

Utjecaj volumnog udjela etanola i dodatka šećera na fizikalno-kemijske parametre macerata aronije za proizvodnju likera

Pavković, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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:159:017478>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

Lucija Pavković
0058218469

**UTJECAJ VOLUMNOG UDJELA ETANOLA I DODATKA ŠEĆERA NA
FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE MACERATA ARONIJE ZA PROIZVODNJU
LIKERA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Proizvodnja jakih alkoholnih pića

Mentor: dr. sc. Karla Hanousek Čiča

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Utjecaj volumnog udjela etanola i dodatka šećera na fizikalno-kemijske parametre macerata
aronije za proizvodnju likera
Lucija Pavković, 0058218469**

Sažetak:

Liker od aronije je jako alkoholno piće koje se proizvodi maceracijom plodova aronije, te ima minimalan udio šećera od 100 g/L. Jaka alkoholna pića koja se proizvode maceracijom aromatičnog i ljekovitog bilja i voća sadrže i brojne antioksidanse. Znanstvenim istraživanjima utvrđeno je da aronija sadrži visoke koncentracije polifenolnih spojeva, od kojih se ističu antocijani. Cilj ovoga rada je istražiti utjecaj volumnog udjela etanola (40 i 75 %) i dodatka šećera tijekom maceracije plodova aronije na fizikalno-kemijske parametre macerata aronije (sadržaj ukupnih fenolnih spojeva, pH vrijednost, sadržaj suhe tvari i kromatske parametre) namijenjenog za proizvodnju likera. Volumni udio etanola imao je značajan utjecaj na sadržaj fenolnih spojeva za razliku od dodatka šećera. Maceracija je prekinuta nakon 23 dana, kada je došlo do ustaljenja sadržaja fenolnih spojeva u maceratu. Da bi se u liker od aronije osigurala najveća količina ekstrahiranih fenolnih spojeva za njegovu pripremu odabran je macerat s 40 % volumnih udjela etanola i bez dodatka šećera.

Ključne riječi: aronija, fenolni spojevi, maceracija, fizikalno-kemijski parametri, liker

Rad sadrži: 27 stranica, 11 slika, 8 tablica, 22 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: dr. sc. Karla Hanousek Čiča

Datum obrane: 16. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

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

Department of Food Engineering
Laboratory for Fermentation and Yeast Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Effect of volume fraction of ethanol and sugar content on the physicochemical parameters of chokeberry macerate for liqueur production

Lucija Pavković, 0058218469

Abstract: Chokeberry liqueur is a strong alcoholic beverage produced by maceration of chokeberry fruit and it has a minimum sugar content of 100 g/L. Strong alcoholic drinks produced by maceration of aromatic and medicinal plants and fruits also contain numerous antioxidants. Scientific research has established that chokeberry contains high concentrations of polyphenolic compounds, of which anthocyanins stand out. The aim of this paper is to investigate the influence of the volume fraction of ethanol (40 and 75 %) and the addition of sugar during the maceration of chokeberry fruits on the physicochemical parameters of chokeberry macerate (content of total phenolic compounds, pH value, dry matter content and chromatic parameters) intended for the production of liqueur. The volume fraction of ethanol had a significant influence on the content of phenolic compounds, in contrast to the addition of sugar. Maceration was stopped after 23 days, when the content of phenolic compounds in the macerate had stabilized. In order to ensure the highest amount of extracted phenolic compounds in chokeberry liqueur, a macerate with the 40 % volume fraction of ethanol and no added sugar was chosen for the preparation of it.

Keywords: chokeberry, phenolic compounds, maceration, physicochemical parameters, liqueur

Thesis contains: 27 pages, 11 figures, 8 tables, 22 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Karla Hanousek Čiča, PhD

Thesis defended: September 16, 2024

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. JAKA ALKOHOLNA PIĆA.....	2
2.1.1. LIKERI.....	4
2.1.2. VOĆNI LIKERI.....	4
2.2. ARONIJA.....	5
2.2.1. PLOD ARONIJE.....	5
2.2.2. KEMIJSKI I NUTRITIVNI SASTAV ARONIJE.....	5
2.2.3. ANTOCIJANI PRISUTNI U ARONIJI.....	7
2.2.4. FENOLNE KISELINE.....	8
2.2.5. UPORABA ARONIJE I NJEN UTJECAJ NA ZDRAVLJE.....	9
2.3 MACERACIJA.....	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. MATERIJALI.....	12
3.1.1. BILJNI MATERIJALI.....	12
3.1.2. KEMIKALIJE I OPREMA.....	12
3.2 METODE.....	13
3.2.1. POSTUPAK PRIPREME MACERATA I LIKERA OD ARONIJE.....	13
3.2.2. POSTUPAK ODREĐIVANJA UKUPNIH FENOLNIH SPOJEVA.....	14
3.2.3. PH VRIJEDNOST.....	15
3.2.4. ODREĐIVANJE SADRŽAJA SUHE TVARI.....	16
3.2.5. ODREĐIVANJE KROMATSKIH PARAMETARA.....	16
3.2.6. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	17

4. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
4.1. SADRŽAJ UKUPNIH FENOLNIH SPOJEVA U UZORCIMA	18
4.2. PH VRIJEDNOST UZORAKA.....	20
4.3. SADRŽAJ SUHE TVARI U UZORCIMA.....	21
4.4. KROMATSKI PARAMETRI UZORAKA	22
5. ZAKLJUČCI.....	24
6. POPIS LITERATURE.....	25

1. UVOD

Jaka alkoholna pića stoljećima su sastavni dio ljudske prehrane, od najranijih civilizacija pa sve do danas. Smatrana eliksirima života, vjerovalo se da posjeduju iscjeljujuća svojstva (González-Sanjós i Pérez-Magariño, 2003). Takva pića odlikuju se posebnim senzorskim karakteristikama, s najmanje 15 % volumnog udjela alkohola, te su namijenjena ljudskoj potrošnji. Proizvedena su destilacijom prirodno prevrelih sirovina poljoprivrednog podrijetla, maceracijom ili sličnom preradom bilja, voća i ostalih sirovina u etilnom alkoholu poljoprivrednog podrijetla, destilatima prirodnog podrijetla ili miješanjem jakog alkoholnog pića s drugim prehrambenim tvarima (Uredba (EU) 2019/787).

Likeri predstavljaju značajnu podskupinu jakih alkoholnih pića. Riječ je o alkoholnim pićima s propisanim dodatkom šećera od minimalno 100 g/L. Sama riječ liker dolazi od latinske riječi *liquifacere*, što znači otopiti. Već iz samog naziva da se naslutiti da je bitna karakteristika ovog pića otapanje tvari u istom, što mu daje karakterističnu gustoću (Mihaljević Žulj, 2016). Proizvode se dodatkom različitih sirovina poljoprivrednog podrijetla u vodeno-alkoholnu bazu kako bi se iz njih ekstrahirali spojevi koji doprinose aromi, okusu kao i bioaktivne komponente. To može biti voće (cijelo ili narezano), začini ili ljekovito bilje. Likeri od crvenog voća, poput aronije, ribizla, malina, višanja i kupina, bogati su antioksidacijskim spojevima, ponajviše fenolnim spojevima i antocijanima. Aronija se posebno ističe visokim sadržajem antocijana.

Aronija (*Aronia melanocarpa*) je biljka koja je u Europu stigla iz istočnog dijela Sjeverne Amerike. Prvotno su ju koristili sjevernoamerički Indijanci koji su njene plodove sušili i mljeli, a upotrebljavali su ju i kao hranu i kao lijek jer zbog svog sastava ima čitav niz pozitivnih učinaka na zdravlje. Popularnost aronije neprestano raste, što potiče istraživanja novih načina obrade i mogućnosti dodavanja u razne prehrambene proizvode i pića (Jurendić i Ščetar, 2021).

Cilj ovoga rada je istražiti utjecaj volumnog udjela etanola (40 i 75 %) i dodatka šećera tijekom maceracije plodova aronije na fizikalno-kemijske parametre macerata aronije (sadržaj ukupnih fenolnih spojeva, pH vrijednost, sadržaj suhe tvari i kromatske parametre) namijenjenog za proizvodnju likera. Maceracija je trajala 23 dana, te je u tom razdoblju 9 puta praćena koncentracija ekstrahiranih fenolnih spojeva. Određeni su i ostali fizikalno-kemijski parametri, odnosno pH vrijednost, sadržaj suhe tvari i kromatski parametri. Na temelju dobivenih rezultata izvedeni su zaključci koji mogu poslužiti kao smjernice za proizvodnju likera od aronije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Jaka alkoholna pića

Prema Uredbi Europske Unije (Uredba (EU) 2019/787) jaka alkoholna pića su pića koja imaju posebna senzorska svojstva, minimalno 15 % volumnog udjela alkohola i namijenjena su za ljudsku potrošnju. Proizvedena su:

izravno:

- destilacijom, sa ili bez dodavanja aroma, prirodno prevrelih sirovina poljoprivrednog podrijetla
- maceracijom ili sličnom preradom bilja u etilnom alkoholu poljoprivrednog podrijetla i/ili u destilatima poljoprivrednog podrijetla, i/ili u jakim alkoholnim pićima u smislu ove Uredbe
- dodavanjem aroma, šećera ili drugih sladila i/ili drugih poljoprivrednih proizvoda i/ili prehrambenih proizvoda etilnom alkoholu poljoprivrednog podrijetla i/ili destilatima poljoprivrednog podrijetla i/ili jakim alkoholnim pićima u smislu ove Uredbe;

ili miješanjem jakog alkoholnog pića s jednim ili više:

- drugih jakih alkoholnih pića
- etilnim alkoholom poljoprivrednog podrijetla ili destilatima poljoprivrednog podrijetla
- drugih alkoholnih pića
- pića.

Etilni alkohol koji se koristi u proizvodnji jakih alkoholnih pića i svih njihovih sastojaka mora biti poljoprivrednog podrijetla, ne smije imati miris osim onoga koji potječe od sirovine od koje je dobiven i minimalna volumna alkoholna jakost treba iznositi 96,0 %. Jaka alkoholna pića ne smiju sadržavati alkohol sintetičkog podrijetla ili drugi alkohol nepoljoprivrednog podrijetla.

Podjela jakih alkoholnih pića, prema navedenoj Uredbi EU (2019/787), je na prirodna (tradicionalna) jaka alkoholna pića dobivena alkoholnom fermentacijom i destilacijom određene sirovine bez dodanih aroma, sladila i bez dodanog alkohola te koja smiju biti bojana isključivo karamelom (pića pod brojevima 1-14 u tablici 1) i miješana jaka alkoholna pića dobivena dodatkom etanola, bilja, aromatičnih tvari, sladila, bojila ili drugih dodataka u destilat (pića pod brojevima 15-44 u tablici 1).

Prirodna jaka alkoholna pića smiju sadržavati jedino dodatak cijelih dijelova sirovine iz koje je piće proizvedeno, što se koristi većinom u dekorativne svrhe, te smiju biti zaslađena jedino kako bi se zaokružio okus, te maksimalne količine šećera izražene kao invertni šećer ne smiju prelaziti iznose propisane Uredbom. Pića definirana od broja 15 do broja 44 mogu biti proizvedena od bilo koje poljoprivredne sirovine definirane Uredbom za to jako alkoholno

piće, te smiju imati dodan alkohol, sadržavati aromatične tvari, prirodne aromatične tvari, aromatične pripravke i aromatizirane prehrambene proizvode.

Tablica 1. Kategorije jakih alkoholnih pića (Uredba (EU) 2019/787)

1	Rum	23	Jako alkoholno piće aromatizirano kimom ili Kummel
2	Whisky ili whiskey	24	Akvavit ili aquavit
3	Žitna rakija	25	Jako alkoholno piće aromatizirano anisom
4	Rakija od vina	26	Pastis
5	Brandy ili weinbrand	27	Pastis de Marseille
6	Rakija od groždane komine ili komovica	28	Anis ili janževac
7	Rakija od voćne komine	29	Destilirani anis
8	Rakija od grožđića ili raisin brandy	30	Gorko jako alkoholno piće ili bitter
9	Rakija od voća	31	Aromatizirana votka
10	Rakija od jabučnog vina, rakija od kruškovog vina i rakija od jabučnog i kruškovog vina	32	Jako alkoholno piće aromatizirano divljom šljivom ili pacharin
11	Rakija od meda	33	Liker
12	Hefebrand ili rakija od taloga	34	Krem liker od (dodan naziv upotrijebljenog voća ili druge sirovine)
13	Rakija od piva	35	Sloe gin
14	Topinambur ili rakija od jeruzalemske artičoke	36	Sambuca
15	Votka	37	Maraschino, marrasquino ili maraskino
16	Rakija (s dodanim imenom voća, bobica ili orašastog voća) dobivena maceracijom i destilacijom	38	Nocino ili orehovec
17	Geist (s dodanim nazivom upotrijebljenog voća ili sirovine)	39	Liker od jaja ili advocat ili avocat ili advokat
18	Encijan	40	Liker s jajima

Tablica 1. Kategorije jakih alkoholnih pića (Uredba (EU) 2019/787) - *nastavak*

19	Jako alkoholno piće aromatizirano borovicom	41	Mistra
20	Gin	42	Väkevä glögi ili Spritglögg
21	Destilirani gin	43	Berenburg ili Beerenburg
22	London gin	44	Nektar od meda ili nektar od medovine

2.1.1. Likeri

Liker (broj 33 u tablici 1) je jako alkoholno piće koje sadržava propisanu minimalnu količinu sladila, (izraženog kao invertni šećer) od:

- 70 grama po litri za liker od trešnje ili višnje, čiji se etilni alkohol sastoji isključivo od rakije od trešnje ili višnje,
- 80 grama po litri za likere koji su aromatizirani isključivo encijanom ili sličnom biljkom ili pelinom,
- 100 grama po litri u svim drugim slučajevima;

Liker se proizvodi upotrebom etilnog alkohola poljoprivrednog podrijetla ili destilata poljoprivrednog podrijetla ili jednog ili više jakih alkoholnih pića ili njihovom kombinacijom, zaslađeno i može biti s dodatkom jedne ili više aroma, proizvoda poljoprivrednog podrijetla ili prehrambenih proizvoda. Alkoholna jakost likera iznosi najmanje 15 % vol. Za proizvodnju likera mogu se upotrebljavati aromatične tvari i/ili aromatični pripravci. Likeri se dijele na likere s anisom, voćne likere, od kojih su najpoznatiji predstavnici orahovac i višnjevac, gorke likere, u koji spada poznati hrvatski pelinkovac, te emulzijske ili krem likere, koje karakterizira dodatak mliječnih proizvoda u emulziju (Uredba (EU) 2019/787).

2.1.2. Voćni likeri

Voćni likeri jedna su od najpopularnijih vrsta likera, a najčešće su proizvedeni od: šljiva, jabuka, trešanja ili višanja, citrusnog i bobičastog voća. Aromatski profil finalnog proizvoda ovisi o raznim parametrima: geografskom podrijetlu voća, načinu berbe, stupnju zrelosti i sorti voća. Također je od velike važnosti odabrati ispravne parametre fermentacije, destilacije, maceracije i odležavanja ukoliko proizvod tome podliježe (Śliwińska-Bartel i sur., 2015).

2.2. Aronija

2.2.1. Plod aronije

Aronija je biljka porijeklom iz istočnih dijelova Sjeverne Amerike. Vrste aronije su: *Aronia Melanocarpa* (Michx.) (crnoplodna aronija), *Aronia Arbutifolia* L. (crvenoplodna aronija) i *Aronia prunifolia* L. (ljubičastoplodna aronija). *Aronia prunifolia* L. smatra se hibridom dvije prvospomenute vrste aronije. Izrazito dobro podnosi hladnoću te može opstati i u predjelima u kojima temperatura doseže i do -35 °C. Biljka aronije raste u grmovima koji rastu u visinu od 90 do 180 cm, cvjeta tijekom svibnja, te su njeni cvjetovi bijele i blijedo ružičaste boje, promjera oko 1 centimetar. Plodovi, koji se formiraju kroz razdoblje od 90 dana, su tamne bobice promjera oko 6 milimetara, skupljene u grozdove bobica, koji su prikazani na slici 1.



Slika 1. Plodovi aronije na stablu (prema Direct native plants, 2024)

Prilikom dozrijevanja bobice ispadaju iz grozda. Lišće je dugo od 3 do 7 centimetara te ne mijenja boju (Kokotkiewicz i sur., 2010).

2.2.2. Kemijski i nutritivni sastav aronije

Plod aronije odlikuje se visokim udjelom vlakana i polifenolnih tvari. Postotak suhe tvari u bobicama aronije iznosi od 15 % do 31 %, dok pH vrijednost aronije iznosi 3,3-3,7. Od šećera, koji su dominantni ugljikohidrati u aroniji, prevladavaju glukoza, fruktoza i sorbitol, te prema podacima u tablici 2. njihov udio varira od 68 do 158 grama po kilogramu ploda . Saharozu je u aroniji zabilježena u malim količinama (0,34 %).

Crnoplodna aronija prepoznatljiva je zbog svog bogatog sastava funkcionalnih komponenti, posebice fenola. U usporedbi s ostalim bobičastim voćem ima najviši udio antocijana, visok udio ukupnih fenola te jedno od najboljih sposobnosti uklanjanja radikala DPPH metodom. Prevladavajući udio u sadržaju polifenola ima antocijani (pretežito cijanidin glikozidi), zatim fenolne kiseline (klorogenska i neoklorogenska) i flavonoli (kvercetin glikozidi).

Tablica 2. Kemijski i nutritivni sastav plodova aronije (Jurendić i Ščetar, 2021)

Tvar	g/kilogram ploda
Ukupni šećeri	68-158
Glukoza	11-40
Fruktoza	14-42
Sorbitol	44-76
Ukupni polifenoli	79
Vlakno	56
Minerali	4-6
Masti	1,4
Proteini	7

Dominantni antocijani su cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid, što se može vidjeti i iz podataka o njihovoj koncentraciji u svježem plodu aronije i sušenoj aroniji u tablici 3. Otprilike 30 % ukupnih fenolnih spojeva nalazi se u kori, a ostatak u mesnatom dijelu ploda i sjemenkama. U ljusci se nalazi najveći udio antocijana (73 %), a u mesnatom dijelu ploda najveći udio fenolnih kiselina (78 %) (Kaloudi i sur., 2022).

Tablica 3. Pregled polifenolnih spojeva u aroniji i njenim prerađevinama (Jurendić i Ščetar, 2021)

Spoj	mg/100 g suhe tvari	mg/100 g svježeg proizvoda	mg/ 100 g suhe tvari komine	mg/100 g suhe tvari soka	mg/ 100 g lišća
Antocijani					
cijanidin-3-O-galaktozid	19-1282	417-636	1120	787	0,2-2
cijanidin-3-O-glukozid	0,3-42	8-27	79	28	/
cijanidin-3-O-arabinozid	6,2-582	129-299	533	324	0.2
cijanidin-3-O-ksiloksid	53	29-38	105	34	/
Fenolne kiseline					
klorogenska kiselina	16-302	72-111	204	416	184-706
neoklorogenska kiselina	92-291	59-100	169	393	143-483
3,4-dihidroksifeniloc-tena kiselina	4-26	/	/	/	5,8-6,6
Flavonoli					
kvercetin	12-44	7,1	/	/	83-316

Tablica 3. Pregled polifenolnih spojeva u aroniji i njenim prerađevinama (Jurendić i Ščetar, 2021) - *nastavak*

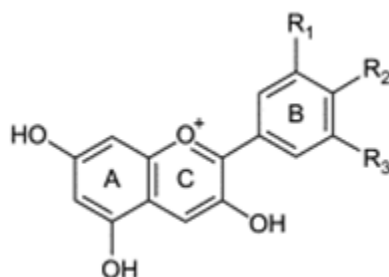
Spoj	mg/100 g suhe tvari	mg/100 g svježeg proizvoda	mg/100 g suhe tvari komine	mg/100 g suhe tvari soka	mg/100 g lišća
Flavonoli					
kvercetin-3-O-galaktozid	37	7-13	47	50	/
kvercetin-3-O-glukozid	22	4	27	31	/

2.2.3. Antocijani prisutni u aroniji

Antocijani su flavonoidi, topljivi su u vodi i nalaze se u vakuoli biljnih stanica. Obuhvaćaju veliku skupinu više od 500 vrsta različitih molekula. Nalaze se u svim tkivima biljaka, pa se mogu naći u listovima, stabljikama, plodovima, korijenju i cvjetovima. Ovisno o pH vrijednosti unutar vakuole daju crveno, ljubičasto, plavo ili crno obojenje (Alappat i Alappat, 2020). Njima su bogati crveni kupus, grožđe i svo bobičasto voće, te na zdravlje djeluju: neuroprotektivno, antimikrobno, antiinflamatorno, smanjuju rizik od raka i dijabetesa, poboljšavaju vid i imaju izraziti antioksidacijski utjecaj na organizam zbog svoje strukture, prikazane na slici 2. Aromatski prstenovi i hidroksilne skupine pridonose neutralizaciji slobodnih radikala.

Antocijani u aroniji čine 25 % ukupnih polifenola. Oni prisutni u aroniji su prema tablici 3. uglavnom slijedeći glikozidi: cijanidin-3-O-galaktozid (68,9 %), cijanidin-3-O-arabinozid (27,5 %), i u puno manjim koncentracijama cijanidin-3-O-glukozid (1,3 %) i cijanidin-3-O-ksiloksid (2,3 %) (Jurendić i Ščetar, 2021).

U tablici 3 vidljiva je zamjetna koncentracija antocijana u svježem voću, ali i u komini te u soku od aronije, što ukazuje na značaj nutritivnog sastava tih proizvoda i potvrđuje njihovo blagotvorno djelovanje na organizam. Dokazano je antiproliferacijsko djelovanje glikozida cijanidina na humane stanice raka (Kaloudi i sur., 2022).



Slika 2. Opća kemijska struktura antocijana (*prema* Chandrasekara, 2019)

Cijanidin-3-O-galaktozid

Cijanidin-3-O-galaktozid pokazuje izrazitu antioksidacijsku sposobnost, te neutralizira DPPH radikale, ABTS radikale, radikale vodikovog peroksida, uspješno reducira i ione željeza, radikale kisika i singlete kisika. Izoliran iz soka aronije u istraživanjima je uspješno reducirao rast i stimulirao apoptozu ljudskih stanica raka crijeva. Istraživanja su također ukazala na antikoagulativna i antitrombocitna svojstva aronije. Antitrombocitna svojstva pokazala su se prilikom adhezije trombocita na kolagen, kolagen inducirane agregacije trombocita i proizvodnje superoksidnih anionskih radikala (Dan i sur., 2022).

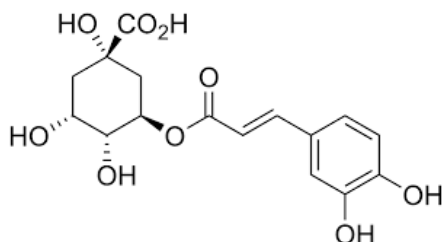
2.2.4. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su sekundarni biljni metaboliti koji pripadaju podgrupi fenolnih spojeva. Biljka ih sintetizira kao prvu liniju obrane od biotičkog (infekcije ili ozlijede) ili abiotičkog stresa (višak ili manjak nutrijenata, hladnoća, svjetlost).

Sastoje se od benzenskog prstena povezanog s karboksilnom kiselinom, a na temelju strukture dijele se na hidroksibenzojeve (7 atoma ugljika) i hidroksicimne kiseline (9 atoma ugljika). Klorogenska i neoklorogenska kiselina, fenolne kiseline koje su prisutne u aroniji, pripadaju derivatima hidroksicimne kiseline. Fenolne kiseline obuhvaćaju 7,5 % ukupnih polifenolnih spojeva u sastavu aronije, te su u najvećim koncentracijama ekstrahirane klorogenska i neoklorogenska kiselina (slika 5). Koncentracija fenolnih kiselina viša je u soku nego u komini, što ukazuje na njihovu dobru topivost u vodi. Značajan je i pozitivan utjecaj fenolnih kiselina na ljudsko zdravlje.

Klorogenska kiselina (slika 3) ima pozitivan učinak na ljudsko zdravlje u pogledu pozitivnog djelovanja na zaštitu bubrega i jetre. Djeluje na ekspresiju gena enzima i proteina povezanih s oksidacijskim sustavom i inhibira oštećenja jetre i bubrega uzrokovano oksidacijskim stresom. Također djeluje antibakterijski i na Gram-pozitivne i na Gram-negativne bakterije, razarajući strukturu stanične membrane, inhibirajući progresiju stanica ili zaustavljajući

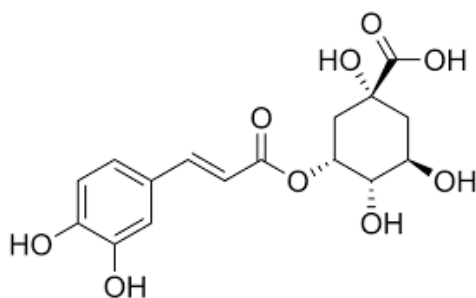
njihove metaboličke procese, što vodi do metaboličkih poremećaja unutar stanice te ih tako inaktivira. Djeluje antitumorno tako što potiče apoptozu stanica raka, djeluje na reproduktivni ciklus stanica raka i zaustavlja diobu, metastazu i invaziju stanica raka, te utječe na njihov metabolizam i usporava njihov normalan rast (Wang i sur., 2022).



Slika 3. Klorogenska kiselina (prema Wang i sur., 2022)

Neoklorogenska kiselina

Neoklorogenska kiselina (slika 4) također ima protuupalni i antitumorni učinak na ljudski organizam (Che i sur., 2021).



Slika 4. Neoklorogenska kiselina (prema Liang i sur.,2021)

2.2.5. Uporaba aronije i njen utjecaj na zdravlje

Aronija se koristi za pripremu čajeva, džemova, namaza, a u kombinaciji s drugim voćem koristi se za proizvodnju soka. Ne konzumira se sirova radi trpkog okusa. Američki Indijanci koristili su aroniju za pripremu čaja za liječenje prehlade. Tijekom 20. stoljeća počinje se komercijalno proizvoditi aroniju za sokove, džemove, vino od aronije te kao bojilo za hranu. U biljnoj medicini aronija se koristi kao prirodni lijek protiv hipertenzije i ateroskleroze.

Primjenjuje se također kao lijek za aklorhidriju (izostanak lučenja solne kiseline iz želučane sluznice) i protiv hemoroida. Danas je popularna kao dodatak prehrani u obliku praha ili kapsula, te druge prehrambene proizvode (slika 5).



Slika 5. Paleta proizvoda od aronije (prema Collins, 2023)

In vitro i *in vivo* istraživanja pokazala su da aronija djeluje na smanjenje faktora metaboličkog sindroma (skupinu faktora rizika koja se javlja kao posljedica inzulinske rezistencije te abnormalne funkcije i nakupljanja masnog tkiva). Konzumacija prehrane obogaćene ekstraktom crnoplodne aronije i/ili redovita konzumacija soka od aronije imala je blagotvorna djelovanja na sadržaj triacilglicerola i ukupnih kolesterola u tijelu ispitanika, pokazala je zaštitno djelovanje na jetru ograničenjem hepatotoksičnih efekata paracetamola, te se povećala koncentracija polinezasićenih masnih kiselina u membranama eritrocita, što je doprinijelo njihovoj većoj antioksidativnoj moći. Prilikom testiranja na životinjama oboljelima od hipertenzije, konzumacija pripravaka sa sadržajem aronije uzrokovala je sniženje sistoličkog i dijastoličkog tlaka (Sidor i sur., 2019).

2.3 Maceracija

Maceracija je postupak ekstrakcije komponenti iz biljke u vodeno-alkoholnu bazu u svrhu dobivanja ekstrakta obogaćenog spojevima odgovornim za boju i okus kao i bioaktivnim molekulama koje su se ekstrahirale iz biljnog materijala u otapalo. Macerat se može koristiti za izradu likera ili za daljnju destilaciju i dobivanje destilata macerata. Parametri maceracije (trajanje, omjer otapala i biljnog materijala, temperatura, koncentracija alkohola u vodeno-alkoholnoj bazi, izlaganje sunčevoj svjetlosti, dodatak šećera) utječu na koncentraciju ekstrahiranih tvari i kvalitetu konačnog macerata. Ukoliko je u vodeno-alkoholnoj bazi niža koncentracija alkohola, u otopinu će se ekstrahirati više tvari topivih u vodi (organske kiseline, tvari koje doprinose gorčini, ugljikohidrati), a ukoliko je u bazi viša koncentracija alkohola, u otopinu će se više ekstrahirati eterična ulja i lipidi. Maceracija u tami je bitna ukoliko je cilj ekstrakcija fenolnih tvari, jer se prilikom maceracije na svjetlu odvija degradacija bioaktivnih fenolnih tvari (Hanousek Čiča i sur., 2020).

Dodatak šećera prilikom maceracije

Kristalni šećer (saharoza) je disaharid koji sadrži glukozu i fruktozu, te je topiv u vodenoj otopini. Zbog povećanja otopljenih tvari dodatkom šećera u vodeno-alkoholnu otopinu, tijekom maceracije je u otopini povećan osmotski tlak. To dovodi do plazmolize stanica biljnih materijala, čime je olakšan prijenos tvari arome i boje u otopinu.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Biljni materijali

Za provedbu eksperimentalnog dijela ovog rada korištene su osušene i očišćene bobice aronije (*Aronia melanocarpa*) uzgojene i ubrane lokalno (slika 6).



Slika 6. Bobice aronije (vlastita fotografija)

3.1.2. Kemikalije i oprema

Za postupak pripreme macerata i provedbu svih u radu navedenih analiza korištene su slijedeće kemikalije:

- Folin – Ciocalteu reagens – Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- bezvodni natrijev karbonat – Gram-mol (Zagreb, Hrvatska)
- destilirana voda
- etanol 96 % vol. – Kefo (Ljubljana, Slovenija)
- galna kiselina – Sigma-Aldrich (Steinheim, Njemačka)
- šećer – Viro tvornica šećera d.d. (Zagreb, Hrvatska)
- glicerol – Biofarm d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

i slijedeća oprema:

- spektrofotometar Specord 50 Plus - Analytik Jena (Jena, Njemačka)
- pH metar CG 842 – Schott (Mainz, Njemačka)

- digitalni refraktometar DR 301-95 – Krüss-optronic (Hamburg, Njemačka)
- analitička vaga Adventurer AX224 – OHAUS (Nänikon, Švicarska)
- laboratorijska vaga KB1200-2N – Kern (Balingen, Njemačka)

3.2. Metode

3.2.1. Postupak pripreme macerata i likera od aronije

Macerat aronije pripremljen je tako što je izvagano 250 grama aronije te je prebačeno u posudu s čepom i preliveno prethodno pripremljenom mješavinom etanola i vode točno određene koncentracije (slika 7). U dvije boce je dodan šećer, dok je u dvije paralelne boce maceracija provedena bez dodatka šećera. Koncentracija aronije tijekom maceracije iznosila je 312,5 g/L. Volumni udio etanola u vodeno-alkoholnoj bazi iznosio je 40 % i 75 %, dok je udio šećera u vodeno-alkoholnim bazama koje su sadržavale šećer iznosio 62,5 g/L. Vodeno-alkoholna baza pripremljena je razrjeđivanjem 96 %-tnog etanola demineraliziranom vodom.

Postupak maceracije provodio se na sobnoj temperaturi, na tamnom mjestu bez sunčeve svjetlosti, uz povremeno miješanje. Tijekom maceracije izuzeti su uzorci u kojima je izmjerena koncentracija fenolnih spojeva te je kraj maceracije određen kada je koncentracija fenolnih tvari u otopini stagnirala nekoliko uzastopnih mjerenja. Pregled uvjeta maceracije prikazan je u tablici 4. Nakon završetka maceracije macerat je odvojen od bobica aronije cijedenjem. Za pripremu likera od aronije odabran je macerat s 40 % volumnog udjela etanola i bez dodatka šećera. Macerat je razrijeđen destiliranom vodom na 20 % volumnih udjela etanola, te je dodan šećera kako bi macerat zadovoljavao propis o minimalnom masenom udjelu šećera propisanom za likere. Nakon dodavanja šećera, koncentracija šećera iznosila je 240 g/L. Likeru je također dodan glicerol (4 mL/L) radi povećanja viskoznosti.



Slika 7. Macerati aronije (vlastita fotografija)

Tablica 4. Uvjeti maceracije aronije

Uzorak	Volumni udio etanola (%)	Koncentracija aronije (g/L)	Koncentracija šećera (g/L)	Vrijeme maceracije (dani)
40 % macerat	40	312,5	0	23
40 % macerat s dodatkom šećera	40		62,5	
75 % macerat	75		0	
75 % macerat s dodatkom šećera	75		62,5	

3.2.2. Postupak određivanja ukupnih fenolnih spojeva

Sadržaj ukupnih fenolnih spojeva određen je kolorimetrijskom metodom pomoću Folin-Ciocalteu reagensa. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa natrijevog volframata i natrijevog molibdata u kiselom mediju (otopina fosforne kiseline), koja mijenja boju u plavu u prisustvu fenolnih tvari i u lužnatim uvjetima (Singleton i Rossi, 1965). Intenzitet plavog obojenja linearno se povećava s povećanjem koncentracije fenolnih tvari, te se obojenje zatim mjeri spektrofotometrijski na 760 nm. Dobiveni rezultati izraženi su kao masena koncentracija

ekvivalenata galne kiseline (mg GAE/L) .

Izuzeti uzorci macerata aronije razrijeđeni su 10 puta. U odmjernu tikvicu od 10 mL dodano je 500 µL Folin-Ciocalteu reagensa, 300 µL uzorka, te 6 mL demineralizirane vode. Smjesa se ostavi da stoji 5 minuta. Zatim je u smjesu dodano 1,5 mL natrijevog karbonata te se smjesa napuni demineraliziranom vodom do oznake. Tikvica se začepi, homogenizira i ostavi u vodenoj kupelji na 50 °C tijekom 30 minuta. Nakon 30 minuta mjeri se apsorbancija na spektrofotometru Specord 50 Plus (Analytik Jena, Njemačka). Slijepa proba priprema se na isti način kao i uzorak, ali se umjesto 300 µL uzorka dodaje 300 µL demineralizirane vode. Svaki uzorak mjeri se u 2 paralele.

Priprema baždarnog pravca

Kako bi se dobila otopina za izradu standardnih otopina u odmjernu tikvicu od 50 mL izvaže se 500 mg galne kiseline i tikvica se nadopuni destiliranom vodom do oznake. Od dobivene otopine naprave se standardne otopine od 100, 150, 200, 250 i 300 mg/L galne kiseline u odmjernim tikvicama od 50 mL. U odmjernu tikvicu od 10 mL odpipetirano je 300 µL otopine pojedinačne koncentracije te 500 µL Folin-Ciocalteu reagensa i 6 mL destilirane vode nakon čega se sastojci promiješaju i tikvica se ostavi da odstoje 5 minuta. Nakon toga doda se 1,5 mL natrijevog karbonata te se tikvica nadopuni demineraliziranom vodom do oznake. Postupak se ponovi za svaku standardnu otopinu. Odmjerne tikvice ostave se na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi u vremenskom periodu od 2 sata te se zatim mjeri apsorbancija na 760 nm pomoću spektrofotometra. Slijepa proba priprema se po istom postupku kao i uzorci, ali se umjesto 300 µL uzorka dodaje 300 µL destilirane vode.

Račun

Iz pravca ovisnosti apsorbancije standardnih otopina galne kiseline o njihovoj koncentraciji dobiven je baždarni pravac i jednadžba pravca iz koje se izračunava koncentracija ukupnih fenola u uzorku:

$$y = 0,0041x + 0,0204 \quad (R^2=0,9982)$$

U dobivenoj jednadžbi y je vrijednost apsorbancije izmjerene pri 760 nm, a x je masena koncentracija ukupnih fenola izraženih u mg ekvivalenata galne kiseline u 1 L uzorka (mg GAE/L). R² predstavlja koeficijent determinacije.

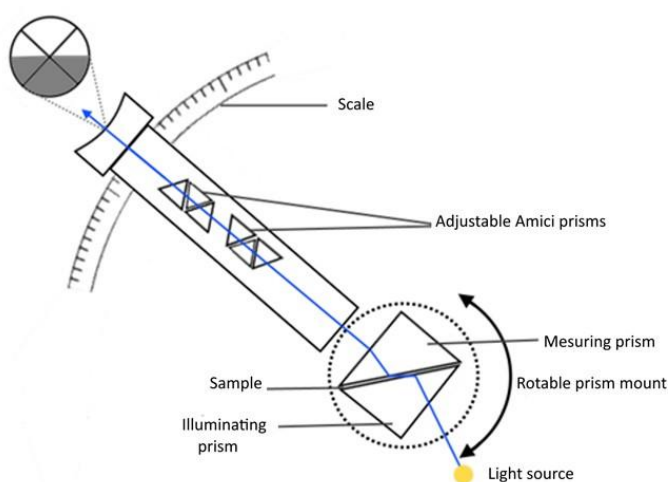
3.2.3. pH vrijednost

pH vrijednost uzoraka macerata aronije mjerena je pomoću pH metra Schott CG 842 (Mainz, Njemačka) uranjanjem pH elektrode u uzorke. Prije početka provedbe analize elektroda pH metra kalibrirana je puferom kako bi se osiguralo ispravno očitavanje. Elektroda je uronjena u

pufer pH=4 i pH=7. Osim pH vrijednosti macerata izmjerene su i pH vrijednosti pripremljenog likera, te 40 % i 75 % vol. otopina etanola.

3.2.4. Određivanje sadržaja suhe tvari

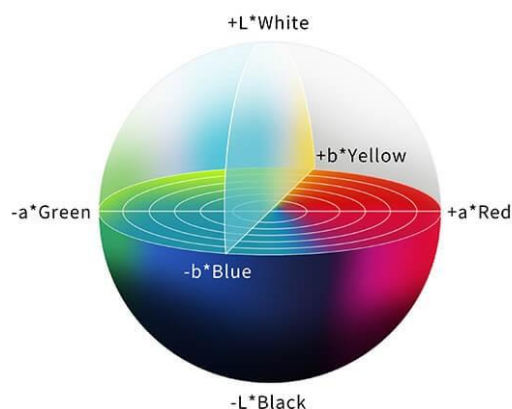
Suha tvar izražena u stupnjevima Brix ($^{\circ}$ Brix) izmjerena je digitalnim refraktometrom. Nekoliko kapi tvari nanese se na stakalce refraktometra u dovoljnoj količini da prekrije cijeli otvor, te se očitavanje pojavi na zaslonu nakon nekoliko sekundi. Refraktometar mjeri količinu suhe tvari na temelju indeksa loma svjetlosti kroz uzorak, što je prikazano na slici 8.



Slika 8. Princip rada refraktometra (prema Rodrigues, 2023)

3.2.5. Određivanje kromatskih parametara

Kromatski parametri određeni su prema CIElab sustavu, čiji su parametri prikazani u tablici 5 (OIV, 2014). CIElab trodimenzionalni je prostorni sustav (slika 9) u kojem oznaka L predstavlja svjetlinu, oznaka a predstavlja (ovisno o predznaku) crvenu ili zelenu, a oznaka b predstavlja plavu ili žutu. L vrijednost predstavlja samo skalu od prozirne do crne, na kojoj 100 označava apsolutnu prozirnost, a 0 apsolutnu crnu boju, dok kromatske koordinate (a i b) nemaju brojevana ograničenja. Negativna a vrijednost predstavlja zelenu, dok pozitivna a vrijednost predstavlja crvenu boju. Negativna b vrijednost predstavlja plavu boju, a pozitivna b vrijednost predstavlja žutu boju. Parametri h i C označavaju kut boje i zasićenje boje. CIElab međunarodno je prihvaćen način kvantificiranja boja.



Slika 9. Prostorni sustav boja (prema Linshangtech, 2021)

Kromatski parametri uzoraka mjereni su pomoću spektrofotometra Specord 50 Plus (Analytik Jena, Jena, Njemačka) sa izvorom svjetlosti D65. Mjerene su vrijednosti transmitancije svakih 10 nm u području valnih duljina od 380 do 780 nm.

Tablica 5. Oznake i značenje kromatskih parametara

Naziv kromatskog parametra	Oznaka	Interval i značenje očitavanja
Svjetlina	L	0-100 0-crno, 100-prozirno
Komponenta crvene/zelene boje	a	Nema intervala <0 – zelena boja, >0 – crvena boja
Komponenta žute/plave boje	b	Nema intervala <0 – plava boja, >0 – žuta boja
Zasićenje boje	C	
Kut boje	h	0 - 360°

3.2.6. Statistička obrada podataka

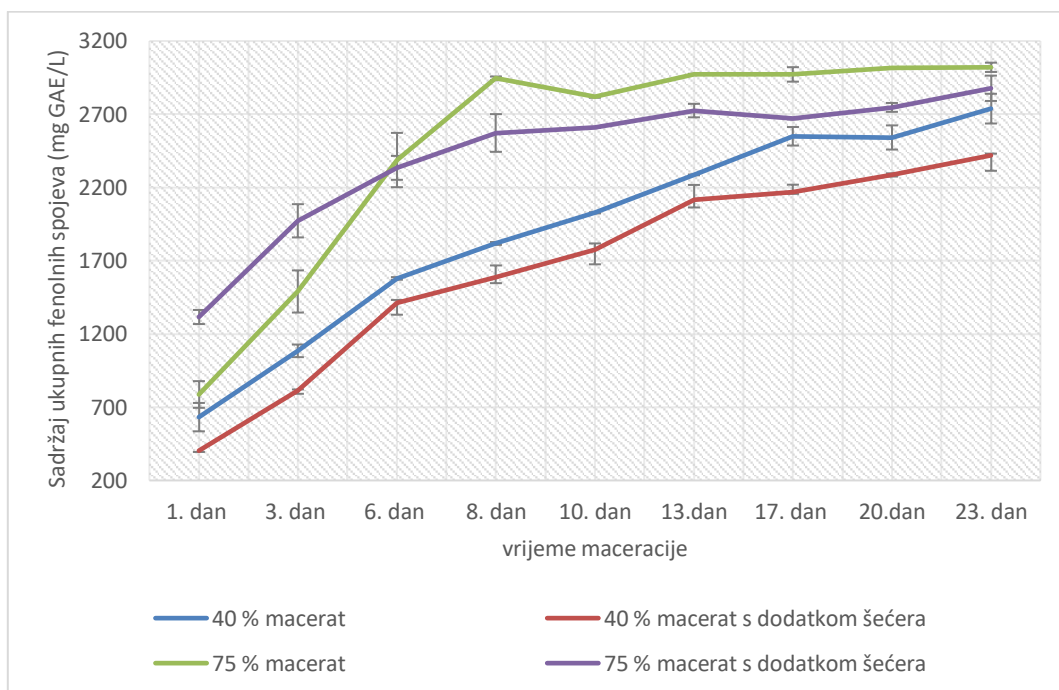
Statistička obrada podataka provedena je u programu Microsoft Excel. U programu su računane srednje vrijednosti paralelnih mjerenja, standardna devijacija, te svi grafički prikazi koji sadržavaju podatke mjerenja.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu istražen je utjecaj volumnog udjela etanola (40 i 75 %) i dodatka šećera na fizikalno-kemijske parametre macerata aronije. Fizikalno-kemijski parametri koji su utvrđeni u uzorcima macerata te u dobivenom likeriu su: sadržaj ukupnih fenolnih spojeva, pH vrijednost, sadržaj suhe tvari i kromatski parametri. Postupak maceracije trajao je 23 dana, odnosno sve dok se sadržaj fenolnih spojeva u maceratima nije ustalio.

4.1. Sadržaj ukupnih fenolnih spojeva u uzorcima

Sadržaj ukupnih fenolnih spojeva u maceratima i likeriu određen je spektrofotometrijski nakon reakcije s Folin-Ciocalteu reagensom. Podatci prikupljeni mjerenjima prikazani su grafički na slici 10.



Slika 10. Grafički prikaz promjene koncentracije fenolnih spojeva (mg GAE/L) tijekom maceracije bobica aronije u vodeno-alkoholnim bazama različite jačine alkohola (% vol.) te bez i uz dodatak šećera

Maceracija aronije praćena je 23 dana, budući da je primjećeno da je došlo do ustaljenja koncentracije fenolnih tvari u svim uzorcima. Ekstrakcija se odvijala brže u uzorcima u kojima nije bio prisutan šećer, te u uzorcima u kojima je bio veći udio alkohola, što ukazuje na to da ekstrakciji polifenola iz aronije više pogoduje veći postotak alkohola u vodeno-alkoholnoj bazi. Ipak, u konačnici je u svim uzorcima, nakon produžene maceracije od 23

dana, postignuta visoka koncentracija fenolnih spojeva u rasponu od 2419,39 do 3020,49 mg GAE/L. Rezultati sličnog istraživanja maceracije aronije doveli su do zaključka da je optimalni udio etanola u vodeno-alkoholnoj bazi za maksimalnu ekstrakciju polifenolnih tvari iz aronije 50 % (proučavani udjeli etanola bili su: 50 %, 70 % i 96 %). U tom istraživanju proučavani su parametri; vrijeme, omjer otapala i krute tvari, veličina čestica i vrsta otapala (Ćujić i sur., 2016).

Omjer otapala i krute tvari je u ovom istraživanju bio 3:1, dok je u gore spomenutom istraživanju utvrđeno da je optimalni omjer kako bi se postigla maksimalna ekstrakcija polifenolnih tvari od 20:1 do 30:1. Također je utvrđeno da je maksimalna ekstrakcija polifenolnih tvari postignuta primjenom 50 % etanola, dok je primjenom 70 % i 96 % etanola ekstrahirano manje polifenolnih spojeva (Ćujić i sur., 2016). Suprotno tome, u ovom istraživanju, tijekom maceracije u uzorcima s 75 % etanola utvrđen je veći sadržaj polifenolnih spojeva u odnosu na uzorke s 40 % etanola. Udio vode u vodeno-alkoholnoj bazi je bitan zbog djelovanja vode na biljni materijal, koji zbog prisustva vode bubri, dok zbog alkohola slabe veze u biljnom materijalu te to omogućava lakšu ekstrakciju molekula u otapalo. Smjesa alkohola i vode na ekstrakciju djeluje sinergistički (Hanousek Čiča i sur., 2021).

Maceracija kao metoda ekstrakcije posebno je prikladna za spojeve koji su termolabilni te se radi tih svojstava ne mogu tako uspješno izdvojiti destilacijom ili sličnim metodama. Međutim, osnovni nedostatak ove metode ekstrakcije je njeno trajanje odnosno ekstrakcija spojeva iz materijala odvija se sporije u odnosu na druge metode ekstrakcije. Sam proces maceracije djeluje na principu difuzije tvari iz područja veće koncentracije u područje manje koncentracije, te je zbog toga uočljiv puno strmiji oblik krivulja kojima je prikazan sadržaj ekstrahiranih fenolnih spojeva odmah na početku maceracije, u prvih tjedan dana (slika 10). Iduća dva tjedna do kraja maceracije ekstrakcija tvari iz biljnog materijala tekla je znatno sporije zbog sve veće koncentracije polifenolnih tvari u otapalu.

Na temelju dobivenih rezultata o sadržaju ekstrahiranih ukupnih fenolnih spojeva za dobivanje likera od aronije odabran je macerat s 40 % volumnih udjela etanola i bez dodatka šećera. Naime, razrjeđivanjem macerata s 40 % na 20 % volumnog udjela etanola u konačnom proizvodu – liker u osigurava se veći sadržaj fenolnih spojeva u odnosu na macerat sa 75 % etanola.

4.2. pH vrijednost uzoraka

pH vrijednosti macerata aronije niže su od vodeno-alkoholnih otopina korištenih za maceraciju aronije, što ukazuje na to da se iz aronije tijekom maceracije ekstrahiraju spojevi koji snižavaju pH vrijednost. Do većeg pada pH vrijednosti došlo je u uzorcima s volumnim udjelom alkohola od 75 %, što objašnjava i činjenica da je u tim uzorcima ekstrakcija tvari iz bobica aronije u otapalo tekla intenzivnije i u konačnici se ekstrahiralo više tvari. U tablici 6 vidljiva je promjena pH vrijednosti uzorka s volumnim udjelom alkohola od 40 % s 6,28 (vodeno-alkoholna baza) na 4,78 (macerat), dok je promjena pH vrijednosti uzorka s volumnim udjelom alkohola od 75 % iznosila 2 pH jedinice, sa 7,21 (vodeno-alkoholna baza) na 5,23 (macerat). pH vrijednosti svih uzoraka prikazane su u tablici 6.

Tablica 6. pH vrijednosti vodeno-alkoholnih baza korištenih za maceraciju aronije, dobivenih macerata aronije nakon provedene maceracije, te pripremljenog likera

uzorak	pH
40 % EtOH	6,28±0,01
75 % EtOH	7,21±0,01
40 % macerat	4,78±0,02
40 % macerat s dodatkom šećera	4,80±0,00
75 % macerat	5,23±0,00
75 % macerat s dodatkom šećera	5,11±0,02
likera	4,47±0,01

Od kiselina su u aroniji prirodno prisutne: askorbinska kiselina (5-100 mg/100 mL), te organske kiseline u niskim koncentracijama. Prisutne su jabučna (13,1 g/kg), limunska (2.1 g/kg) i kvininska kiselina (5,9 g/kg), te njihov udio iznosi od 1,1 % do 1,4 %. 75 %-tna otopina etanola ima viši pH (7,21) od 40 %-tne otopine etanola (6,28) što ukazuje na to da veći volumni udio etanola u otopini povisuje pH vrijednost otopine, to jest smanjuje disocijaciju vode zbog čega je smanjena i prisutnost vodikovih iona i posljedično povišen pH otopine. pH vrijednost dobivenog likera iznosila je 4,47 što je niže od dobivenih macerata zbog razrjeđenja macerata vodom na 20 % volumnog udjela etanola.

4.3. Sadržaj suhe tvari u uzorcima

Sadržaj suhe tvari u uzorcima izmjeren digitalnim refraktometrom i izražen u stupnjevima Brixa ($^{\circ}$ Brix) prikazan je u tablici 7, te je iznosio 19,8 u maceratu aronije u 40 %-tnoj otopini alkohola, što je značajno niže od udjela suhe tvari u 75 %-tnom maceratu aronije, koji je iznosio 26,1.

Iz tih mjerenja vidljiva je bolja ekstrakcija tvari u vodeno-alkoholnoj otopini većeg udjela alkohola, koja se može pripisati boljoj ekstrakcijskoj učinkovitosti alkohola pri višim koncentracijama i boljoj ekstrakciji i polarnih i nepolarnih spojeva.

Tablica 7. Sadržaj suhe tvari ($^{\circ}$ Brix) u vodeno-alkoholnim bazama korištenim za maceraciju aronije, dobivenim maceratima aronije nakon provedene maceracije, te u pripremljenom liker

Uzorak	$^{\circ}$ Brix
40 % EtOH	14,8 \pm 0,00
75 % EtOH	20,3 \pm 0,00
40 % macerat	19,8 \pm 0,01
40 % macerat s dodatkom šećera	23,1 \pm 0,01
75 % macerat	26,1 \pm 0,00
75 % macerat s dodatkom šećera	29,3 \pm 0,00
liker	22,9 \pm 0,001

Macerati aronije oba volumna postotka (40 % i 75 %) s dodatkom šećera imali su veći sadržaj suhe tvari od macerata aronije bez šećera, što se slaže s očekivanjima jer je šećer topiv u polarnim otopinama i povišio je sadržaj suhe tvari.

Sadržaj suhe tvari u maceratima povišio se također zbog otapanja polifenolnih tvari, šećera prirodno prisutnih u aroniji poput glukoze, fruktoze i sorbitola (tablica 2), te u manjoj količini vlakana kojima aronija obiluje, a mogu biti prisutni u otopini u obliku otopljenih polisaharida, poput pektina, koji čini 8 % vlakana aronije. Ostatak vlakana u aroniji čine ona netopljiva poput celuloze (35 %), hemiceluloze (34 %) i lignina (24 %) (Jurendić i Šćetar, 2021).

U liker sadržaj suhe tvari iznosi 22,9, što je više od uzorka iz kojeg je liker proizveden (macerat aronije u 40 %-tnoj vodeno-alkoholnoj otopini). Do toga dolazi jer unatoč dodatku vode kako bi udio alkohola u liker iznosio 20 %, u liker je dodana i dodatna količina šećera i glicerol, koji doprinose sadržaju suhe tvari.

4.4. Kromatski parametri uzoraka

Kromatski parametri uzoraka određeni su spektrofotometrijski prema CIELab metodi. Izmjerene vrijednosti kromatskih parametara u uzorcima nakon 23 dana maceracije prikazane su u tablici 8.

Tablica 8. Kromatski parametri (L, a, b, C, h) dobivenih macerata aronije i pripremljenog likera

Uzorak	Oznaka kromatskog parametra				
	L	a	b	C	h
40 % macerat	4,404±0,02	27,989±0,04	7,541±0,00	28,987±0,02	0,263±0,00
40 % macerat s dodatkom šećera	4,128±0,05	26,505±0,01	7,011±0,00	27,417±0,00	0,259±0,01
75 % macerat	2,779±0,03	18,958±0,02	4,725±0,03	19,538±0,05	0,2406±0,01
75 % macerat s dodatkom šećera	2,597±0,01	17,589±0,01	4,409±0,06	18,134±0,06	0,246±0,00
likera	16,484±0,01	46,262±0,05	28,204±0,04	54,181±0,03	0,548±0,00

Oznaka L označava svjetlinu ekstrakta, vrijednost 0 ukazuje na crno dok vrijednost 100 prozirno. Vidljivo je da su macerati s nižom koncentracijom alkohola prozirniji, tj. da je ekstrakcija tvari boje bila uspješnija u maceratima više koncentracije alkohola, što je prethodno potvrđeno i utvrđivanjem koncentracije fenolnih tvari u uzorcima.

Od svih mjerenih uzoraka, uzorak dobivenog likera (slika 11) je najsvjetliji (L=16,484) jer je razrijeđen destiliranom vodom do željene koncentracije. Dobiveni liker privlačne je tamno crvene boje. Najtamniji uzorak je 75 % macerat aronije s dodatkom šećera, koji ima vrijednost L parametra od 2,597.

Parametar a prikazuje komponentu crvene/zelene boje, te je iz pozitivne vrijednosti parametra a vidljiva prisutnost crvene boje, čija je vrijednost bila najviša u uzorcima veće prozirnosti (likera i macerata aronije u 40 % alkoholu), dok je najmanja bila u uzorcima macerata u 75 %-tnoj vodeno-alkoholnoj otopini. Vrijednost parametra a u tim uzorcima iznosila je 17,589 za macerat s dodatkom šećera i 18,958 bez dodatka šećera. Parametar b prikazuje komponentu žute/plave boje. Sve izmjerene vrijednosti su pozitivne, što znači da svi uzorci imaju prisutnu komponentu žute boje, te nemaju prisutnu plavu boju. Najveća vrijednost parametra b ponovno je izmjerena u uzorku likera, te je iznosila 28,204. Najmanja vrijednost parametra b izmjerena je u uzorku 75 %-tnog macerata aronije s dodatkom šećera i iznosila je 4,409. Puno veće izmjerene vrijednosti parametra a u odnosu na parametar b

ukazuju na veću prisutnost crvene u odnosu na žutu boju. Parametar C označava zasićenost boje, te je najveću zasićenost boje (51,181) imao uzorak likera. Najmanja zasićenost izmjerena je u 75 %-tnom maceratu aronije s dodatkom šećera, dok je 75 %-tni macerat aronije bez dodatka šećera imao neznatno višu vrijednost. Parametar h označava kut boje u CIELab prostoru boja. Najveći kut boje (0,548) izmjeren je u uzorku likera, a najmanji (0,246) u oba uzorka s 75 %-tnim udjelom etanola u vodeno-alkoholnoj bazi. Kut boje u uzorku likera ukazuje na veći udio žute boje u tom uzorku u odnosu na ostale (iako je i dalje dominantna crvena), dok kut boje u uzorcima s 75 % etanola ukazuje na dublju crvenu nijansu s manjim prisustvom žute boje.



Slika 11. Dobiveni proizvod – liker od aronije

5. ZAKLJUČCI

1. Volumni udio etanola u vodeno-alkoholnoj bazi utječe, dok dodatak šećera ne utječe na ekstrakciju fenolnih spojeva iz bobica aronije tijekom maceracije. Najveća koncentracija fenolnih tvari (3020,49 mg GAE/L) izmjerena je u uzorku vodeno-alkoholne otopine s volumnim udjelom alkohola od 75 % nakon 23 dana maceracije.

2. Maceracijom bobica aronije snižava se pH vrijednost vodeno-alkoholne otopine jer se iz aronije ekstrahiraju kiseline koje snižavaju pH vrijednost macerata.

3. Sadržaj suhe tvari bio je viši u uzorcima većeg volumnog udjela etanola (75 %), što ukazuje na bolju ekstrakciju tvari u otapalo u tim uzorcima u odnosu na uzorke s manjim volumnim udjelom etanola (40 %).

4. Vrijednost kromatskih parametara ovisi o volumnom udjelu etanola u vodeno-alkoholnoj bazi. U svim uzorcima zabilježena je prisutnost žute i crvene komponente boje (a i b), te smanjenje prozirnosti (L) uzoraka s povećanjem udjela etanola u vodeno-alkoholnoj bazi. Određivanje kromatskih parametara bitno je kako bi se osigurala željena boja i izgled konačnog proizvoda, zbog zadovoljenja vizualnog karaktera.

5. Za proizvodnju likera od aronije, preporuča se maceracija u otopini 40 %-tnog volumnog udjela etanola bez dodatka šećera, jer se razrjeđivanjem tog macerata do 20 % etanola u konačnom proizvodu – likeru osigurava veći sadržaj fenolnih spojeva u odnosu na razrjeđivanje macerata sa 75 % etanola.

6. POPIS LITERATURE

Alappat B, Alappat J (2020) Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules* **25**. <https://doi.org/10.3390/molecules25235500>

Chandrasekara A (2019) Phenolic Acids. U: Melton L, Shahidi F, Varelis P (ured.) Encyclopedia of Food Chemistry, 1. izd., Academic Press, str. 535-545. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965223950>

Che J, Zhao T, Liu W, Chen S, Yang G, Li X, Liu D (2021) Neochlorogenic acid enhances the antitumor effects of pingyangmycin via regulating TOP2A. *Mol Med Rep* **23**, 158. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11797>

Collins S (2023) The Science – Aronia Ireland <https://aroniaireland.com/the-science/>
Pristupljeno 16. veljače 2024.

Ćujić N, Šavikin K, Janković T, Pljevljakušić D, Zdunić G, Ibrić S (2016) Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chem*, **194**, 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>.

Dan Z, Zhipeng Y, Wenzhu Z, Jingbo L (2022) Assessment of the anti-tumor activity of cyanidin-3-O-arabinoside from apple against APN, JAK, and EZH2 target proteins, *Food Biosci.* **48**, 101788. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101788>

Direct native plants (2024) *Aronia melanocarpa*, Direct native plants, <https://directnativeplants.com/product/black-chokeberry/>. Pristupljeno 25. srpnja 2024.

González-Sanjose M L, Pérez-Magariño S (2003) LIQUEURS | Composition. U: Caballero, B (ured.) Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2. izd, Academic Press, str. 3553-3559. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00704-5>.

Hanousek Čiča K, Mrvčić J, Srećec S, Filipan K, Blažić M, Stanzer D (2020) Physicochemical and aromatic characterization of carob macerates produced by different maceration conditions. *Food Sci Nutr* **8**, 942-954. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1374>

Jurendić T, Ščetar M (2021) *Aronia melanocarpa* Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review. *Antioxidants* **10**, 1052. <https://doi.org/10.3390/antiox10071052>

Kaloudi T, Tsimogiannis D, Oreopoulou V (2022) *Aronia Melanocarpa*: Identification and

Exploitation of Its Phenolic Components. *Molecules* **27**, 4375.
<https://doi.org/10.3390/molecules27144375>

Kokotkiewicz A, Jaremicz Z, Luczkiewicz M (2010) Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *J Med Food* **13**.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20170359/>

Liang Z, Liang H, Guo Y, Yang D (2021) Cyanidin 3-O-galactoside: A Natural Compound with Multiple Health Benefits. *Int J Mol Sci* **22**, 2261. <https://doi.org/10.3390/ijms22052261>

Linshangtech (2021) What is CIE Lab color model & color analyzer? Lingangs technology, <https://www.linshangtech.com/tech/lab-color-model-color-meter-tech1432.html> Pristupljeno 04. veljače 2024.

Mihaljević Žulj M (2016) Višnja kao vino, rakija ili liker - Gospodarski list
<https://gospodarski.hr/rubrike/vocarstvo-rubrike/plodovi-visanja-kao-vino-rakija-ili-likera/>
Pristupljeno 04. siječnja 2024.

OIV – Compendium of International Methods of Analysis of Spirituous Beverages of Vitivicultural Origin (2014) Determination of chromatic characteristics (OIV-MA-BS-27). International Organisation of Vine and Wine, Paris.

Rodrigues R (2023) The Refractometer, How It Works and Role in the Food Industry – Technology Networks Applied Sciences <https://www.technologynetworks.com/applied-sciences/articles/the-refractometer-how-it-works-and-role-in-the-food-industry-369653>
Pristupljeno 06. kolovoza 2024.

Sidor A, Drożdżyńska A, Gramza-Michałowska A (2019) Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and its products as potential health-promoting factors - An overview. *Trends Food Sci* **89**, 45-60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.006>.

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of Total Phenolics with Phospho-molybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic* **16**, 144-158.

Śliwińska-Bartel M, Wiśniewska P, Dymerski T, Wardencki W, Namieśnik J (2015). The flavour of fruit spirits and fruit liqueurs: A review. *Flavour Fragr J* **3**, 197-207.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ffj.3237>

Uredba (EU) 2019/787 Europskog parlamenta i vijeća o definiranju, opisivanju, prezentiranju i označavanju jakih alkoholnih pića, upotrebi naziva jakih alkoholnih pića u prezentiranju i označavanju drugih prehrambenih proizvoda, zaštiti oznaka zemljopisnog podrijetla za jaka

alkoholna pića, upotrebi etilnog alkohola i destilata poljoprivrednog podrijetla u alkoholnim pićima te stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br.110/2008. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0787&from=de> Pristupljeno 5.siječnja 2024.

Wang L, Pan X, Jiang L i sur. (2022) The Biological Activity Mechanism of Chlorogenic Acid and Its Applications in Food Industry: A Review. *Front Nutr* **9**, 943911. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9278960/>

Izjava o izvornosti

Ja Lucija Pavković izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis