kiseline koja se otopi u 10 ml 96 %-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 ml i nadopuni do oznake destiliranom vodom. Zatim se u odmjernim tikvicama od 100 ml rade razrjeđenja od pripremljene otopine galne kiseline. Otpipetira se redom 1, 2, 3, 4, 5 i 10 ml alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i destiliranom vodom se nadopunjuju do oznake. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 100 μ L otopine standarda u staklene epruvete te se redom dodaje 200 μ L 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 te se uzorci termostatiraju 25 min na 50° C u vodenoj kupelji od rotavapora. Za slijepu probu uzima se 100 μ L destilirane vode. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrti se baždarni pravac (slika 3) pomoću Microsoft Excela tako da se na apscisu nanese koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinatu izmjerene vrijednosti apsorbancije. Koncentracija ukupnih fenola se izračuna prema dobivenoj jednadžbi pravca.



Slika 3. Prikaz ovisnosti apsorbancije pri 765 nm o koncentraciji galne kiseline (mg/L)

Račun

Iz dobivenih apsorbanci pri izradi baždarnog pravca u excelu se izračuna jednadžba pravca [3] koja u ovom radu glasi:

$$y=0,0035*x \quad [3]$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 765 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/L)

Izračunata koncentracije galne kiseline (x) ovisno o uzorku množi se s faktorom razrijeđenja 10 te se dobivena vrijednost dijeli s 1000 kako bi se dobila vrijednost ukupnih fenola u mg/mL.

3.3.5. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Princip metode

Antioksidacijska aktivnost spojeva u hrani određuje se pomoću stabilnog dušikovog radikala ljubičaste boje DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Zbog nesporenog elektrona, princip određivanja temelji se na sposobnosti redukcije DPPH radikala, pri čemu dolazi do sparivanja

nesparenog elektrona. Prilikom reakcije fenola i DPPH dolazi do promjene boje iz ljubičaste u žutu, što se spektrofotometrijski prati kao pad apsorbancije pri 517 nm (Brand - Williams i sur., 1995). Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Braca i sur., 2001; Prior i sur., 2005).

Aparatura i pribor:

1. Spektrofotometar UV – 1600 PC (VWR, SAD)
2. Staklene kivete
3. Tehnička vaga K7 (E. Mettler, Zürich)
4. Analitička vaga AX224 (Ohaus Corporation, SAD)
5. Odmjerne tikvice, volumena 10 mL i 100 mL
6. Epruvete
7. Stalak za epruvete
8. Plastična lađica za vaganje

Reagensi

1. 100 %-tni metanol (Avantor Performance Materials, Poljska)
2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal) (Sigma-Aldrich, Njemačka)
3. Otopina 0,2 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)

Priprema: 0,0079 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala se odvažuje u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100%-tnom metanolu te nadopuni 100%tnim metanolom do oznake u odmjerne tikvici od 100 mL. DPPH je potrebno čuvati na tamnome u zatvorenoj tikvici.

Priprema uzoraka

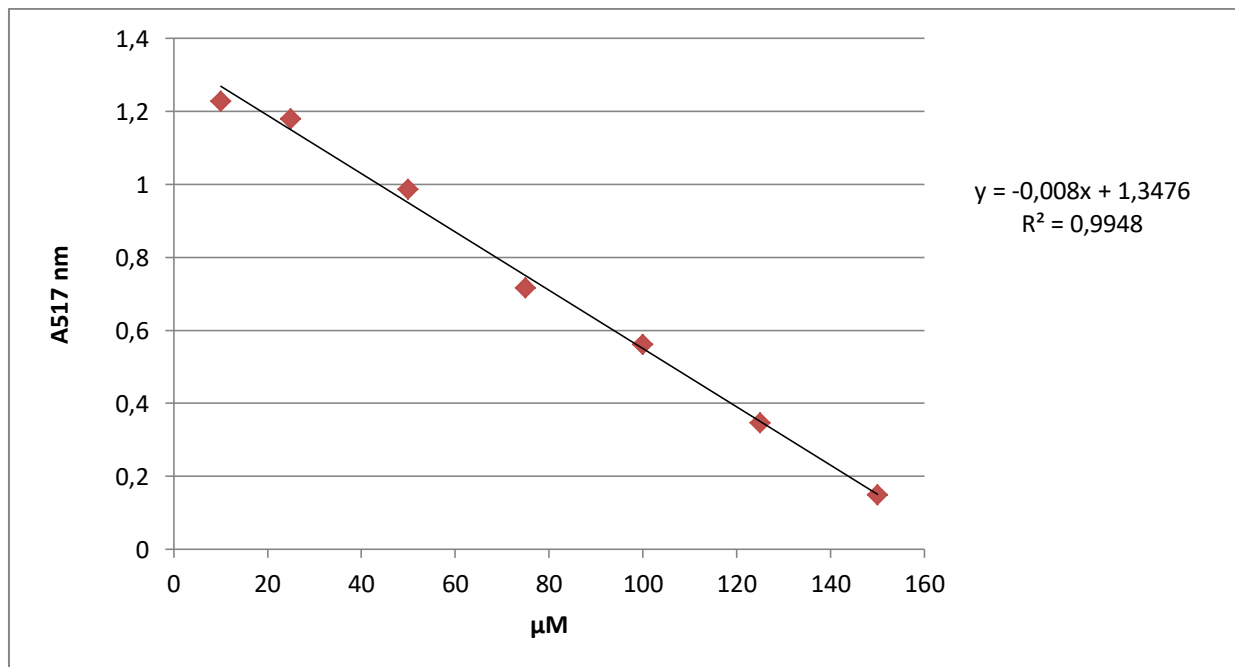
Prije početka analize koncentrat jabuke razrijeđen je 10 puta kao i uzorci J3 i J4, a uzorci J1, J2, J5, J6, J7 i J8 razrijeđeni su 5 puta. Napitak od lista masline nije razrijeđen.

Postupak određivanja

U epruvetu se otpipetira 0,75 mL uzorka i 1,5 mL 0,2 mM otopine DPPH. Za pripremu slijepe probe koristi se 2,25 mL 100% metanola. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm.

Izrada baždarnog dijagrama

Za pripremu baždarnog dijagrama (slika 4) pripremi se 1 mM otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) tako da se odvaže 0,025 g Troloxa te se otopi u metanolu i nadopuni metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL. Zatim se u odmjernim tikvicama rade razrjeđenja od pripremljene otopine u koncentracijama 10, 25, 50, 100, 125, 150 μM . U epruvetu se otpipetira 0,75 mL odgovarajuće otopine Troloxa te 1,5 mL 0,2 mM otopine DPPH. Za slijepu probu u epruvetu se otpipetira 2,25 mL 100%-tnog metanola. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu.



Slika 4. Baždarni pravac za Trolox

Račun

Iz dobivenih apsorbanci pri izradi baždarnog pravca u excelu se izračuna jednadžba pravca [4] koja u ovom radu glasi:

$$y = -0,008x + 1,3476$$

[4]

pri čemu je:

y – apsorbancija uzorka pri 517 nm

x – ekvivalent Troloxa (TAE) (μM)

Izračunata vrijednost za ekvivalent Troloxa (x) množi se s faktorom razrijeđenja ovisno o uzorku te dijeli s 1000 kako bi se dobila vrijednost antioksidacijskog kapaciteta u $\mu\text{mol/mL}$.

3.3.6. Određivanje senzorskih svojstava napitka

Princip metode

Za određivanje senzorskih svojstava napitaka primijenila se kvantitativna deskriptivna analiza (QDA) kako bi se pomoću panela senzorskih analitičara identificirala i kvantitativno odredila osjetilna svojstva uzoraka i svojstva sastojaka (Stone i sur., 2012).

Postupak određivanja

Senzorski panel sastojao se od 10 ocjenjivača. Definirana su svojstva koja najbolje opisuju napitak te skala od 0-10 (0=najslabije izraženo svojstvo, 10=najintenzivnije svojstvo). Ocjenjivala se boja, miris, okus i aroma napitka. Određivanje je provedeno dan nakon pripreme napitka koji je bio sobne temperature. Svaki panelist je dobio plastičnu čašicu i nakon kušanja ispunio je ocjenjivački listić prikazan na slici 5.

Ocjenjivač:											Datum:			
Uzorak	BOJA	MIRIS			OKUS							AROMA		
	Intenzitet	Na list masline	Na jabuku	Strani	Slatko	Kiselost	Gorko	Na list masline	Na jabuku	Harmonični	Strani	Na list masline	Na jabuku	Strana
0														
V1														
V2														
V3														
V4														
V5														
V6														
V7														
V8														

Skala: 0-10 (0=neizraženo svojstvo; 10-max. izraženo svojstvo)

Slika 5. Listić za senzorsku analizu

3.3. REZULTATI I RASPRAVA

3.3.1. Topljiva suha tvar

U tablici 2. prikazane su izračunate srednje vrijednosti i standardne devijacije dvaju paralelna mjerenja udjela topljive suhe tvari pripremljenih napitaka.

Tablica 2. Topljiva suha tvar pripremljenih uzoraka

UZORAK	TOPLJIVA SUHA TVAR (% BRIX)
N	0,2 ± 0,0
K	72,7 ± 0,0
J1	2,3 ± 0,0
J2	4,1 ± 0,0
J3	5,9 ± 0,0
J4	7,8 ± 0,0
J5	2,8 ± 0,0
J6	4,0 ± 0,0
J7	5,6 ± 0,0
J8	7,9 ± 0,0

Izmjereni udjeli topljive suhe tvari (tablica 2) pripremljenih uzoraka kreću se od 2,3% do 7,9%. Udjeli topljive suhe tvari napitaka s i bez dodatka saharoze gotovo su jednaki zbog toga što se prije pripreme samih uzoraka odredilo kako vrijednost topljive suhe tvari jednog uzorka bez dodatka šećera mora biti jednaka istom uzorku sa saharozom, što je i postignuto. Također porastom dodatka koncentrata jabuke raste topljiva suha tvar uzoraka.

Najniži udio topljive suhe tvari izmjeren je kod napitka od lista masline i iznosi 0,2%. Takav rezultat se mogao i predvidjeti s obzirom na nisku zastupljenost ugljikohidrata u biljnim ekstraktima (Shortle i sur., 2013). U istraživanju Kapo (2017) izmjereni udio suhe tvari ekstrakta lista masline iznosi 0,6%, na čiju veću vrijednosti je utjecalo dulje vrijeme ekstrakcije. Topljiva suha tvar koncentrata jabuke iznosi 72,7%.

3.3.2. pH vrijednost

U tablici 3. prikazane su izračunate srednje vrijednosti i standardne devijacije dvaju paralelna mjerenja pH vrijednosti pripremljenih napitaka.

Tablica 3. pH vrijednosti pripremljenih uzoraka

UZORAK	pH
N	5,38 ± 0,00
K	3,55 ± 0,00
J1	4,04 ± 0,00
J2	3,91 ± 0,00
J3	3,86 ± 0,00
J4	3,82 ± 0,00
J5	4,09 ± 0,00
J6	4,02 ± 0,00
J7	3,94 ± 0,00
J8	3,96 ± 0,00

Izmjerene pH vrijednosti uzoraka (tablica 3) pokazuju kako se porastom dodanog volumena koncentrata jabuke pH vrijednost uzorka u oba slučaja (s dodatkom šećera i bez njega) smanjuje. U prvom slučaju vrijednosti pH se kreću od 4,04 (J1) do 3,82 (J4), a u drugom od 4,09 (J5) do 3,96 (J8). Ujedno uzorci s dodatkom šećera imaju viši pH od uzoraka bez dodanog šećera zbog manjeg dodanog volumena koncentrata jabuke, no dodatak šećera ne povisuje značajnije pH vrijednost uzoraka. Dobivene vrijednosti su uskladu s uobičajenim rasponom vrijednosti pH za bezalkoholna osvježavajuća pića koji se kreće od 3,5 do 4.

Izmjerena pH vrijednost napitka od lista masline iznosi 5,38 što je veća vrijednost od svih uzoraka zbog niskog udjela organskih kiselina u biljnim vrstama iz kojih su ekstrakti priređeni (Haciseferogullari i sur., 2007). Dodatkom koncentrata jabuke pH se značajno smanjio u

odnosu na prvobitnu vrijednost. U istraživanju Licciardello i sur. (2015) dobivena je približno jednaka vrijednost pH ekstrakta lista masline, koja iznosi 5,2.

Izmjerena pH vrijednost koncentrata jabuke iznosi 3,55, što je ujedno i najniža izmjerena vrijednost. Muntean i sur. (2010) ispitivali su pH vrijednosti komercijalnih voćnih sokova od jabuke proizvedenih od koncentriranog voćnog soka bez dodatka šećera i dobivene vrijednosti kretale su se u rasponu od 2,95 do 3,52. S ciljem utvrđivanja standarda ocjenjivanja kiselog okusa jabuke Yan i sur. (2018) utvrdili su kako je najzastupljenija organska kiselina u jabuci jabučna kiselina, slijedi oksalna kiselina, limunska, mliječna, sukcinjska i fumarna kiselina.

3.3.3. Boja

Vrijednosti L*, a* i b* određene su kolorimetrijski CIELab metodom, a vrijednosti C i H° izračunate su prema prethodno navedenim formulama. U tablici 4. su prikazani rezultati mjerenja parametara boje pripremljenih napitaka.

Tablica 4. Parametri boje pripremljenih uzoraka, napitka od lista masline i koncentrata jabuke

UZORCI	L*	a*	b*	H°	C
N	97,19 ± 0,00	-1,99±0,01	12,63±0,00	98,96±0,06	12,79±0,01
K	58,02 ± 0,05	35,91± 0,01	94,95±0,08	69,29±0,01	101,51±0,08
J1	95,42 ± 0,00	-2,16± 0,01	18,57±0,00	96,63±0,04	18,70±0,01
J2	95,77 ± 0,00	-2,10±0,01	16,96±0,00	97,05±0,04	17,09±0,01
J3	94,22 ± 0,00	-2,01±0,00	23,22±0,00	94,95±0,00	23,31±0,00
J4	95,63 ± 0,00	-2,11±0,00	17,63±0,00	96,82±0,00	17,76±0,00
J5	93,07 ± 0,00	-1,67± 0,00	27,84±0,00	93,43±0,00	27,89±0,00
J6	95,22 ± 0,00	-2,09±0,00	19,44±0,01	96,13±0,01	19,55±0,01
J7	91,99 ± 0,00	-1,21±0,00	32,32±0,00	92,14±0,00	32,34±0,00
J8	94,40 ± 0,00	-1,98±0,00	22,82±0,00	94,96±0,00	22,9±0,00

Vrijednosti za L* pripremljenih uzoraka kreću se od 91,99 do 95,77. Najveću vrijednost ima napitak od lista masline (97,19) koji je ujedno i najsvjetliji uzorak dok je koncentrat jabuke najtamniji budući da njegova vrijednost za L* iznosi 58,02.

Vrijednosti za a* pripremljenih uzoraka kreću se od -2,16 do -1,21. I napitak od lista masline je zelenkaste boje budući da a* iznosi -1,99. Koncentrat jabuke jedini s vrijednosti a* 35,91 je crvenije obojen.

Vrijednosti za b* pripremljenih uzoraka su pozitivne što pokazuje izraženosti žutog dijela spektra i kreću se od 16,96 do 32,32. Vrijednosti b* napitka od lista masline iznosi 12,63, a koncentrata jabuke 94,95.

Vrijednosti za H° pripremljenih uzoraka kreću se od 92,14° do 97,05° što pokazuje da doživljaj boje uzoraka odgovara žutoj boji (90°). H° vrijednosti napitka od lista masline iznosi 98,96°, a koncentrata jabuke 69,29° što odgovara crveno-narančastom doživljaju boje (McGuire, 1992).

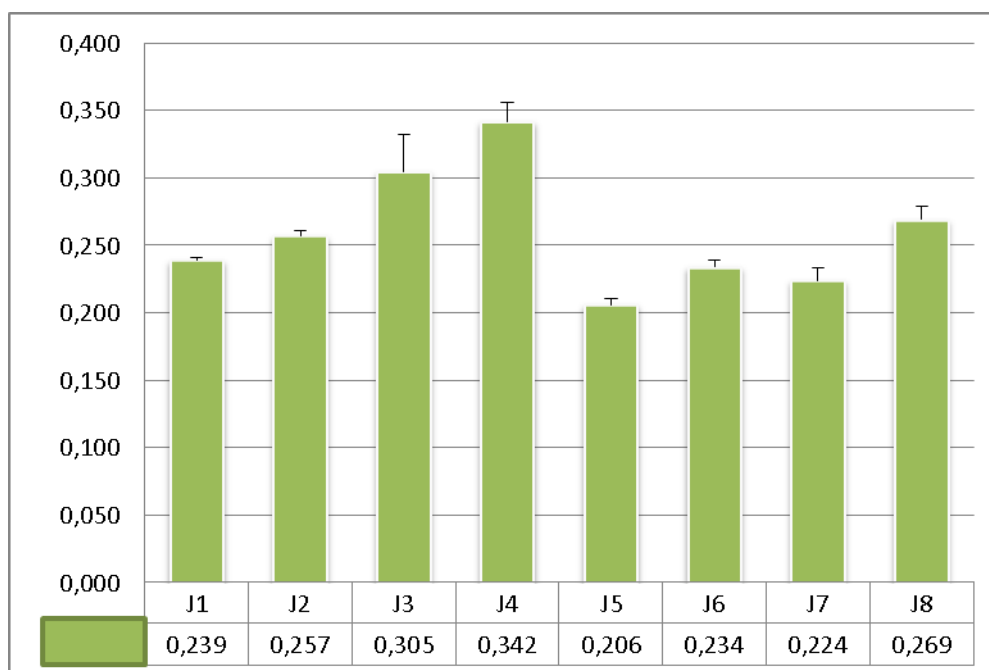
Vrijednosti za C uzoraka kreću se od 17,09 do 32,34, a napitka od lista masline 12,79 što pokazuje nižu zasićenost boje u odnosu na koncentrat jabuke čija vrijednost C iznosi 101,51.

3.3.4. Ukupni fenoli

Koncentracija ukupnih fenola određena je spektrofotometrijskom metodom i dobiveni rezultati, izraženi u mg/mL, prikazani su na slici 6. Prikazane su izračunate srednje vrijednosti dvaju mjerenja i standardna devijacija. Tablica 5. prikazuje vrijednosti ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta napitka od lista masline i koncentrata jabuke.

Tablica 5. Koncentracija ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet napitka od lista masline i koncentrata jabuke

UZORCI	UKUPNI FENOLI [mg/mL]	ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET [μmol/mL]
N	0,187±0,003	0,153±0,002
K	1,587±0,091	1,504±0,006



Slika 6. Koncentracije ukupnih fenola (mg/mL) pripremljenih uzoraka

Iz rezultata (slika 6) vidljivo je kako pripremljeni napitci imaju veću koncentraciju fenola (mg/mL) u odnosu na napitak od lista masline zbog dodanog koncentrata jabuke s koncentracijom ukupnih fenola 1,587 mg/mL. U istraživanju Aytunga Arik Kibar (2018) koncentracija ukupnih fenola koncentrata jabuke iznosi 104,6 mg GAE/100 mL.

Koncentracija ukupnih fenola napitaka bez saharoze kreće se u rasponu od 0,239 do 0,342 mg/ml dok je za napitke sa saharozom raspon od 0,206 do 0,269 mg/mL. Vrijednost koncentracije ukupnih fenola najveća je kod napitka J4 zbog najvećeg dodanog volumena koncentrata jabuke.

Najmanja koncentracija ukupnih fenola određena je u napitku od lista masline i iznosi 0,187 mg/mL. U istraživanju Buyukbalcy i sur. (2008) dobivena vrijednost koncentracije ukupnih fenola u dekaktu od lista masline iznosi 70 mg CE/L što je znatno manja vrijednost od one dobivene u ovom istraživanju. Dekokt se pripremao od 5 g lišća masline i 100 mL vode. Lišće je kuhano 15 minuta, te je nakon toga odstajalo u vodi 10 minuta. Na fenolni sastav lista masline značajno utječu biotički čimbenici-starosti lišća, bakterije i gljivice te abiotički čimbenici- zemljopisne zone i gnojidbe (Markakis i sur., 2010; Di Donna i sur., 2010).

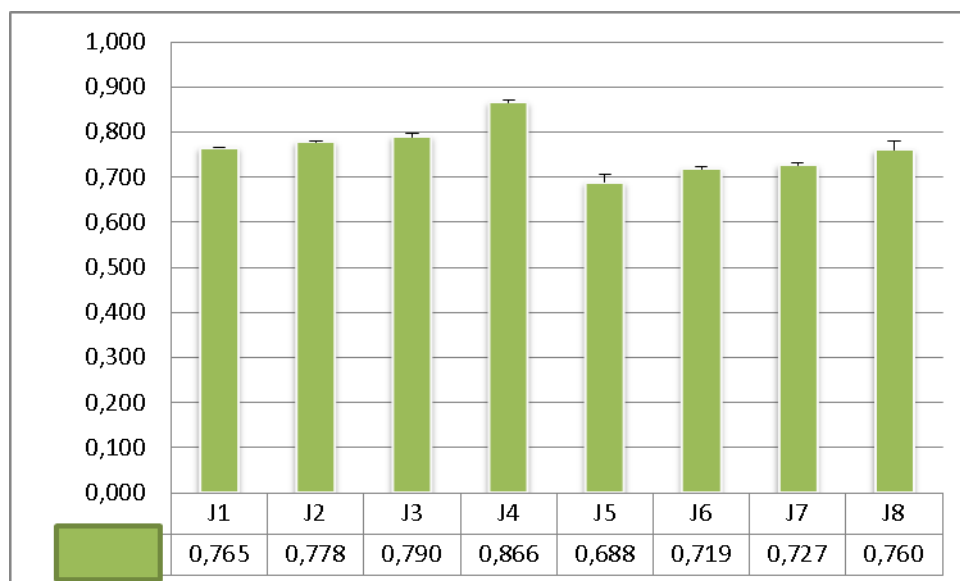
U istraživanju Bilgin i Şahin (2013) ispitivali su utjecaj geografskog podrijetla i ekstrakcijskih metoda na sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima lista masline. Listovi su ekstrahirani metanolom metodom ekstrakcije s homogenizatorom i ultrazvučnim ekstrakcijskim. Sadržaj ukupnih polifenola u listovima dobivenih metodom s homogenizatorom kreće se od 10,11 do

61,66 mg-GAE/g sušenih listova, dok je ukupni fenolni sadržaj dobiven ultrazvučnom ekstrakcijom varirao od 7,35 do 38,66 mg-GAE/g sušenih listova.

Putnik i sur. (2017) ispitivali su primjenu tekućinske ekstrakcije pod pritiskom, koja se smatra inovativnom zelenom tehnologijom za ekstrakciju raznih fitokemikalija iz nusproizvoda hrane. Određivani su ukupni fenoli lista masline podrijetlom iz Republike Hrvatske. Dobivene vrijednosti kreću se od $41,13 \pm 0,58$ do $62,99 \pm 0,043$ mg GAE/g lista.

3.3.5. Antioksidacijski kapacitet

Antioksidacijski kapacitet pripremljenih napitaka određen je spektrofotometrijski pomoću DPPH metode. Dobiveni rezultati, izraženi u $\mu\text{mol/mL}$, prikazani su na slici 7. Prikazane su izračunate srednje vrijednosti dvaju mjerenja i standardna devijacija.



Slika 7. Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol/ml}$) pripremljenih uzoraka

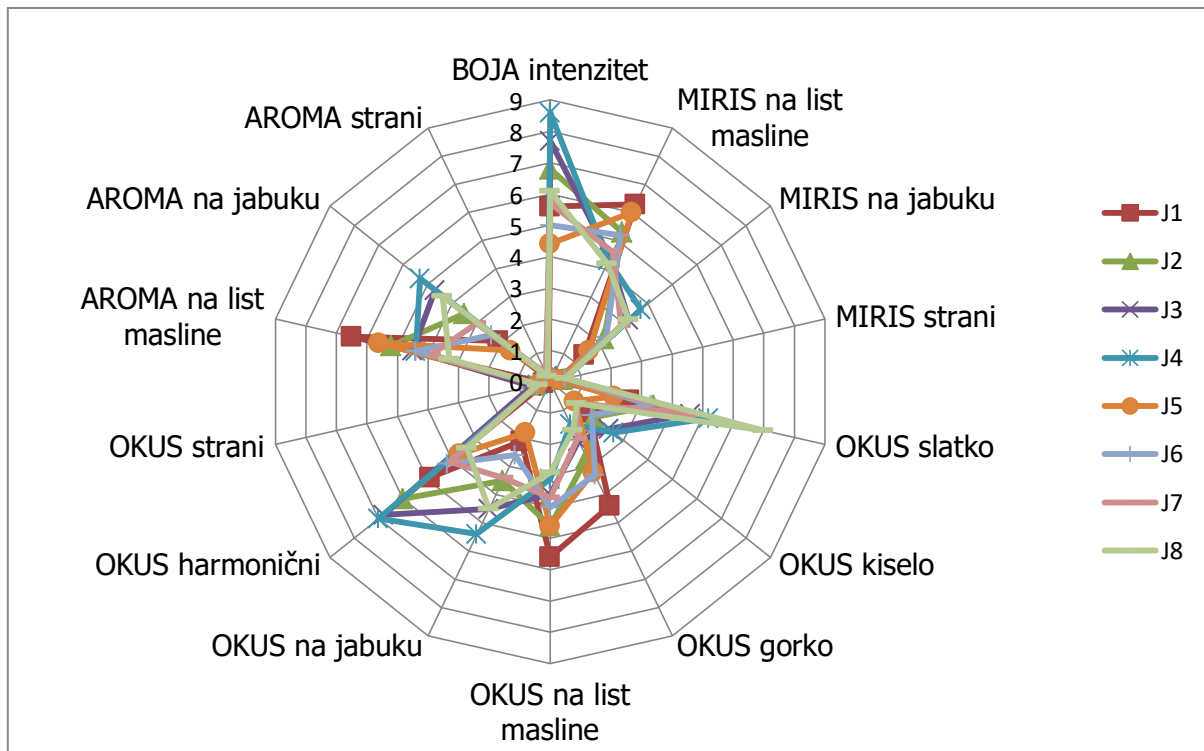
Dodatkom koncentrata jabuke vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta pripremljenih uzoraka porasle su povećanjem volumena istog. Dobivene vrijednosti kreću se od 0,765 do 0,866 $\mu\text{mol/ml}$ za uzorke od J1 do J4 te od 0,688 do 0,760 $\mu\text{mol/mL}$ za uzorke od J5 do J8. Najveći antioksidacijski kapacitet pokazuje uzorak J4 i iznosi $0,866 \pm 0,004$ $\mu\text{mol/mL}$.

Najveći antioksidacijski kapacitet izmjeren je u koncentratu jabuke i iznosi $1,504 \pm 0,006$ $\mu\text{mol/ml}$. Włodarska i sur. (2016) ispitivali koncentraciju ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet u komercijalno dostupnim sokovima proizvedenim od koncentrata, i dobivena vrijednost iznosi $2,4 \pm 1,1$ mM.

Napitak od lista masline pokazuje najmanji antioksidacijski kapacitet čija vrijednost iznosi $0,153 \pm 0,002$ $\mu\text{mol/ml}$. U istraživanju Lončarić (2017) proučavana je stabilnost napitka od lista masline tijekom skladištenja na sobnoj temperaturi pri čemu se određivala antioksidacijska aktivnost, čija se vrijednost kretala u rasponu od $0,144$ $\mu\text{mol/mL}$ do $0,149$ $\mu\text{mol /mL}$, što je približno jednako vrijednostima dobivenih u ovom istraživanju. Antioksidacijska aktivnost fenolnih hidroksilnih spojeva u ekstraktima lista masline može biti posljedica prisutnosti hidroksilnih skupina u njihovoj strukturi kao što je oleuropein, hidroksitirosol i luteolin-7-O-glukozid kiselina (Benavente-García i sur., 2000). Licciardello i sur. (2015) ispitivali su utjecaj pakiranja na antioksidacijski kapacitet ekstrakta komine grožđa i lista masline. Primjenom DPPH metode dobivena vrijednost antioksidacijskog kapaciteta ekstrakta lista masline iznosi $294,7$ Trolox mEq. U istraživanju Ahmad-Quasem i sur. (2015) određivali su antioksidacijski kapacitet fenola u etanolnom ekstraktu lista masline svakih 7 dana kroz 4 tjedna. Ekstrakti su bili skladišteni pri 4°C . Rezultati su pokazali kako nije došlo do značajnijih promjena u antioksidacijskom kapacitetu skladištenih ekstrakata. Prilikom ispitivanja stabilnost napitka od lista masline pri 8°C tijekom 12 tjedana, dobiveni rezultati su također pokazali kako nije došlo do značajne promjene antioksidacijskog kapaciteta. Vrijednosti su se kretale u rasponu od $0,146$ $\mu\text{mol/mL}$ na početku do $0,152$ $\mu\text{mol/mL}$ na kraju skladištenja (Ivanković, 2017).

3.3.6. Senzorska analiza

Na slici 8. grafički su prikazani rezultati senzorske analize pomoću „paukove mreže“. Što je određeno svojstvo intenzivnije izraženo to je njegova udaljenost od središnje točke veća (Lawless i Heymann, 2010).



Slika 8. Rezultati senzorske analize napitaka od lista masline s dodatkom koncentrata jabuke i šećera

Intenzitet boje pripremljenih napitaka bez dodanog šećera kretao se od 5,6 (J1) do 8,6 (J4), a ocjene napitaka sa šećerom kretale su se od 4,4 (J5) do 6,1(J8). Iz rezultata je vidljivo kako je boja intenzivnija u slučaju dodatka samo koncentrata jabuke i povećanjem njegova volumena raste i intenzitet boje napitaka. Najveću ocjenu dobio je uzorak J4.

Intenzitet mirisa na list masline kretao se od 4,3 (J4) do 6,3 (J1) za napitke bez dodanog šećera, dok je za napitke s dodatkom šećera raspon intenziteta bio od 4,2 (J8) do 6,0 (J5). Povećanjem volumena dodanog koncentrata jabuke u oba slučaja povećavao se i intenzitet mirisa na jabuku. Uzorak J4 ima najizraženiji miris na jabuku što je bilo i za očekivati budući da on sadrži najveći dodani volumen koncentrata jabuke. Strani miris se kretao od 0,3 (J1) do 0,5 (J8) i bio zanemariv.

Intenzitet kiselog okusa kretao se od 2,6 (J4), koji je ujedno i najkiseliji pripremljen napitak, do 1,6 (J1) u napitku bez dodanog šećera i od 1,7 (J6) do 1,0 (J5) u napitku s dodanim šećerom. Povećanjem volumena dodanog koncentrata jabuke i šećera intenzitet slatkog okusa raste. U napitcima bez dodanog šećera kretao se od 2,6 (J1) do 5,2 (J4) i od 2,1 (J5) do 7,0 (J8) kod napitaka s dodanim šećerom. Najsladši napitak je J8, s najvećom masom dodanog šećera. U odnosu na gorak okus napitka od lista masline koji potječe od

oleuropeina (Bendini i sur., 2007) pripremljeni napitci imaju značajnije manje izražen intenzitet gorčine koji se kreće od 1,5 (J4) do 4,4 (J1) i od 1,7 (J8) do 3,3 (J6) kod napitaka s dodatkom šećera.

Povećanjem dodanog koncentrata jabuke i šećera intenzitet okusa na lista masline je opadao dok se intenzitet okusa na jabuku povećavao. U napitcima bez dodanog šećera intenzitet okusa na list masline kretao se 3,1 (J4) do 5,6 (J1), a u napitcima s dodanim šećerom od 2,9 (J8) do 4,6 (J5). Intenzitet okusa na jabuku veći je u napitcima bez dodanog šećera i ocjenjen je u rasponu od 2,1 (J1) do 5,4 (J4), dok je u napitcima od 1,8 (J5) do 4,5 (J8). Harmoničnost napitaka kretala se od 3,4 (J8) do 7,0 (J4). Strani okus je ocijenjen u rasponu od 0,2 (J1) do 0,6 (J3).

Intenzitet arome na list masline smanjivao se dodatkom koncentrata jabuke pripremljenim napitcima. Posljedično napitak s najvećim dodanim volumenom koncentrata ima najizraženiju aromu na jabuku (J4). Vrijednosti za intenzitet arome na jabuku određene su u rasponu od 1,6 (J5) do 5,3 (J4) dok je raspon za intenzitet arome na list masline od 3,3 (J8) do 6,5 (J1). Strana aroma je zanemariva i kreće se od 0,1 (J1) do 0,3 (J6 i J7).

Dodatak koncentrata jabuke ublažio je gorčinu samog napitka od lista masline, koja se smatra negativnom senzorskom osobinom napitka, čime bi postao prihvatljiviji potrošačima kao bezalkoholno osvježavajuće piće. Također napitak poprima umjereno izražena senzorska svojstva jabuke što utječe na harmonizaciju senzorskih svojstava. Dolazi i do porasta biološke vrijednosti napitka zbog porasta vrijednosti ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta. Jabuka je voće bogato šećerima. Najzastupljeniji su fruktoza (78 mol%), glukoza (16 mol%), arabinoza (3 mol%) i saharoza (2 mol%) (Dhillon i sur., 2013). Napitci u koje je dodan samo koncentrat imaju poželjan sastav šećera budući da ne sadrže dodanu saharozu već samo prirodno prisutan šećer iz voća što bi ga moglo učiniti prihvatljivim kod potrošača.

4. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti:

1. Topljiva suha tvar napitka od lista masline iznosi 0,2%, a pH vrijednost 5,38. U ispitivanim napitcima pripremljenim s dodatkom koncentriranog soka jabuke s ili bez dodane saharoze došlo je do porasta topljive suhe tvari (2,3-7,9%) u skladu s rastućim udjelom soka jabuke, dok se pH vrijednost smanjila (4,09-3,82).
2. Dodatkom koncentrata jabuke u napitak od lista masline promijenili su se parametri boje. Parametar a^* se smanjio, a parametar b^* se povećao što pokazuje izraženost žutog dijela spektra. Povećala se i H^o vrijednost što označava tamnije obojenje napitaka s dodatkom koncentrata u odnosu na napitak od lista masline. Došlo je i do povećanja vrijednost C , odnosno zasićenosti boje napitka.
3. Antioksidacijski kapacitet pripremljenih napitaka kreće se u rasponu od 0,688 do 0,866 $\mu\text{mol/mL}$, a vrijednosti ukupnih fenola od 0,206 do 0,342 mg/mL . Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta i ukupnih fenola pripremljenih napitaka su se povećale u skladu s rastućim udjelom soka jabuke.
4. Rezultati senzorske analize pokazali su kako se povećanjem dodatka soka jabuke aroma, okus i miris na list masline u pripremljenim napitcima smanjuje. Najintenzivniji miris i aromu na list masline te gorčina zabilježena je u uzorku s najmanjim udjelom soka bez saharoze. Uzevši u obzir sva ocjenjivana poželjna svojstva (najintenzivnija boja, miris, okus i aroma na jabuku, kiselost i harmoničnost) najbolje je ocijenjen uzorak s najvećim udjelom soka bez saharoze.

5. LITERATURA

- Abaza L., Taamalli A., Nsir H., Zarrouk M. (2015) Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants* **4**: 682-698.
- Ahmad-Qasem M. H., Ahmad-Qasem B. H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J. A., García-Pérez J. V. (2016) Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability. *Industrial Crops and Products* **79**: 232–239.
- Alasalvar C., Grigor J. M., Zhang D., Quantick P. C., Sha-hidi F. (2001) Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**: 1410.
- Alcázar Román R., Amorós J. A., Pérez de los Reyes C., García Navarro F. J., Bravo S. (2014) Major and trace element content of olive leaves. *Olivae* **119**:1-7.
- Ashurst P. R. (2005) *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*, 2.izd., Blackwell Publishing, Hereford, UK.
- Atiok E., Bayçin D., Bayraktar O., Ülkü S. (2008) Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibrin. *Separation and Purification Technology* **62**: 342–348.
- Aytunga Arik Kibar E. (2018) Adsorptive recovery of phenolics from apple juice via batch and fixed bed column. *Journal of Food Engineering* **239**: 114–121.
- Baccouri B., Zarrouk W., Baccouri O., Guerfel M., Nouairi I., Krichene D., Daoud D., Zarrouk M. (2008) Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. Subsp. *Oleaster*). *Grasas y Aceites* **59 (4)**: 346-351.
- Benavente-García O., Castillo J., Lorente J., Ortuño A., Del-Rio J. A. (2000) Antioxidant activity of phenolics from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry* **68**: 457–462.
- Benčić Đ, Cantore A, Bolarić S. (2011) Pomometrijska i genetička analiza genotipova Maslina od Luna. 46. hrvatski i 6. međunarodni simpozij agronoma, Opatija.
- Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gómez-Caravaca A. M., SeguraCarretero A., Fernández-Gutiérrez A., Lercker G. (2007) Phenolic molecules in virgin olive oils: a

survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules* **12(8)**: 1679-1719.

Bilgin M., Şahin S. (2013) Effects of geographical origin and extraction methods on total phenolic yield of olive tree (*Olea europaea*) leaves. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **44(1)**: 8–12.

Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N., Saija A. (1999) On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **51(8)**: 971-4.

Boyer J., Liu R. (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal* **3**: 5.

Braca A., De Tommasi N., Di Bari L., Pizza C., Politi M., Morelli I. (2001) Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. *Journal of Natural Products* **64(7)**: 892-895.

Brand–Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995) Use of a Free – Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science Technology–Lebensmittel–Wissenschaft & Technologie* **28(1)**: 25-30.

Bravo L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews* **56 (11)**: 317-333.

Büyükbalci A., Nehir El S. (2008) Determination of In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. *Plant Foods for Human Nutrition* **63**: 27–33.

D'Angelo S., Cimmino A., Raimo M., Salvatore A., Zappia V., Galletti P., (2007) Effect of redding ripening on the antioxidant activity of polyphenol extracts from Cv. annurca apple fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 9977-9985.

de Bock M., Derraik J. G. B., Brennan C. M., Biggs J. B., Morgan P. E., Hodgkinson S. C., Hofman P. L., Cutfield W. S. (2013) Olive (*Olea europaea* L.) leaf polyphenols improve insulin sensitivity in middle-aged overweight men: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. *PLoS One* **8 (3)**: 1–8.

de Carvalho Sales-Peres S. H., Magalhães A. C., de Andrade Moreira Machado M. A., Buzalaf M. A. (2007) Evaluation of The Erosive Potential of Soft Drinks. *European Journal of Dentistry* **1**: 10–13.

- de Koning L., Malik V. S., Rimm E. B., Willett W. C., Hu F. B. (2011) Sugar-sweetened and artificially sweetened beverage consumption and risk of type 2 diabetes in men. *The American Journal of Clinical Nutrition* **93**: 1321–1327.
- de la Puerta R., Ruiz Gutierrez V., Hault J. R. (1999) Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacology* **57(4)**:445-9.
- Defilippis J. (2001) Dalmatinska poljoprivreda u prošlosti. Split, Književni krug Split.
- Dhillon G. S., Kaur S., Brar S. K. (2013) Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. *Renewable & Sustainable Energy Reviews* **27**: 789-805.
- Di Donna L., Mazzotti F., Naccarato A., Salerno R., Tagarelli A., Taverna D., Sindona G. (2010) Secondary metabolites of *Olea europea* leaves as markers for the discrimination of cultivars and cultivation zones by multivariate analysis. *Food Chemistry* **121**: 492 - 496
- El S. N., Karakaya S. (2009) Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews* **67**: 632-638.
- Erbay Z., Icier F. (2010) The Importance and Potential Uses of Olive Leaves. *Food Reviews International* **26**: 319 - 334.
- Goulas V., Exarchou V., Troganis A. N., Psomiadou E., Fotsis T., Briasoulis E., Gerothanassis I.P. (2009) Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Molecular Nutrition & Food Research* **53(5)**: 600-8.
- Haciseferoğulları H., Gezer I., Özcan M. M., Murat Asma B. (2007) Post-harvest chemical and physical–mechanical properties of some apricot varieties cultivated in Turkey. *Journal of Food Engineering* **79**: 364-373.
- Handa S. S., Khanuja S. P. S., Longo G., Rakesh D. D. (2008) Extraction technologies for medicinal and aromatic, International Centre for Science and High Technology, Trst.
- Hawkes C. (2010) The Worldwide Battle Against Soft Drinks in Schools. *American Journal of Preventive Medicine* **38(4)**: 457–461.

- Hayes J. E., Allen P., Brunton N., O'Grady M. N., Kerry J. P. (2011) Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* **126**: 948–955.
- Herrero M., Temirzoda T. N., Segura-Carretero A., Quirantes R., Plaza M., Ibañez E. (2011) New possibilities for the valorization of olive oil by-products. *Journal of Chromatography* **1218(42)**: 7511–7520.
- Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M. (1999) Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**: 3954-3962.
- Kalinowska M., Bielawska A., Lewandowska-Siwkiewicz H., Priebe W., Lewandowski W. (2014) Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry* **84**: 169–188.
- Koprivnjak O. (2006) Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola. Poreč: MIH
- Lawless H. T., Heymann H. (2010) Sensory evaluation of food: principles and practices, 4.izd., Springer Science & Business Media, London **49**, 2480–2485.
- Lee K. W., Kim Y. J., Kim D., Lee H. J., Lee C. Y. (2003) Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 6516- 6520.
- Licciardello F., Wittenauer J., Saengerlaub S., Reinelt M., Stramm C. (2015) Rapid assessment of the effectiveness of antioxidant active packaging—Study with grape pomace and olive leaf extracts. *Food Packaging and Shelf Life* **6**: 1–6.
- Lončarić P. (2017) Stabilnost napitka od lista masline tijekom skladištenja na sobnoj temperaturi. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
- Marić M. (2017) Utjecaj pripreme i vremena stajanja na parametre boje i ukupne fenole napitka od lista masline. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

- Markakis E. A., Tjamos S. E., Antoniou P. P., Roussos P. A., Paplomatas E. J., Tjamos E. C. (2010). Phenolic responses of resistant and susceptible olive cultivars induced by defoliating and non defoliating *Verticillium dahliae* pathotypes. *The American Phytopathology Society* **94**: 1156 -1162.
- Martorell M., Forman K., Castro N., Capó X., Tejada S., Sureda A. (2016) Potential Therapeutic Effects of Oleuropein Aglycone in Alzheimer's Disease. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **17(11)**: 994-1001.
- Mazziotti A., Mazziotti F., Pantusa M., Sportelli L., Sindona G. (2007) Pro-oxidant activity of oleuropein in vitro by electron spin resonance spin-trapping methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54 (20)**: 7444-7449.
- McGuire R. G. (1992) Reporting of objective colour measurements. *Horticultura Science* **27(12)**: 1254-1255.
- Muntean E., Muntean N. (2010) Quality assessment of commercial apple juices. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* **16(3)**: 346-350.
- Novak M. (2017) Utjecaj pripreme i stajanja na senzorska svojstva i antioksidacijsku aktivnost napitka od lista masline. Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
- Obied H. K., Prenzler P. D., Omar S. H., Ismael R., Servili M., Esposto S., Taticchi A., Selvaggini R., Urbani S. (2012) Pharmacology of Olive Biophenols. U: *Advances in Molecular Toxicology*, 6 izd., Fishbein J.C., Heilman J.M., ur., Elsevier, 195–223.
- Omar S. H. (2010) Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia Pharmaceutica* **78(2)**: 133–154.
- Piné Q. R., Sánchez L. J., Herrero M., Ibáñez E., Carretero S. A., Gutiérrez F. A. (2012) HPLC–ESI–QTOF–MS as a powerful analytical tool for characterising phenolic compounds in olive-leaf extracts. *Phytochemical Analysis* **24**: 213–223.
- Pravilnik o temeljnim zahtjevima za osvježavajuća bezalkoholna pića i soda-vodu (1997) *Narodne novine* **23** (NN 23/1997).
- Prior R. L., Wu X. L., Schaich K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53(10)**: 4290-4302.

- Putnik P., Barba F. J., Španić I., Zorić Z., Dragović-Uzelac V., Bursać Kovačević D. (2017) Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (*Olea europea*). *Food and Bioproducts Processing* **106**: 19–28.
- Shortle E., Kerry, J., Furey, A., Gilroy, D. (2013) Optimisation of process variables for antioxidant components from *Crataegus monogyna* by supercritical fluid extraction (CO₂) using Box- Behnken experimental design. *The Journal of Supercritical Fluids* **81**: 112-118.
- 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**: 828 - 834.
- Skaltsounis A. L., Argyropoulou A., Aligiannis N., Xynos N. (2015) Recovery of high added value compounds from olive tree products and olive processing byproducts. U: *Olive and olive oil bioactive constituents*, (Boskou, D., ured.), AOCS Press, Urbana, Illinois, str. 333-357.
- Spinelli R., Picchi G. (2010) Industrial harvesting of olive tree pruning residue for energy biomass. *Bioresource Technology* **101**: 730–735.
- Stone H., Bleibaum R., Thomas H. A. (2012) *Sensory evaluation practices*. Academic press
- Strikić F, Čmelik Z, Šatović Z, Perica S. (2007) Morphological variety of the olive cultivar Oblica (*Olea europaea* L.). *Pomol cro* **13**: 2.
- Sudjana A. N., D'Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley T. V., Hammer K. A. (2009) Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents* **33**: 461–463.
- Szakály Z., Szente V., Kövér G., Polereczki Z., Szigeti, O. (2012) The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite* **58**: 406.
- Talhaouia N., Taamallic A., Gomez-Caravaca A.M., Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A. (2015) Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* **77**: 92 - 108.
- Therios, I.N. (2008) *Olives*, CABI, Oxfordshire, str. 1-31.

Tuck K.L., Hayball P.J. (2002) Major phenolic compounds in olive oil: Metabolism and health effects. *The Journal Of Nutritional Biochemistry* **13**: 636 – 644.

Vinatoru M. (2001) An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry* **8**: 303-313.

Vogel P., Kasper Machado I., Garavaglia J., Terezinha Zani V., de Souza D., Morelo Dal Bosco S. (2015) Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L.) to human health. *Nutrición hospitalaria* **31**: 1427-1433.

Włodarska K., Pawlak-Lemanska K., Khmelinskii I., Sikorska E. (2016) Explorative study of apple juice fluorescence in relation to antioxidant properties. *Food Chemistry* **210**: 593–599.

YAN Z., ZHEN L., NIE J., LI Z., CHENG Y. (2018) Evaluation indices of sour flavor for apple fruit and grading standards. *Journal of Integrative Agriculture* **17**: 994-1002.

Yuan J. J., Wang C. Z., Ye J. Z., Tao R., Zhang Y. S. (2015) Enzymatic Hydrolysis of Oleuropein from *Olea europea* (Olive) Leaf Extract and Antioxidant Activities. *Molecules* **20**, 2903-2921.

Izjava o izvornosti

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

Olivera Kirić

ime i prezime studenta