

# Primjena longana (*Dimocarpus longan*) i lychee-ja (*Litchi chinensis*) kao inovativnih dodataka u proizvodnji čokoladnih pralina

---

Slijepčević, Marijana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:612365>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-15**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Marijana Slijepčević**

6693/PT

**PRIMJENA LONGANA (*Dimocarpus longan*) I LYCHEE-JA**  
**(*Litchi chinensis*) KAO INOVATIVNIH DODATAKA U**  
**PROIZVODNJI ČOKOLADNIH PRALINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Modul: Sladila**

**Mentor: prof.dr.sc. Draženka Komes**

**Zagreb, 2016.**

# DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za kemiju i tehnologiju ugljikohidrata i konditorskih proizvoda

## PRIMJENA LONGANA (*Dimocarpus longan*) I LYCHEE-JA (*Litchi chinensis*) KAO INOVATIVNIH DODATAKA U PROIZVODNJI ČOKOLADNIH PRALINA

*Marijana Slijepčević 6693/PT*

**Sažetak:** Čokolada je visokovrijedna namirnica koja osim osnovnih hranjivih sastojaka sadrži i niz bioaktivnih sastojaka, za koje je dokazan pozitivan učinak na ljudsko zdravlje, no, zbog velikog broja čokoladnih proizvoda na tržištu postoji potreba za razvojem inovativnih, atraktivnih čokoladnih proizvoda s novim, funkcionalnim sastojcima. U ovom radu ispitana je mogućnost primjene longana (*Dimocarpus longan*) i lychee-ja (*Litchi chinensis*), kao sirovina za proizvodnju inovativnih, funkcionalnih čokolada. Konzumacija ovog egzotičnog voća još uvijek nije u većoj mjeri proširena u Hrvatskoj, stoga je cilj ovoga rada bio karakterizirati fizikalno-kemijska, bioaktivna i senzorska svojstva svježeg i sušenog longana i lychee-ja te tako dobivene sastojke implementirati u proizvodnju čokoladnih pralina. U svrhu karakterizacije bioaktivnih svojstava spektrofotometrijski su određeni udjeli ukupnih polifenola, flavonoida, flavan-3-ola, procijanidina te antioksidacijski kapacitet ABTS i DPPH metodama, dok je za senzorsku analizu primijenjena kvantitativna deskriptivna analiza. Najbolje ocijenjeni uzorci korišteni su u proizvodnji čokoladnih pralina, kojima su zatim karakterizirana ista bioaktivna i senzorska svojstva. Dobiveni rezultati pokazali su kako sušenje uzoraka na 60°C svježeg lychee-ja i polu suhog longana u svrhu proizvodnje prikladnih sastojaka za implementaciju u prehrambene proizvode nije značajno utjecalo na udjel bioaktivnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta. Usporedbom dvije biljne vrste, pokazalo se da longan sadrži veći udio ukupnih polifenolnih spojeva od lychee-ja, no, lychee sadrži veći udio flavan-3-ola i procijanidina. Implementacijom uzoraka longana i lychee-ja u proizvodnju čokoladnih pralina, nije postignuto obogaćenje bioaktivnog sastava čokolade ali su proizvedeni senzorski atraktivni i prihvatljivi proizvodi, posebice u slučaju dodatka svježeg lychee-ja.

**Ključne riječi:** antioksidacijski kapacitet, funkcionalna čokolada, longan, lychee, polifenolni spojevi

**Rad sadrži:** 39 stranica, 11 slika, 2 tablice, 29 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Prof. dr. sc. Draženka Komes

**Pomoć pri izradi:** Doc. dr.sc. Ana Belščak-Cvitanović

**Rad predan:** srpanj, 2016.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory for Technology of Carbohydrates and Confectionery products

### APPLICATION OF LONGAN (*Dimocarpus longan*) AND LYCHEE (*Litchi chinensis*) AS INNOVATIVE INGREDIENTS IN THE PRODUCTION OF CHOCOLATE PRALINES

*Marijana Slijepčević 6693/PT*

**Abstract:** Chocolate is a highly valuable food, which in addition to basic nutrients also contains a range of bioactive compounds, which exert positive health effects, however, due to the abundant number of different chocolate products on the market a need has arisen for development of innovative, attractive chocolate products with novel, functional properties. In the present paper, the possibility of applying longan (*Dimocarpus longan*) and lychee (*Litchi chinensis*), as ingredients for the production of innovative, functional chocolate was evaluated. The consumption of this exotic fruit is not yet largely present in Croatia, thus the aim of this study was to characterize physico-chemical, bioactive and sensory properties of fresh and dried longan and lychee fruits and implement those ingredients in the production of chocolate pralines. For the purpose of characterization of bioactive properties, the contents of total polyphenols, flavonoids, flavan-3-ols, procyanidins and antioxidant capacity by ABTS and DPPH methods were determined spectrophotometrically and the sensory properties evaluated using quantitative descriptive analysis. The obtained results revealed that drying of fresh longan and lychee samples at 60°C in order to produce appropriate functional ingredients for implementation into food products did not affect markedly their bioactive compounds and antioxidant capacity. Comparison of two plant species revealed that longan exhibits higher polyphenolic compounds than lychee, but lychee contains higher content of flavan-3-ol and procyanidins. Implementation of longan and lychee samples in the production of chocolate pralines, did not enable a significant enrichment of bioactive compounds of produced chocolates, however it enabled to produce sensory attractive and acceptable products, especially in case of using fresh lychee.

**Keywords:** antioxidant capacity, functional chocolate, longan, lychee, polyphenolic compounds

**Thesis contains:** 39 pages, 11 figures, 2 tables, 29 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Prof. Draženka Komes, PhD

**Technical support and assistance:** Assist. Prof. Ana Belščak-Cvitanović, PhD

**Thesis delivered:** July, 2016.

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
1.1 ČOKOLADA I FUNKCIONALNI ČOKOLADNI PROIZVODI.....	2
1.1.1 FUNKCIONALNE ČOKOLADE.....	2
1.2 PRIMJENA VOĆA KAO FUNKCIONALNIH DODATAKA U PROIZVODNJI ČOKOLADA.....	3
1.2.1 LONGAN (DIMOCARPUS LONGAN).....	4
1.2.2 LYCHEE (LITCHI CHINENSIS).....	6
<b>2 EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>8</b>
2.1 MATERIJALI.....	8
2.1.1 PRIPREMA EKSTRAKATA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	8
2.1.2 PRIPREMA UZORAKA PRALINA I NJIHOVIH EKSTRAKATA.....	8
2.2 METODE .....	9
2.2.1 ODREĐIVANJE SUHE TVARI STANDARDNOM METODOM SUŠENJA.....	9
2.2.2 ODREĐIVANJE UDJELA UKUPNIH POLIFENOLA FOLIN – CIOCALTEAU METODOM.....	10
2.2.3 ODREĐIVANJE UKUPNIH FLAVONOIDA.....	11
2.2.4 ODREĐIVANJE UDJELA FLAVAN-3-OLA – REAKCIJA S VANILINOM (VANILIN INDEKS).....	12
2.2.5 KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE UKUPNIH PROCIJANIDINA METODOM PO BATE-SMITHU.....	13
2.2.6 ABTS METODA ZA ODREĐIVANJE ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI.....	14
2.2.7 DPPH METODA ZA ODREĐIVANJE ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI.....	16
2.2.8 SENZORSKA ANALIZA LONGANA I LYCHEE-JA TE PROIZVEDENIH ČOKOLADNIH PRALINA.....	17
<b>3 REZULTATI</b> .....	<b>18</b>
3.1 FIZIKALNO-KEMIJSKA I BIOAKTIVNA SVOJSTVA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	19
3.1.1 FIZIKALNO KEMIJSKE KARAKTERISTIKE UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	19
3.1.2 BIOAKTIVNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	20
3.1.3 SENZORSKA SVOJSTVA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	22
3.2 BIOAKTIVNI SASTAV ČOKOLADNIH PRALINA SA SVJEŽIM I SUŠENIM LONGANOM I LYCHEE-JEM .....	23
3.3 SENZORSKA SVOJSTVA PRALINA SA SVJEŽIM I SUŠENIM LONGANOM I LYCHEE-JEM.....	24
<b>4 RASPRAVA</b> .....	<b>26</b>
4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA .....	26
4.2 BIOAKTIVNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA .....	27
4.3 SENZORSKA ANALIZA SVJEŽIH I SUHIH UZORAKA LONGANA I LYCHEE-JA.....	28
4.4 BIOAKTIVNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKA SVOJSTVA ČOKOLADNIH PRALINA SA SVJEŽIM I SUHIM LONGANOM I LYCHEE-JEM .....	28
4.5 SENZORSKA ANALIZA ČOKOLADNIH PRALINA SA SVJEŽIM I SUHIM LONGANOM I LYCHEE-JEM .....	30
<b>5 ZAKLJUČCI</b> .....	<b>31</b>
<b>6 LITERATURA</b> .....	<b>32</b>

# 1. UVOD

Zbog porasta svijesti potrošača o utjecaju prehrambenih proizvoda na zdravlje, u posljednje se vrijeme sve više pažnje posvećuje ispitivanju bioaktivnih sastojaka različitih biljnih sirovina te mogućnosti njihove upotrebe za obogaćivanje i proizvodnju funkcionalnih prehrambenih proizvoda. Rezultati novijih znanstvenih istraživanja pobudili su velik interes znanstvenika za ispitivanjem utjecaja obogaćivanja prehrambenih proizvoda, posebice čokolada različitim visokovrijednim sastojcima i sirovinama kao što su zeleni čaj, ljekovite biljne vrste, sušeno voće i mnogi drugi (Belščak-Cvitanović i sur., 2012, 2015; Komes i sur., 2013). Čokolada je visokovrijedna namirnica koja osim osnovnih hranjivih sastojaka sadrži i niz bioaktivnih sastojaka, za koje je dokazan pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Međutim, zbog velikog izbora različitih čokoladnih proizvoda na tržištu te sve većih zahtjeva potrošača za proizvodima sa smanjenim udjelom šećera ili bez šećera, sve se više pažnje posvećuje proizvodnji čokolada s prirodnim sladilima kao zamjenama za saharozu a koje uz sladak okus, djeluju i kao izvori funkcionalnih, bioaktivnih sastojaka (Belščak-Cvitanović i sur., 2015).

U ovom radu ispitana je mogućnost primjene longana (*Dimocarpus longan*) i lychee-ja (*Litchi chinensis*), kao sirovina za proizvodnju inovativnih, funkcionalnih čokolada. Budući da se radi o egzotičnom voću čija konzumacija još nije u većoj mjeri prisutna u Hrvatskoj, cilj ovoga rada bio je karakterizirati bioaktivna svojstva, odn. udjel polifenolnih spojeva, antioksidacijski kapacitet i senzorska svojstva svježeg i suhog longana i lychee-ja te tako dobivene sastojke implementirati u proizvodnju čokoladnih pralina. S obzirom da su dominantni polifenolni spojevi longana i lychee-ja flavan-3-oli i procijanidini, a ove biljne vrste imaju i atraktivne senzorske karakteristike, u ekstraktima svježih i suhих uzoraka određen je udjel flavan-3-ola reakcijom s vanilinom, procijanidina metodom po Bate-Smithu, dok je za karakterizaciju senzorskih svojstava primijenjena tehnika kvantitativne deskriptivne analize.

Nakon utvrđivanja sušenih uzoraka najboljih bioaktivnih i senzorskih svojstava, uzorci longana i lychee-ja (svježi ili suhi) korišteni su u proizvodnji čokoladnih pralina, te su pralinama nakon proizvodnje ponovno određeni isti bioaktivni i senzorski parametri (udjel ukupnih polifenola, flavan-3-ola, procijanidina, antioksidacijski kapacitet, senzorska svojstva), kako bi se utvrdio učinak obogaćenja čistih, kontronih pralina bioaktivnim sastojcima longana i lychee-ja.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **1.1 Čokolada i funkcionalni čokoladni proizvodi**

Prema statističkim podacima iz 2006. godine, godišnja potrošnja čokolade u centralnoj Europi iznosila je oko 10 kilograma po stanovniku. Taj podatak nije se značajno mijenjao u posljednjih 10 godina, ali je zabilježen kontinuirani porast zainteresiranosti potrošača za tamnu čokoladu i druge čokoladne proizvode koji ne uključuju mliječne dijelove, a sadrže visok udio kakaovih dijelova. U 2006. godini, udjel tamne čokolade na njemačkom tržištu konditorskih proizvoda iznosio je oko 15%, a u samo godinu dana, od 2006. godine do 2007. godine, zainteresiranost za tamnu čokoladu se povećala na 23%. Naime, promjene na tržištu konditorskih proizvoda obilježene su zahtjevima potrošača koji uključuju specifična senzorska svojstva, praktičnost te pozitivne zdravstvene učinke proizvoda. Osim toga, velika je pažnja posvećena rješavanju etičkih i ekoloških problema prilikom proizvodnje. Zbog navedenih zahtjeva, raste proizvodnja premium čokolada, uključujući organske te Fairtrade čokolade. Također je povećana potražnja za čokoladama smanjenog udjela šećera, kao i za tamnom čokoladom te proizvodima visokog udjela kakaovih dijelova.

Popularnost čokolade, osim jedinstvenih senzorskih svojstava pripisuje se osjećaju zadovoljstva i drugih emocionalnih promjena prilikom konzumiranja tog proizvoda. Literaturni podaci navode da se čokolada povezuje s osjećajem sreće te djeluje kao stimulans, relaksira i može djelovati kao antidepresiv. Konzumacija mliječne čokolade koja sadrži manji udio kakaovih dijelova utječe na negativno raspoloženje kod ljudi, ali je još veći utjecaj na raspoloženje postignut konzumacijom čokolada koje sadrže 85% ili 99% kakaovih dijelova. Razlozi za ovakav utjecaj čokolade na psihološko stanje pripisuju se kompleksnom bioaktivnom sastavu čokolade, posebice prisutnosti psihoaktivnih sastojaka kakaovca kao što su metilksantini, biogeni amini (tiramin i feniletilamin), N-aciletanolamini te neuropeptidi (galanin i neuropeptid Y) (Thamke i sur., 2008; Hurst i sur., 1982; Sabelli i Javaid, 1995)

#### ***1.1.1 Funkcionalne čokolade***

Iako čokolada u svom sastavu sadrži visok udjel prirodno prisutnih polifenolnih antioksidansa, razvijen je interes za dodatnim obogaćivanjem različitim dodacima. Potražnja za takvim funkcionalnim čokoladama sve više raste što rezultira sve većim tržištem takvih proizvoda. Postoje neograničene mogućnosti prilikom osmišljavanja novih funkcionalnih čokolada, ali je u zadnje vrijeme najviše zastupljen trend proizvodnje funkcionalnih čokolada sa senzorskim svojstvima jednakim konvencionalnim čokoladama. Razvoj takvih čokoladnih

proizvoda predstavlja velik izazov, budući da se često radi o proizvodima sa smanjenim udjelom šećera i masti. Zbog sve većeg interesa potrošača i potražnje za zdravom hranom, konditorska industrija sve češće u proizvodnji kakaovih proizvoda primjenjuje alternativna, posebice prirodna sladila kako bi se proizveli proizvodi sa smanjenim udjelom šećera ili bez šećera. Najčešće su takvi proizvodi namijenjeni prvenstveno potrošačima sa specifičnim prehrambenim zahtjevima, kao što su čokolade za dijabetičare koje ne sadrže saharozu. No, takve proizvode konzumiraju uglavnom potrošači sa zdravstvenim poteškoćama. Naime, čokolade bez šećera imaju jednaku slatkoću kao i čokoladni proizvodi sa saharozom, ali proizvodi bez ili sa smanjenim udjelom saharoze često pokazuju puno lošija senzorska svojstva čime se ograničava njihova šira upotreba. Prije su se za proizvodnju čokolada bez saharoze koristili šećerni alkoholi izomalt, maltitol, ksilitol, laktitol, sorbitol i manitol, no, zbog niže slatkoće šećernih alkohola od saharoze, počela su se koristiti intenzivna sladila. U tu svrhu se koriste aspartam, acesulfam K, sukraloza i steviozidi. Karakteristika takvih intenzivnih sladila je vrlo mala energetska (kalorijska) vrijednost, ali njihova upotreba utječe na pojavu nepoželjnog naknadnog okusa poput gorčine. Prirodne alternative za šećer koje još uvijek nisu šire industrijski rasprostranjene unatoč činjenici da sadrže različite bioaktivne sastojke poput polifenolnih spojeva, mogu služiti kao izvrsni funkcionalni sastojci u proizvodnji čokolada. Neka od takvih prirodnih sladila koja se koriste kao alternative za saharozu su biljni sirupi i sokovi, med, stevia (*Stevia rebaudiana*) i sladić (*Glycyrrhiza glabra*), ali i sokovi i koncentрати voća (Belščak-Cvitanović i sur., 2013).

S obzirom na vrstu funkcionalnog sastojka (dodataka), među funkcionalnim čokoladama također su zastupljene čokolade s povećanim udjelom žitarica i vlakana, ili komadića orašastih plodova i minimalno procesiranog voća. Aktivni, funkcionalni sastojci koji se dodaju čokoladnim proizvodima također su i chia sjemenke, ekstrakt zelenog čaja, ekstrakt zelene kave, fitosteroli i probiotici. Također, sportaši zahtijevaju funkcionalne čokolade koje utječu na povećanje energije, te se u tu svrhu čokoladama dodaju ekstrakt guarane, kafein i B-vitamini (Culliney i sur., 2012; Nierburg i sur., 2013).

## **1.2 Primjena voća kao funkcionalnih dodataka u proizvodnji čokolada**

Na tržištu konditorskih, čokoladnih proizvoda, već su prisutne čokolade s punjenjem ili dodatkom voća ili voćnih prerađevina, najčešće koncentrata ili džemova. Voće se smatra namirnicama koje sadrže visok udio prirodnih antioksidansa, zahvaljujući kojima ima pozitivan učinak na organizam. U istraživanju Komes i sur. (2013), korišteno je 5 različitih vrsta sušenog voća (šljive, papaja, marelice, grožđice, brusnice) u proizvodnji mliječne i



tamne čokolade te je određivan bioaktivni sastav i antioksidacijski kapacitet uzoraka i njihove senzorske karakteristike. Prema dobivenim rezultatima, u čokoladama koje su bile punjene sušenim brusnicama i grožđicama, postignuto je značajno povećanje udjela ukupnih polifenola u čokoladama u odnosu na čiste čokolade bez dodataka. Time je dokazano kako je sušeno voće bogat izvor polifenolnih antioksidanasa te čokolade punjene sušenim brusnicama i grožđicama doprinose povećanoj antioksidacijskoj aktivnosti kao i povećanom udjelu polifenola (Komes i sur., 2013). Osim voća prisutnog na našem geografskom području, zanimljiva je primjena tropskog voća koje još uvijek nema dovoljno karakteriziran sastav i funkcionalna svojstva te posljedično nema ni širu primjenu u industrijskoj proizvodnji. U tu svrhu, zbog povoljnog sastava šećera i aromatičnih sastojaka, moguća je primjena egzotičnih vrsta voća kao što su longan (*Dimocarpus longan*) i lychee (*Litchi chinensis*).

### **1.2.1 Longan (*Dimocarpus longan*)**

Longan je voće koje potječe sa Sjevernog Tajlanda i široko je rasprostranjeno u subtropskom pojasu, a konzumira se u svježem, suhom i kandiranom obliku te ima značajnu ekonomsku i komercijalnu važnost. Cijenjen je na međunarodnom tržištu što rezultira sve većim uzgojem posljednjih nekoliko godina, a time i značajnijim doprinosom lokalnom ekonomskom razvoju geografskih dijelova svijeta u kojima uspijeva (Sudjaroen i sur., 2011).



**Slika 1.** Izgled ploda longana (Anonymous 1,

<http://www.samuiholiday.com/archives/samuiwininganddining-aug2013/tropicalpick.html>)

Plod longana sastoji se od tankog kožastog perikarpa koji okružuje jestivu bijelu pulpu, unutar koje se nalazi velika, tamno smeđa sjemenka. Longan se na tržištu može naći u svježem

obliku, ali se plod također i prerađuje te se mogu naći polusuhi proizvod. Perikarp i sjemenke longana kao nusproizvodi čine 16-40% ukupne mase cijelog voća te se potencijalno mogu koristiti kao lako dostupni izvori prirodnih antioksidansa i mogući farmaceutski dodaci (Yang i sur., 2010).

### **Kemijski sastav ploda longana**

Kemijski sastav ploda longana čine ugljikohidrati, proteini, vlakna, masti, vitamin C, aminokiseline i minerali. U tradicionalnoj medicini pulpa ploda se koristila kod želučanih tegoba, kao sredstvo protiv groznice te kao protuotrov kod ugriza zmija. Sušeni plod longana se koristi kao tonik i u tretmanima nesаницe ili neuroze. Različiti kultivari longana pokazuju različit nutritivni sastav. Do sada je identificirano 16 kultivara longana, a kultivar „Zhuliang“ karakterističan je po najvećoj masi pojedinačnog ploda (10,3 g) te najvećem udjelu jestivog dijela ploda (65,9%). Koncentracija ukupnih šećera u longanu povećava se tijekom sazrijevanja tako da ukupni najveći udio šećera varira sa stupnjem zrelosti, a ovisi i o kultivaru. Najzastupljeniji šećeri su saharoza, fruktoza i glukoza (Sudjaroen i sur., 2011; Yang i sur., 2010).

Plod longana sadrži malatnu i vinsku kiselinu, a identificirane su i ostale organske kiseline poput oksalne, limunske i jantarne. Plod također sadrži značajne količine aminokiselina, pogotovo  $\gamma$ -aminomaslačne kiseline. Udio  $\gamma$ -aminomaslačne kiseline u plodu longana se kreće između 51 i 180 mg/100 g uzorka. Također je identificirano oko 28 velikih hlapljivih, aromatičnih komponenta iz svježeg ploda longana. Dominantne hlapljive komponente uključuju etil acetat, 3,4-dimetil-2,4,6-oktatrien,  $\beta$ -ocimen i 1-etil-6-etiliden-cikloheksan (Sudjaroen i sur., 2011; Yang i sur., 2010).

### **Bioaktivni sastav ploda longana**

Plod longana sadrži značajne količine polifenolnih spojeva (80 do 90 g/kg suhe tvari), zahvaljujući kojima mu je dokazana antioksidativna, anti-tirozinazna i antikancerogena aktivnost. Polifenolni sastojci izolirani iz dijelova ploda longana uključuju galnu kiselinu, korilagin, elaginsku kiselinu, flavon glikozide, glikozide kvercetina i kamferol iz perikarpa, dok su u sjemenci longana identificirani etil galat-1- $\beta$ -O-galoil-D-glukopiranoza, galna kiselina, korilagin i elaginska kiselina. Prilikom ekstrakcije bioaktivnih spojeva longana, do sad su kao otapala korišteni heksan te metanol. Zahvaljujući visokom udjelu polifenola, znanstvena istraživanja pokazala su kako ekstrakti longana bogati polifenolima mogu snažno inhibirati oksidaciju linolne kiseline te pokazuju snažnu aktivnost protiv DPPH radikala,

superoksid aniona i hidroksil radikala. Znanstvenim istraživanjima do sada su identificirana i druga terapijska svojstva longana. Vodeni ekstrakt utječe na poboljšanje učenja i pamćenja, a njegovi korisni učinci utječu na opstanak nezrelih neurona (Sudjaroen i sur., 2011; Yang i sur., 2010).

Od ostalih bioaktivnih sastojaka plod longana sadrži lizofosfatidil kolin, fosfatidil kolin, fosfatidil inozitol, fosfatidil serin, fosfatidil etanolamin, fosfatidat i fosfatidnu kiselinu glicerola. Takvi fosfolipidi mogu biti metabolizirani u raznim membranama lipidno vezanih enzima i mogu poboljšati imunološki sustav čovjeka. Također, perikarp longana sadrži značajne količine polisaharida. Polisaharidi su najčešće sastavljeni od L-arabinofuranoze (32,8%), D-glukopiranoze (17,6%), D-galaktopiranoze (33,7%) i D-galakturonske kiseline (15,9%). Ranija istraživanja predstavljala su brojne pozitivne karakteristike pulpe longana koja je povezana sa njegovim polisaharidima koji služe kao bioaktivni sastojci. Posebna pažnja je posvećena biološkim, kemijskim i fizikalnim karakteristikama i korisnim primjenama u razvoju terapijskih lijekova u modernoj medicini. Potvrđena je imunološko modulatorna aktivnost vodenog ekstrakta pulpe poput povećanje makrofaga fagocitoze, stimuliranja proliferacije splenocita i proizvodnje antitijela (Yang i sur., 2010; Zhong i sur., 2010).

### **1.2.2 *Lychee (Litchi chinensis)***

Lychee je subtropsko voće, visoke komercijalne vrijednosti. Rasprostranjen je u afričkim i azijskim zemljama, posebice Kini. Ova biljna vrsta uzgaja se na malim plantažama ili pojedinačno kao zasebna stabla, a zbog ugodnog okusa i velike potražnje njegova cijena je vrlo visoka. Biljka doseže 10 do 12 metara visine, a treba 6 do 10 godina kako bi dala prvi urod. Budući da je tek nedavno započeta intenzivnija kultivacija u voćnjacima, na tržište se uvode nove vrste i varijeteti lychee-ja (Clerici i sur., 2011).

Vanjski dio ploda lychee-ja je gruba kora, ružičaste boje, a unutar kore se nalazi jestivi dio, pulpa bijele boje, slatkog okusa i visokog udjela vode. U središtu ploda nalazi se smeđa sjemenka te je plod lychee-ja izgledom sličan longanu.

Plod lychee-ja koristi se za pripremu čajeva, u proizvodnji napitaka i prehrambenih proizvoda. Na tržištu se može naći u svježem, kandiranom i sušenom obliku. Osim toga, može se prerađivati u sokove, vina, džemove, kiseliti, a od lychee-ja se rade i sladoledi te jogurti. Nedavno je kultivacija lychee-ja proširena i na Brazil, međutim njegova kultivacija zahtijeva provođenje dodatnih istraživanja u svrhu procjene prehrambene vrijednosti ploda, s obzirom da na njegovu nutritivnu vrijednost izrazito utječu razni čimbenici poput vremena žetve,

klimatskih uvjeta, vrste i plodnosti tla. Diljem svijeta proizvode se različiti kultivari lychee-ja; - kultivar 'Mauritius' se nalazi u Južnoj Americi, zatim 'Groff' u SAD-u i Kini, a kultivar 'Bengal' u Brazilu. Nutritivne vrijednosti lychee-ja se rijetko spominju u literaturi, posebice udjeli vitamina i minerala (Cabral i sur., 2014).



**Slika 2.** Izgled ploda lychee-ja (Anonymous 2, <https://vespertunes.wordpress.com/2015/11/07/lychee-fruit-nutrition-facts/>)

Osnovne operacije prerade ploda lychee-ja na manjim obiteljskim farmama rezultiraju proizvodima smanjene tehnološke i mikrobiološke kvalitete. Stoga ulaganja u tehnološko prilagođavanje trenutnih socijalnih i ekonomskih uvjeta i poljoprivrednih razvojnih programa, omogućuju nove tehnologije koje bi trebale dovesti do prednosti u povećanju mogućnosti prerade i manipulacije ovog voća (Clerici i sur., 2011).

### **Kemijski i bioaktivni sastav ploda lychee-ja**

Lychee je izvor nutrijenata za potrošače u regijama u kojima se ovo voće uzgaja te se u tim dijelovima svijeta svakodnevno konzumira. Za identifikaciju antioksidacijskog djelovanja ovog voća proveden je velik broj znanstvenih istraživanja, te je dokazan pozitivan utjecaj na smanjenje težine, bolesti srca, dijabetes i hipertenziju (Clerici i sur., 2011). U literaturnim podacima navedeno je kako je lychee izvor polifenola i procijanidina. Sastav polifenola čine monomeri flavanola te dimeri proantocijanidina, a njihov udjel iznosi manje od 10%. Od crvenih pigmenata antocijana, u lychee-u su identificirani cijanidin-3-rutinozid, cijanidin-3-glukozid i malvidin-3-acetilglukozid (Clerici i sur., 2011; Kalgaonkar i sur., 2010; Jiang, 2000).

## **2 EKSPERIMENTALNI DIO**

### **2.1 Materijali**

U ovom radu korišteni su uzorci polu-suhog longana porijeklom iz Kine (3 različite lokacije i proizvođača) te uzorci svježeg lychee-ja kupljeni na obližnjoj tržnici. Uzorci polusuhog longana te svježeg lychee-ja očišćeni su od ljuske te im je uklonjena sjemenka, a pulpa je usitnjena na manje komadiće, nakon čega su sušeni u sušnici s vrućim zrakom (Tehtnica Železniki, Slovenija) na 60°C do postizanja odgovarajućeg udjela vode odnosno suhe tvari. Tako pripremljeni osušeni uzorci usitnjeni su do praha primjenom mlinca za usitnjavanje u domaćinstvu (Braun, Njemačka) te su korišteni za pripremu ekstrakata za karakterizaciju sastava te u proizvodnji čokoladnih pralina.

#### ***2.1.1 Priprema ekstrakata uzoraka longana i lychee-ja***

Za pripremu ekstrakata izvagano je 5 g svakog uzorka (svježeg, polusuhog ili suhog) te je dodano 50 mL 70%-tnog etanola. Uzorci su ekstrahirani 3 h miješanjem na magnetskoj miješalici te su potom profiltrirani preko četiri sloja pamučne gaze. Nakon filtracije, uzorcima je uklonjena etanolna faza primjenom rotacijskog uparivača te su uzorci nadopunjeni do poznatog volumena (10 mL). Svakom pripremljenom ekstraktu određena su fizikalno-kemijska (udjel vode, pH ekstrakta primjenom pH metra (Mettler Toledo, Švicarska) te boja primjenom kolorimetra (Konica Minolta, Sensing, CMe700d, CMeA177, Japan)) i bioaktivna svojstva (udjel ukupnih polifenola, flavonoida, flavan-3-ola, procijanidina te antioksidacijska svojstva DPPH i ABTS metodama). Na temelju dobivenih rezultata te senzorskih karakteristika uzoraka, uzorci s najvećim udjelom polifenola te najboljim senzorskim svojstvima korišteni su u izradi čokoladnih pralina.

#### ***2.1.2 Priprema uzoraka pralina i njihovih ekstrakata***

Čokoladne praline s dodatkom longana i lychee-ja kao funkcionalnim dodacima pripremljene su u laboratorijskim uvjetima. Za proizvodnju pralina korištena je čokoladna masa s 38% kakaovih dijelova, te su praline pripremljene otapanjem čokolade, formiranjem plašta u silikonskim kalupima, točnim doziranjem jednake količine punjenja u svaku zasebnu pralinu (1,5 g) te prelijevanjem završnog sloja čokoladne mase na dno praline. Nakon

formiranja pralina, iste su hladene u hladnjaku na 4°C kroz 1-2 h te su izvađene iz kalupa i skladištene na odgovarajućim uvjetima (temperatura 10-20°C).

Za potrebe karakterizacije bioaktivnog sastava pralina, svi uzorci pralina usitnjeni su te odmašćeni kako bi se uklonio kakaov maslac primjenom postupka odmašćivanja prema Adamsonu i sur (1999), sekvencijalnom ekstrakcijom s *n*-heksanom.

Odmašćeni uzorci pralina ekstrahirani su na isti način kao i uzorci longana i lychee-ja, odnosno 5 g svakog uzorka ekstrahirano je s 50 mL 70%-tnog etanola tijekom 3 sata na magnetskoj mješalici. Uzorci su nakon toga ponovno koncentrirani uparavanjem te standardizirani na 10 mL konačnog ekstrakta.

## 2.2 Metode

### 2.2.1 *Određivanje suhe tvari standardnom metodom sušenja*

#### Princip metode:

Ukupnu suhu tvar čini cjelokupna količina tvari iz sastava proizvoda koji ne isparava pod definiranim uvjetima. Nakon sušenja uzorka na temperaturi od 105°C do konstantne mase, određuje se ostatak standardnom metodom sušenja.

#### Aparatura i pribor:

- 1) Analitička vaga, Mettler-Toledo (Švicarska)
- 2) Aluminijska posuda (promjera oko 5 cm i visine 3 cm)
- 3) Laboratorijski sušionik (Tehtnica Železniki, Slovenija)
- 4) Eksikator sa sredstvom za sušenje
- 5) Stakleni štapić

#### Postupak rada:

U osušene i izvagane metalne posudice s poklopcem stavi se kvarcni pijesak u količini dovoljnoj da prekrije dno posudica i stakleni štapić. Posudice se suše sat vremena u sušioniku na 105°C. Nakon sušenja od trenutka kada je postignuta ta temperatura, posudice se izvade iz sušionika i hlade oko pola sata u eksikatoru, a zatim važu s točnošću  $\pm 0,0002$ .

U ohlađene i izvagane Al-posudice zajedno s kvarcnim pijeskom i staklenim štapićem, odvagane se uzorak ( $\pm 0,0001$ ).

Sušenje uzorka traje 4 sata pri 105°C u zračnoj sušnici s automatskim temperaturnim regulatorom. Posudice moraju biti otvorene. Kada je sušenje završeno, posudice se zatvore u

sušioniku i prenesu u eksikator gdje se hlade na sobnoj temperaturi. Nakon toga posudice se važu na analitičkoj vagi.

Udjel vode u uzorcima izračuna se iz gubitka mase prema formuli:

$$\% \text{ vode} = (a-b) \cdot 100 / m$$

$$\% \text{ suhe tvari} = 100 - \% \text{ vode}$$

gdje su:

a – masa posudice s uzorkom prije sušenja (g)

b – masa posudice s uzorkom poslije sušenja (g)

m – masa uzorka (g)

### **2.2.2 Određivanje udjela ukupnih polifenola Folin – Ciocalteau metodom**

#### **Princip metode:**

Određivanje udjela ukupnih polifenola temelji se na kolorimetrijskoj reakciji fenola i Folin-Ciocalteau reagensa. Folin-Ciocalteau reagens je smjesa fosfovolframove i fosfomolibdene kiseline, koji reagira s fenoksid ionom iz uzorka, prilikom čega se fenoksid-ion oksidira, a Folin-Ciocalteau reagens reducira do plavo obojenog volframovog i molibdenog oksida (Singleton, Rossi, 1965; Singleton i sur., 1999a; Singleton i sur., 1999b). Intenzitet plavog obojenja je bio određen spektrofotometrijski na 765 nm nakon što su svi fenolni spojevi izreagirali s Folin-Ciocalteau reagensom. Očitavanje apsorbancije proporcionalno je intenzitetu proizašle plave boje i koncentraciji antioksidansa.

#### **Reagensi:**

- 1) Folin-Ciocalteau reagens (razrijeđen vodom u omjeru 1:2), Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 2) 20%-tna otopina natrijeva karbonata (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), Kemika (Zagreb, Hrvatska)

#### **Aparatura i pribor:**

- 1) Odmjerne tikvice volumena 50 mL
- 2) Mikropipeta volumena 100-1000 µL
- 3) Pipete volumena 5 mL i 10 mL
- 4) Kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 5) Spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### **Postupak rada:**

U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetira se 0,5 mL uzorka, 30 mL destilirane vode te 2,5 mL Folin-Ciocalteu reagensa, promiješa i doda 7,5 mL 20%-tne otopine natrijeva karbonata (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Sadržaj tikvice se zatim dobro promiješa i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Tako pripremljeni uzorci ostave se stajati 2 sata na sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija razvijenog plavog obojenja na 765 nm, u odnosu na slijepu probu. Slijepa proba priprema se na isti način kao i uzorci koji se ispituju, ali umjesto 0,5 mL uzorka sadrži isti volumen destilirane vode. Svaki uzorak pripremljen je u dvije paralelne probe (n=2), a rezultat je izražen kao srednja vrijednost dobivenih rezultata. Na osnovu baždarnog pravca, rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata galne kiseline (GAE)/g suhe stvari.

$$y = 0,0010x - 0,0001$$

gdje su:

x – koncentracija otopine galne kiseline (mg/g suhe stvari)

y – izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 765 nm

### **2.2.3 *Određivanje ukupnih flavonoida***

#### **Princip metode:**

Za taloženje flavonoidnih spojeva primjenjuje se formaldehid koji reagira s C-6 ili C-8 na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojem također na C-6 ili C-8 položaju. Kondenzirane molekule nastale ovom reakcijom uklone se filtriranjem, a ostatak neflavonoidnih fenola određuje se prema metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988).

#### **Reagensi:**

- 1) kloridna kiselina (razrijeđena vodom u omjeru 1:4), Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 2) formaldehid, Alkaloid, AD (Skopje, Makedonija)
- 3) Folin-Ciocalteu reagens (razrijeđen vodom u omjeru = 1 dio Folin-Ciocalteu reagensa : 2 dijela vode), Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 4) 20%-tna otopina natrijeva karbonata (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), Kemika (Zagreb, Hrvatska)



### **Aparatura i pribor:**

- 1) odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 50 mL
- 2) mikropipeta, volumena (100-1000 $\mu$ L)
- 3) pipete, volumena 5 mL i 10 mL
- 4) kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 5) spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### **Postupak rada:**

U tikvice od 25 mL otpipetira se 10 mL uzorka, 5 ml otopine kloridne kiseline (1:4) i 5 mL formaldehida te se otopina propuše plinovitim dušikom i ostavi stajati 24 sata na mračnom i hladnom mjestu, nakon čega se u tako pripremljenoj otopini odredi udjel ukupnih neflavonoida, i to prema prethodno opisanom postupku određivanja ukupnih fenola s Folin-Ciocalteu reagensom.

Udjel neflavonoida izračunava se prema istoj formuli kao i udjel ukupnih fenola, na osnovi srednje vrijednosti triju paralelnih proba. Rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata galne kiseline (GAE)/g suhe tvari uzorka.

Udjel ukupnih flavonoida izračunava se kao razlika udjela prethodno određenih ukupnih fenola i neflavonoida prema formuli:

$$\text{ukupni flavonoidi} = \text{ukupni fenoli} - \text{ukupni neflavonoidi}$$

### **2.2.4 Određivanje udjela flavan-3-ola – reakcija s vanilinom (vanilin indeks)**

#### **Princip metode:**

Metoda se temelji na reakciji vanilina (*p*-hidroksibenzaldehida) s hidroksilnim skupinama na položajima C6 i C8 u molekulama flavan-3-ola, pri čemu nastaje crveno obojeni kompleks. Intenzitet crvenog obojenja, koji se određuje spektrofotometrijski, mjerenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 500 nm, direktno je proporcionalan koncentraciji flavan-3-olnih monomera (katehina) i polimera (proantocijanidina) (Price i sur., 1978).

#### **Reagensi:**

- 1) Vanilin, GmbH (Steinheim, Njemačka)
- 2) Metanol, S. T. Baker (Doventer, Njemačka)
- 3) Koncentrirana klorovodična kiselina, Kemika (Zagreb, Hrvatska)

### **Aparatura i pribor:**

- 1) Epruvete
- 2) Mikropipeta, volumena (100-1000 $\mu$ L)
- 3) Pipeta, volumena 5 mL
- 4) Kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 5) Spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### **Postupak rada:**

Pripremi se 4%-tna otopina vanilina u metanolu. U tamnu epruvetu doda se 0,5 mL uzorka i 3 mL prethodno pripremljene otopine vanilina. Nakon 5 minuta doda se 1,5 mL koncentrirane klorovodične kiseline, a nakon 15 minuta očita se apsorbancija pri 500 nm (Di Stefano, 1989). Slijepa proba priprema se na isti način, posebno za svaki uzorak, ali se umjesto 4%-tne otopine vanilina dodaje čisti metanol.

Udjel (+)-katehina računa se prema formuli:

$$y = 290,8 \cdot x$$

gdje je:

x - udjel (+)-katehina (mg CE/g suhe tvari uzorka)

y – apsorbancija pri 500 nm

U ovom istraživanju rezultati su izraženi kao mg (+)-katehina/g suhe tvari.

## ***2.2.5 Kvantitativno određivanje ukupnih procijanidina metodom po Bate-Smithu***

### **Princip metode:**

Ova metoda temelji se na kiselinskoj hidrolizi polimernih molekula procijanidina s klorovodičnom kiselinom, pri čemu nastaju jednostavni cijanidini. Reakcija je popraćena nastankom crvenog obojenja čiji se intenzitet mjeri spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 550 nm (Porter, Hrstich i Chan, 1986).

### **Reagensi:**

- 1) *n*-butanol, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 2) Klorovodična kiselina, Kemika (Zagreb, Hrvatska)
- 3) 2%-tna otopina amonij-željezo(III)-sulfat-dodekahidrata ( $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ ) u 2M kloridnoj kiselini, Kemika (Zagreb, Hrvatska)

### Aparatura i pribor:

- 1) Odmjerne tikvice, volumena 10 mL i 100 mL
- 2) Pipete, volumena 5 mL
- 3) Mikropipeta, volumena (100-1000  $\mu$ L)
- 4) Vodena kupelj, (B- 490, Mew Castle, SAD)
- 5) Kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 6) Spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### Postupak rada:

Pripreme se otopine *n*-butanol/HCl (95:5, v/v) i 2%  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12 \text{H}_2\text{O}$  u 2 M HCl. 2 mL razrijeđenog uzorka (razrijeđenog u omjeru 1:10 u 70%-tnom acetonu) otpipetira se u odmjernu tikvicu i doda 4 mL otopine butanol/HCl i 200  $\mu$ L 2%  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12 \text{H}_2\text{O}$  u 2 M HCl. Svaki uzorak pripremljen je u dvije paralele ( $n=2$ ), a rezultat je izražen kao srednja vrijednost dobivenih uzoraka. Suspenzija se dobro izmiješa i zagrijava 45 minuta na 95°C u začepljenim tikvicama. Nakon zagrijavanja, smjesa se ohladi i profiltrira te se očita apsorbancija pri 550 nm. Slijepa proba priprema se po istom postupku, ali umjesto uzorka sadrži metanol/acetone.

Rezultati se izračunaju iz jednadžbe baždarnog pravca:

$$y = 0,00037x + 0,00292$$

gdje su:

x – udjel (+)-katehina (mg CE/g suhe tvari uzorka)

y – izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 550 nm

### **2.2.6 ABTS metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti**

#### Princip metode:

Ova metoda temelji se na „gašenju“ plavo-zelenog radikal-kationa 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) (ABTS radikal-kationa), koji se formira bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a nekoliko sati prije analize. Udjel ABTS radikala koje „gase“ različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilne kiseline (Trolox), analoga vitamina E topljivog u vodi, pri istim uvjetima.

### **Reagensi:**

- 1) Etanol, (96%-tni), Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- 2) 140 mM otopina kalijevog peroksodisulfata ( $K_2S_2O_8$ ), Sigma-Aldrich Chemie G,bH (Steinheim, Njemačka)
- 3) 7 mM otopina 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)diamonijeve soli (ABTS), Sigma-Aldrich Chemie G,bH (Steinheim, Njemačka)
- 4) 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox), Sigma-Aldrich Chemie G,bH (Steinheim, Njemačka)

### **Aparatura i pribor:**

- 1) Odmjerne tikvice, volumena 100 mL
- 2) Pipete, volumena 2 mL
- 3) Mikropipeta, volumena (0-100  $\mu$ L)
- 4) Kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 5) Spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### **Postupak rada:**

Kako bi se odredila antioksidacijska aktivnost uzoraka pripremi se otopina  $ABTS^+$  radikala, oksidacijom 7 mM vodene otopine ABTS reagensa s 140 mM kalijevim peroksodisulfatom, do konačne koncentracije otopine kalijevog peroksodisulfata od 2,45 mM. Budući da ABTS i kalijev peroksodisulfat reagiraju u stehiometrijskom odnosu 1:0,5, neće doći do potpune oksidacije te je stoga potrebno pripremljenu otopinu omotati folijom i ostaviti stajati preko noći na sobnoj temperaturi. Na dan analize otopina se razrijedi etanolom (96%) do konačne koncentracije  $ABTS^+$  radikala od 1%, tako da apsorbancija te otopine iznosi  $0,70 \pm 0,02$ .

Alikvot od 40  $\mu$ L uzorka pomiješa se s 4 mL otopine  $ABTS^+$  radikala u kiveti te se izmjeri apsorbancija na 734 nm nakon točno 6 minute. Slijepa proba mjeri se prije uzorka, a priprema se tako što se dodaje ista količina reagensa i 40  $\mu$ L etanola.

Oduzimanjem apsorbancije uzorka od apsorbancije slijepe probe dobiva se vrijednost  $\Delta A$ , koja se prema baždarnom pravcu preračunava u koncentraciju (mmol Trolox/g suhe tvari):

$$y=0,303x + 0,0006$$

gdje je:

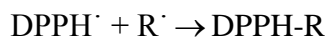
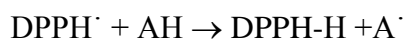
x – koncentracija otopine Trolox (mmol Trolox/g suhe tvari)

y – izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 734 nm

## 2.2.7 DPPH metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti

### Princip metode:

Ova metoda određivanja antioksidativne aktivnosti temelji se na redukciji DPPH radikala (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) u metanolnoj otopini, koja je praćena kolorimetrijskom reakcijom. DPPH radikal radi nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu spektra (515 nm). U prisutnosti elektron donora - AH (antioksidans koji gasi slobodne radikale) dolazi do sparivanja elektronskog para DPPH radikala te do promjene ljubičaste boje otopine u žutu, što se prati mjerenjem apsorbanije u opadanju (Blois, 1958; Brand-Williams, Cuvelier, Berset, 1995).



### Reagensi:

- 1) Metanol, S. T. Baker (Doventer, Njemačka)
- 2) 0,094 mM otopina 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH), Sigma-Aldrich Chemie G,bH (Steinheim, Njemačka)
- 3) 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox), Sigma-Aldrich Chemie G,bH (Steinheim, Njemačka)

### Aparatura i pribor:

- 1) Odmjerne tikvice, volumena (10-100 mL)
- 2) Pipete, volumena (1-10 mL)
- 3) Mikropipete, volumena (100-1000  $\mu\text{L}$ )
- 4) Kivete za spektrofotometrijsko mjerenje
- 6) Spektrofotometar, Genesys 10s UV-Vis, Thermo scientific (SAD)

### Postupak rada:

Pripremi se 0,094 mM otopina 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikala (DPPH) u metanolu. U kivetu se otpipetira 100  $\mu\text{L}$  ispitivanog uzorka i doda 3,9 mL 0,094 mM otopine DPPH. Apsorbancija se mjeri nakon 30 minuta pri 515 nm. U drugu kivetu, koja predstavlja slijepu probu, umjesto uzorka doda se 100  $\mu\text{L}$  metanola te 3,9 mL 0,094 mM otopine DPPH.

Oduzimanjem apsorbancije uzorka od apsorbancije slijepe probe dobiva se vrijednost  $\Delta A$ , koja se prema baždarnom pravcu preračunava u koncentraciju (mmol Trolox/g suhe tvari):

$$y = 0,603x - 0,068$$

gdje su:

x – koncentracija otopine Trolox (mmol Trolox/g suhe tvari)

y - izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 515 nm

### **2.2.8 Senzorska analiza longana i lychee-ja te proizvedenih čokoladnih pralina**

Za senzorsko ocjenjivanje uzoraka svježeg i sušenog longana i lychee-ja te proizvedenih čokoladnih pralina korištena je tehnika kvantitativne deskriptivne analize. Senzorsko ocjenjivanje provedeno je uz pomoć internog panela Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta. Panel je sačinjavalo 15 educiranih članova (9 osoba ženskog i 6 muškog spola, starosti između 20 i 65 godina), koji su prethodno podvrgnuti intenzivnim senzorskim treninzima te imaju iskustva u senzorskom ocjenjivanju srodnih proizvoda. Panelisti su primarno izvježbani tijekom tri treninga, na kojima su raspravljali i upoznavali se sa sličnim uzorcima te sa skalom intenziteta, dok se nije postigao dogovor oko senzorskih atributa koji će biti ocjenjivani te njihove kvantifikacije. Uzevši u obzir prethodna iskustva panelista i preporuke o ocjenjivanju srodnih proizvoda te velik broj znanstvenih radova iste tematike, izabrani su atributi koji su se činili najpogodnijima za senzorsku karakterizaciju uzoraka.

Senzorska analiza provedena je u dva termina, jedan za uzorke voća te drugi za čokolade, tijekom čega su šifrirani uzorci, prezentirani na isti način i servirani u staklenim posudicama uspoređeni međusobno ili sa kontrolnim uzorkom (čista čokolada).

Senzorska svojstva ocjenjivana su pomoću 9-bodovne hedonističke skale, prema kojoj 9 označava izrazito poželjnu kvalitetu a 1 označava defektan proizvod. Za svako svojstvo izračunata je srednja vrijednost postignutih bodova. Između svakog uzorka poslužena je voda (sobne temperature) za ispiranje usta.

### 3 REZULTATI

U ovom radu provedena je usporedba fizikalno-kemijskih, bioaktivnih i senzorskih svojstava svježih i sušenih uzoraka longana i lychee-ja. Uzorci optimalnih karakteristika nakon sušenja, uz svježe uzorke, korišteni su za proizvodnju pralina te je provedena analiza bioaktivnog sastava, kao i senzorska analiza dobivenih proizvoda. U Tablici 1. prikazani su rezultati fizikalno-kemijskih svojstava svježeg i sušenog longana i lychee-ja, odnosno udjel vode i suhe tvari, pH ekstrakata te parametri boje. Na slikama 3., 4. i 5. prikazan je udjel bioaktivnih sastojaka svježih i sušenih uzoraka, i to na slici 3 udjeli ukupni polifenola i flavonoida, na slici 4. udjeli flavan-3-ola i procijanidina, a na slici 5. antioksidacijski kapacitet određen ABTS i DPPH metodama. U Tablici 2. prikazani su rezultati senzorske analize svježih i sušenih uzoraka longana i lychee-ja. Na slikama 6., 7. i 8. prikazani su rezultati istih bioaktivnih sastojaka čokoladnih pralina sa svježim i sušenim longanom i lychee-jem (na slici 6. udjeli ukupnih polifenola i flavonoida, na slici 7. udjeli flavan-3-ola i procijanidina, a na slici 8. antioksidacijski kapacitet određen ABTS i DPPH metodama). Na slikama 9., 10. i 11. prikazani su rezultati senzorske analize za čokoladne praline sa svježim i sušenim longanom i lychee-jem.

### 3.1 Fizikalno-kemijska i bioaktivna svojstva uzoraka longana i lychee-ja

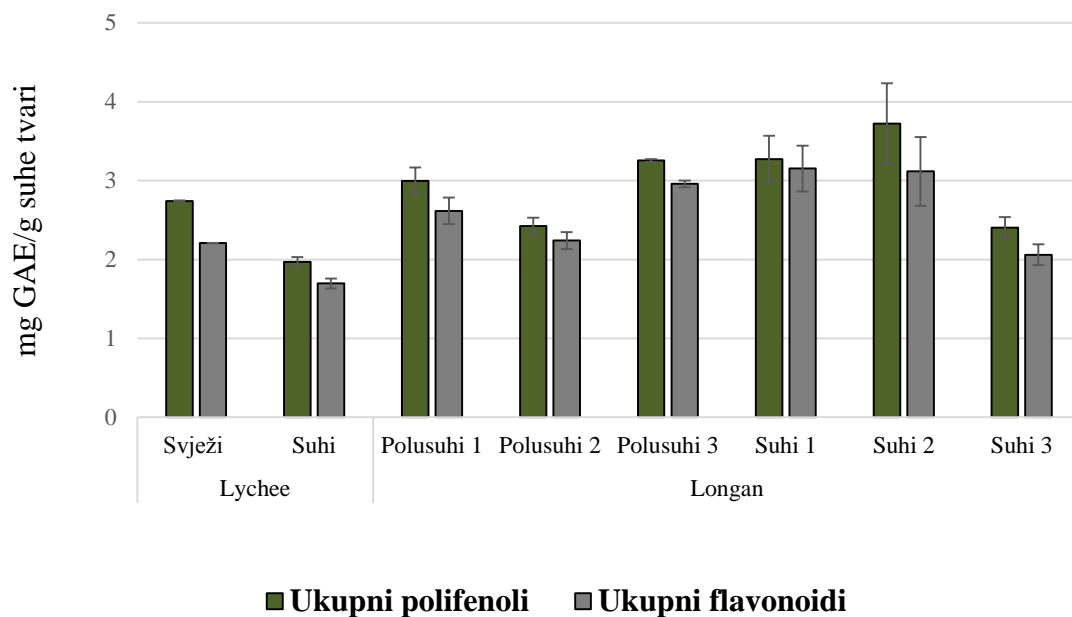
#### 3.1.1 Fizikalno kemijske karakteristike uzoraka longana i lychee-ja

**Tablica 1.** Udjel vode i suhe tvari (%), pH ekstrakata te parametri boje uzoraka longana i lychee-ja

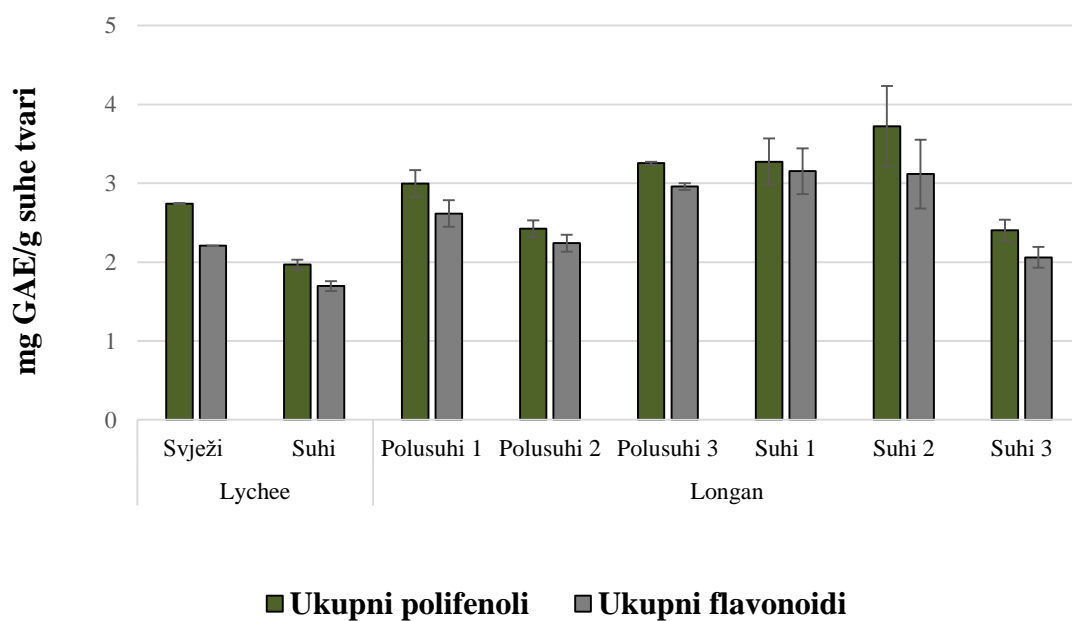
		Udio vode (%)	pH ekstrakta	Parametri boje		
				L*	a*	b*
LYCHEE	Svježi	79,03 ± 0,23	3,86	53,183 ± 3,88	2,23 ± 4,22	7,33 ± 1,47
	Suhi	11,87 ± 0,36	4,37	59,29 ± 0,33	11,66 ± 0,31	22,93 ± 0,28
LONGAN	Polusuhi 1	23,29 ± 0,74	5,86	23,34 ± 0,46	6,93 ± 0,37	9,63 ± 1,10
	Polusuhi 2	25,43 ± 1,62	6,05	21,19 ± 0,98	5,60 ± 0,56	7,32 ± 0,47
	Polusuhi 3	20,09 ± 0,03	6,00	22,90 ± 1,16	7,54 ± 0,45	9,21 ± 1,38
	Suhi 1	13,61 ± 0,00	5,74	29,21 ± 0,96	8,14 ± 0,70	10,65 ± 1,16
	Suhi 2	15,42 ± 0,31	5,85	28,09 ± 3,30	6,53 ± 0,42	8,26 ± 1,22
	Suhi 3	15,14 ± 0,32	5,92	27,07 ± 2,62	9,38 ± 1,21	14,41 ± 3,22



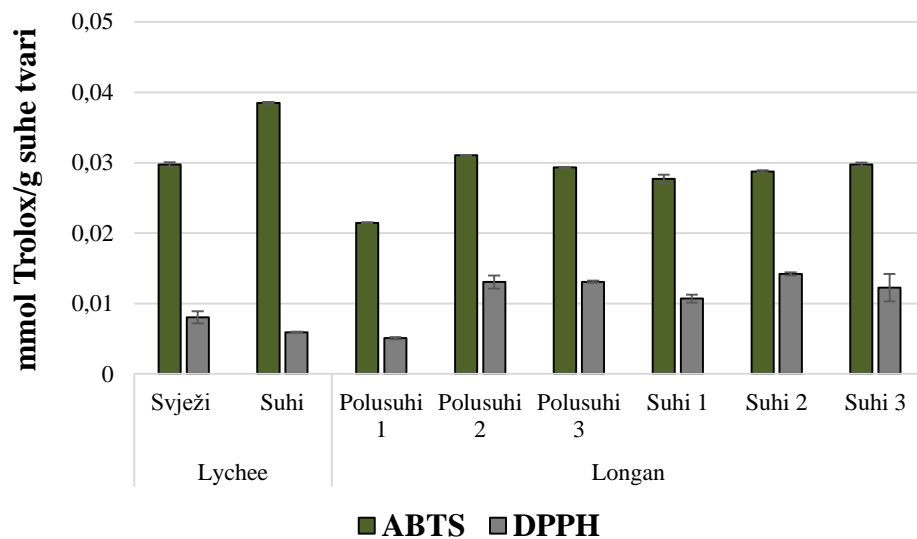
### 3.1.2 Bioaktivni sastav i antioksidacijska svojstva uzoraka longana i lychee-ja



Slika 3. Udjel ukupnih polifenola i flavonoida longana i lychee-a



Slika 4. Udjel ukupnih flavan-3-ola i procijanidina longana i lychee-a



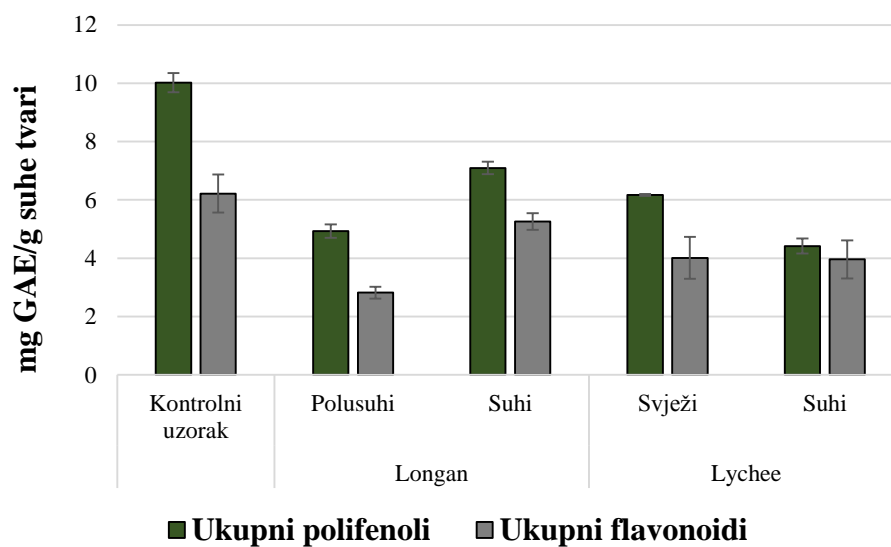
**Slika 5.** Antioksidacijski kapacitet longana i lychee-a određen ABTS i DPPH metodama

### 3.1.3 Senzorska svojstva uzoraka longana i lychee-ja

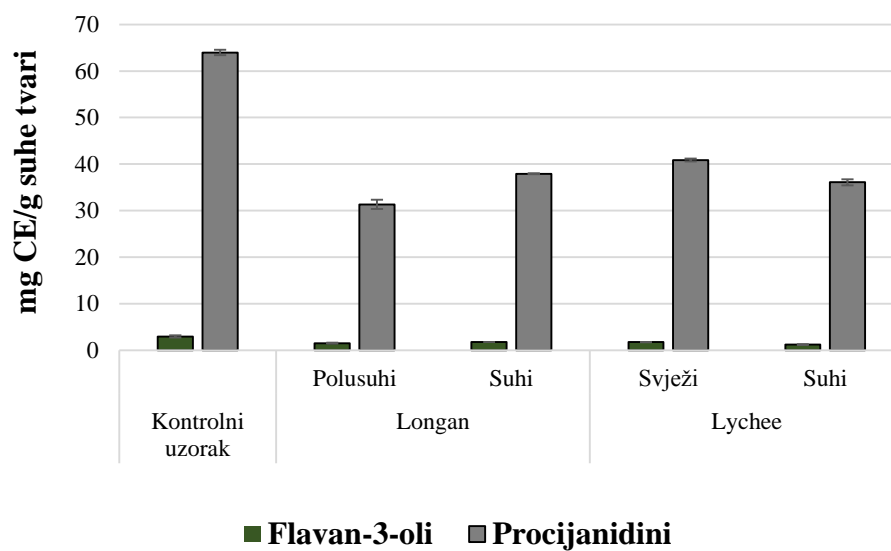
**Tablica 2.** Senzorska analiza svježeg i sušenog longana i lychee-a

	LYCHEE		LONGAN					
	Svježi	Suhi	Polusuhi 1	Polusuhi 2	Polusuhi 3	Suhi 1	Suhi 2	Suhi 3
<b>Izgled</b>	8,00 ± 0,00	7,29 ± 2,25	6,29 ± 2,60	5,43 ± 2,32	7,14 ± 1,12	7,29 ± 0,45	6,14 ± 0,34	8,43 ± 0,49
<b>Posmeđivanje</b>	1,00 ± 0,00	2,71 ± 2,60	7,14 ± 1,25	6,57 ± 2,32	6,43 ± 1,60	7,14 ± 0,35	6,14 ± 0,35	6,14 ± 0,99
<b>Miris</b>	9,00 ± 0,00	4,71 ± 2,86	5,67 ± 1,70	2,71 ± 1,58	7,14 ± 1,36	4,7 ± 1,391	3,29 ± 1,98	5,41 ± 1,76
<b>Okus</b>	8,57 ± 0,50	7,43 ± 0,90	4,71 ± 1,91	2,86 ± 2,47	7,00 ± 1,60	5,71 ± 1,67	3,00 ± 1,69	6,71 ± 1,91
<b>Naknadni okus</b>	1,29 ± 0,70	1,57 ± 0,50	3,00 ± 2,62	4,14 ± 3,36	3,43 ± 2,32	3,29 ± 2,43	4,86 ± 3,64	3,57 ± 1,84
<b>Slatkoća</b>	5,00 ± 2,07	2,57 ± 2,61	6,14 ± 1,25	4,14 ± 2,03	7,57 ± 0,90	6,43 ± 0,90	4,29 ± 2,25	6,57 ± 2,32
<b>Kiselost</b>	5,14 ± 2,64	7,29 ± 1,28	1,43 ± 1,05	1,14 ± 0,35	1,14 ± 0,35	1,43 ± 0,50	3,00 ± 2,67	1,57 ± 1,40
<b>Voćno</b>	8,29 ± 1,39	6,29 ± 1,39	4,43 ± 2,61	1,29 ± 0,45	6,00 ± 2,14	3,57 ± 2,13	1,57 ± 0,73	1,14 ± 2,23
<b>Karamel</b>	1,00 ± 0,00	3,14 ± 2,53	3,57 ± 3,46	1,00 ± 0,00	5,00 ± 2,98	4,29 ± 2,19	1,71 ± 1,03	5,43 ± 2,67
<b>Cvjetno</b>	3,29 ± 1,98	1,86 ± 1,36	1,29 ± 0,70	1,00 ± 0,00	1,43 ± 0,50	1,86 ± 1,73	1,71 ± 1,75	1,14 ± 0,35
<b>Začini</b>	1,00 ± 0,00	1,14 ± 0,35	1,43 ± 0,73	2,14 ± 1,36	1,67 ± 0,94	1,57 ± 0,73	1,57 ± 0,73	1,43 ± 0,73
<b>Zemlja</b>	1,00 ± 0,00	1,71 ± 0,70	1,57 ± 0,50	2,14 ± 0,99	1,43 ± 0,50	1,71 ± 0,70	2,14 ± 0,83	1,29 ± 0,45
<b>Dim</b>	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,86 ± 1,73	8,57 ± 0,73	1,71 ± 1,39	1,57 ± 1,40	7,86 ± 1,73	1,57 ± 1,40
<b>Paljevina</b>	1,00 ± 0,00	1,14 ± 0,34	1,71 ± 0,88	5,86 ± 2,74	1,43 ± 0,49	1,86 ± 0,99	6,00 ± 2,67	1,14 ± 0,35

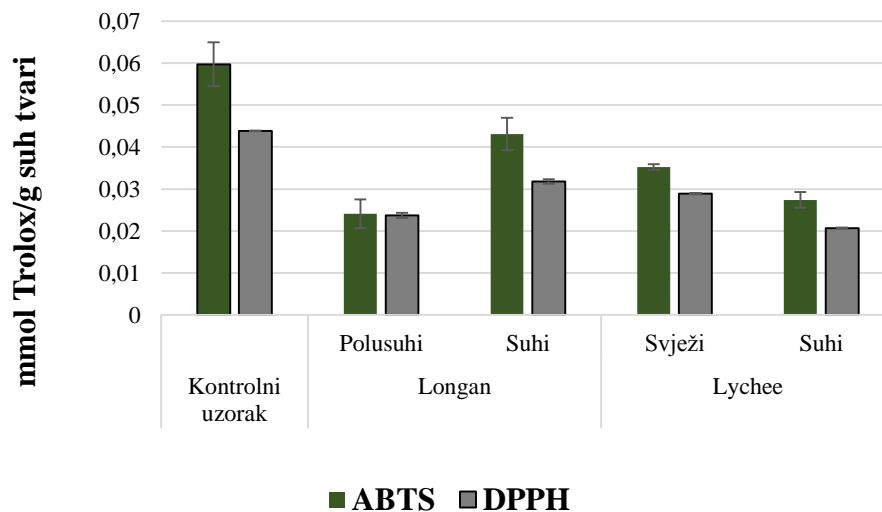
### 3.2 Bioaktivni sastav čokoladnih pralina sa svježim i sušenim longanom i lychee-jem



Slika 6. Udjel ukupnih polifenola i flavonoida pralina punjenih longanom i lychee-jem

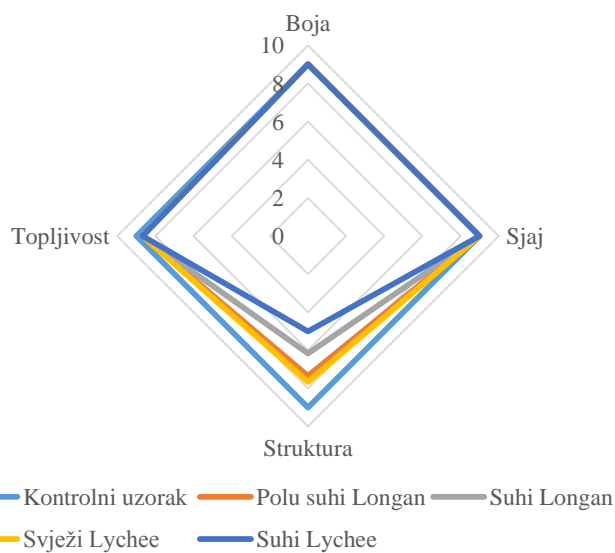


Slika 7. Udjel ukupnih flavan-3-ola i procijanidina pralina punjenih longanom i lychee-jem

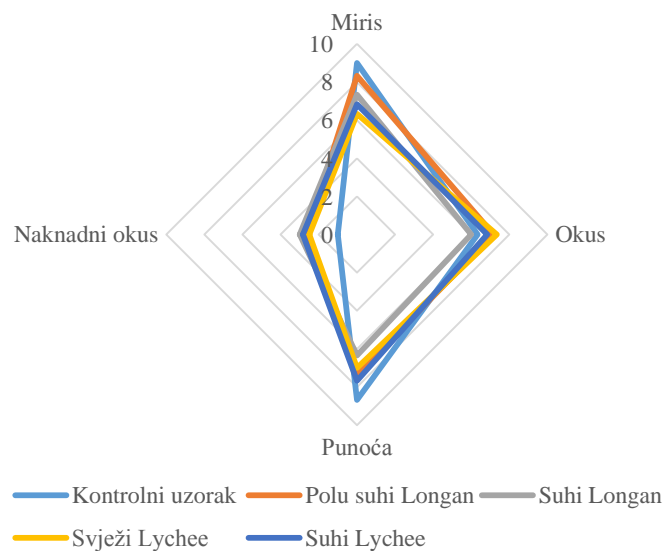


**Slika 8.** Antioksidacijski kapacitet pralina punjenih longanom i lychee-jem određen ABTS i DPPH metodom

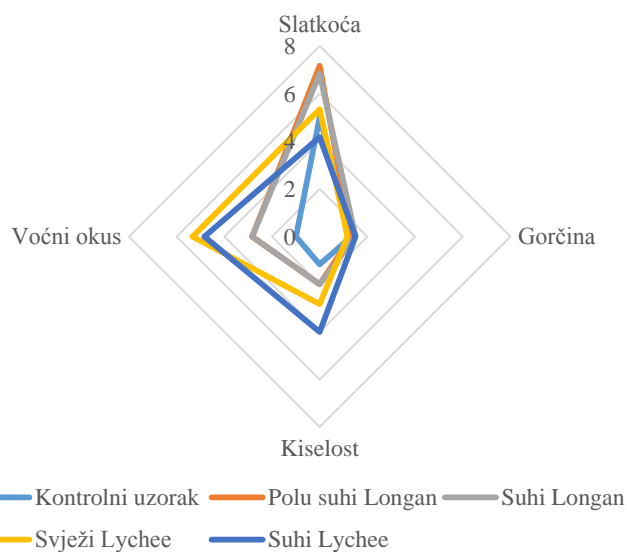
### 3.3 Senzorska svojstva pralina sa svježim i sušenim longanom i lychee-jem



**Slika 9.** Senzorska analiza boje, sjaja, strukture i topljivosti pralina punjenih longanom i lychee-jem



**Slika 10.** Senzorska analiza mirisa, okusa, punoće i naknadnog okusa pralina punjenih longanom i lychee-jem



**Slika 11.** Senzorska analiza slatkoće, gorčine, kiselosti i voćnog okusa pralina punjenih longanom i lychee-jem

## 4 RASPRAVA

### 4.1 Fizikalno-kemijska svojstva uzoraka longana i lychee-ja

Tablica 1. prikazuje fizikalno-kemijska svojstva različito pripremljenih uzoraka longana i lychee-ja. Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako je najveći udio vode određen u uzorku svježeg lychee-ja (79,03%), koji se nakon sušenja smanjio na 11,87% te je posljedično tome uzorak sušenog lychee-ja sadržavao 88,13% suhe tvari. Udio vode u polu-suhim uzorcima longana iznosio je oko 25% (20,09 - 25,43%), te je nakon sušenja postignuto dodatno smanjenje udjela vode u uzorcima na oko 15% (13,61 - 15,42%).

U tablici 1. također su prikazani i rezultati mjerenja pH vrijednosti za ekstrakte longana i lychee-ja. Najniža pH vrijednost izmjerena je u ekstraktu svježeg lychee-ja (3,86), dok je najveća pH vrijednost izmjerena kod polusuhog longana 2 (6,05). Usporedbom pH vrijednosti uzoraka longana i lychee-ja, vidljivo je kako je lychee značajno kiselij u odnosu na longan, koji pokazuje blago kiselu pH vrijednost, što potvrđuje da je lychee kao sirovina prikladniji za proizvodnju voćnih prerađevina, sokova, napitaka ili džemova i marmelada.

Osim navedenih fizikalno-kemijskih svojstava, kolorimetrijski je mjerena i boja svježih i sušenih uzoraka longana i lychee-ja primjenom *CieLab* sustava. Mjerila su se tri različita svojstva, odnosno svjetlina (parametar  $L$ ), spektar između crvene i zelene boje (parametar  $a$ ) te spektar između žute i plave boje (parametar  $b$ ). Rezultati dobiveni za prvo svojstvo, odnosno svjetlinu, pokazuju kako uzorak suhog lychee-ja daje rezultate najveće svjetline (59,29), dok je najmanja svjetlina određena kod uzorka polusuhog longana 2 (21,19). Mjerenjem spektra crvene i zelene boje prema dobivenim rezultatima najviša vrijednost određena je kod uzorka suhog lychee-ja (11,66), dok je najmanja vrijednost vidljiva kod uzorka svježeg lychee-ja (2,23). Za zadnje mjereno svojstvo spektra između žute i plave boje, vidi se kako je najveća vrijednost karakteristična za suhi lychee (22,93), a najmanja vrijednost za uzorak polusuhog longana 2 (7,32). Prema dobivenim rezultatima vidljivo je kako je uzorak karakteriziran najvećom svjetlinom ujedno i uzorak koji daje najveće rezultate za crveno-zeleni dio spektra. Rezultati upućuju da je lychee kao sirovina pogodna za sušenje, te bez obzira na posmeđivanje i intenzitet sušenja rezultira dobro očuvanim parametrima boje nakon sušenja.

## 4.2 Bioaktivni sastav i antioksidacijska svojstva uzoraka longana i lychee-ja

Na slici 3. prikazani su rezultati udjela ukupnih polifenola i flavonoida u svježim i suhim uzorcima longana i lychee-ja. Najveći udio ukupnih polifenola određen je u uzorku suhog longana 2 (3,74 mg GAE/g suhe stvari), a najmanji u uzorku suhog longana 3 (2,57 mg GAE/g suhe stvari). Najveći udio ukupnih flavonoida određen je također u istim uzorcima suhog longana (kao i udio ukupnih polifenola) u iznosu do 3,15 mg GAE/g suhe stvari, a najmanji u uzorku sušenog lychee-ja (0,97 mg GAE/g suhe stvari). Usporedbom longana i lychee-ja pokazalo se da uzorci svježeg i suhog lychee-ja sadrže manji udio flavonoida u odnosu na longan. Sušenje svježeg lychee-ja rezultiralo je manjim udjelima ukupnih polifenola i flavonoida, dok je u slučaju longana rezultiralo nesigificantnim razlikama u odnosu na polusuhe uzorke. U rezultatima iz prethodnih istraživanja utvrđeno je da sušeno voće sadrži veći udio ukupnih polifenola u usporedbi sa svježim voćem te su rezultati u ovom radu u skladu s prethodnima za uzorak longana 2 i 1, a nisu za uzorak longana 3 niti za uzorak lychee-ja (Komes i sur., 2013).

Na slici 4. prikazani su rezultati dobiveni mjerenjem udjela flavan-3-ola i procijanidina u svježim i sušenim uzorcima longana i lychee-ja. Najveći udio flavan-3-ola određen je u uzorku suhog lychee-ja (3,28 CE/g suhe stvari), dok je uzorak sa najmanjim udjelom flavan-3-ola suhi longan 1 (0,16 CE/g suhe stvari). Iz prikazanih rezultata vidljivo je kako je uzorak sa najvećim udjelom procijanidina svježi lychee (102 CE/g suhe stvari) dok je uzorak sa najmanjim udjelom procijanidina polusuhi longan 2 (0,83 CE/g suhe stvari). Usporedbom rezultata vidljivo je da uzorci svježeg i suhog lychee-ja sadrže značajno veći udio flavan-3-ola i procijanidina u usporebi s polu suhim i suhim uzorcima longana.

Iz slike 5. vidljivi su rezultati određivanja antioksidacijskog kapaciteta svježih i suhih uzoraka longana i lychee-ja. Primjenom ABTS metode određeno je da najveći antioksidacijski kapacitet pokazuje uzorak suhog lychee-ja (0,039 mmol Trolox/g suhe stvari), dok je uzorak sa najmanjom vrijednosti polusuhi longan 1 (0,021 mmol Trolox/g suhe stvari). Primjenom DPPH metode, najveći antioksidacijski kapacitet određen je u suhom uzorku longana 2 (0,014 mmol Trolox/g suhe stvari), dok je uzorak polusuhog longana 1 (0,005 mmol Trolox/g suhe stvari) pokazivao najmanji antioksidativni kapacitet.

Usporedbom rezultata bioaktivnog sastava i antioksidacijskog kapaciteta utvrđeno je da uzorak s najvećim udjelom ukupnih polifenola (suhi longan 2), ima i najveći antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom. Isto tako, uzorak s najvećim udjelom flavan-3-ola (suhi lychee), pokazuje i najveću antioksidativnu vrijednost mjerenu ABTS metodom.



### **4.3 Senzorska analiza svježih i suhих uzoraka longana i lychee-ja**

U tablici 2. prikazani su rezultati senzorske analize svježih i suhих uzoraka longana i lychee-ja. Senzorska analiza vizualnih svojstava svježih i sušenih uzoraka pokazala je da je prema svojstvu izgleda najbolje ocijenjen uzorak suhog longana 3, a najlošije polu-suhi longana 2. S obzirom da je posmeđivanje negativno svojstvo proizvoda, najnižom ocjenom ocijenjen je uzorak svježeg lychee-ja, što ukazuje na brzo posmeđivanje ovog voća te potrebu za njegovom brzom preradom nakon oštećenja ploda. Najvišom ocjenom u slučaju posmeđivanja ocijenjeni su uzorci polusuhog i suhog longana 1. Senzorskom analizom svojstava okusa pokazalo se da je najbolje ocijenjen uzorak svježeg lychee-ja, a u istom uzorku su najintenzivnije izražene voćne te cvjetne arome. Osim toga, svježi lychee najbolje je ocijenjen i za svojstvo mirisa, dok je najlošije ocijenjen polu suhi longan 1.

Negativne senzorske karakteristike poput naknadnog okusa, aroma na dim, paljevinu ili zemlju detektirane su u uzorcima polusuhog te suhog longana 2, a senzorskom analizom tih svojstava se pokazalo da su najbolje ocijenjeni uzorci svježeg i suhog lychee-ja, u kojima isti nisu detektirani. Na temelju rezultata senzorske analize, pokazalo se da panelisti preferiraju lychee (u odnosu na longan) te da je u slučaju različitih vrsta longana prema senzorskim svojstvima najbolje ocijenjen uzorak longana 3, koji je dalje korišten u proizvodnji čokoladnih pralina (kao punjenje).

### **4.4 Bioaktivni sastav i antioksidacijska svojstva čokoladnih pralina sa svježim i suhim longanom i lychee-jem**

Slika 6. prikazuje ukupni udio polifenola i flavonoida čokoladnih pralina proizvedenih s punjenjima od svježeg i suhog longana i lychee-ja. Najveći udio ukupnih polifenola određen je u kontrolnom uzorku, odnosno u čokoladnoj pralini koja nije punjena longanom niti lychee-jem (10,02 mg GAE/g suhe stvari), dok je najmanji udio ukupnih polifenola među proizvedenim pralinama s voćem uzorak sa suhim lychee-jem (4,41 mg GAE/g suhe stvari). Najveći udio ukupnih flavonoida također je određen u kontrolnom uzorku-čistoj čokoladnoj masi (pralini) (6,22 mg GAE/g suhe stvari), dok je najmanji udio određen u pralinama s polusuhim longanom (2,82 mg GAE/g suhe stvari). Iz rezultata određivanja udjela ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida može se uočiti kako kontrolni uzorak ima najveće vrijednosti ovih bioaktivnih spojeva, što dokazuje kako su kakaovi dijelovi glavni izvor bioaktivnih spojeva u čokoladnim proizvodima. Usporedbom uzoraka čokoladnih pralina punjenih

longanom i lychee-jem, pokazalo se da uzorak sa suhim longanom sadrži najveći udio ukupnih polifenola i flavonoida. U prethodnim istraživanjima (Komes i sur., 2013) utvrđeno je da je udio ukupnih polifenola sušenog voća za pojedine vrste poput šljiva, marelica groždica i brusnica veći nego u čokoladnim pralinama proizvedenim sa tim voćem, dok papaya ima manji udio ukupnih polifenola u usporedbi sa čokoladnim pralinama punjenim papayom. Rezultati ovog rada u skladu su sa navedenim istraživanjem Komes i suradnika (2013) budući da je najveći udio ukupnih polifenola također određen u kontrolnom uzorku, odnosno čistim kontrolnim čokoladnim masama.

Na slici 7. prikazani su rezultati mjerenja udjela flavan-3-ola i procijanidina u kontrolnim i obogaćenim čokoladnim pralinama. Najveći udio flavan-3-ola određen je u kontrolnom uzorku (2,95 CE/g suhe stvari), dok je uzorak sa najmanjim udjelom flavan-3-ola praline sa dodatkom suhog longana (1,23 CE/g suhe stvari). Najveći udio procijanidina također sadrži kontrolni uzorak (63,98 CE/g suhe stvari), a najmanji udio određen je u pralinama s polusuhim longanom (31,33 CE/g suhe stvari). Prema rezultatima prethodnih istraživanja (Komes i sur., 2013), udio ukupnih flavan-3-ola i procijanidina veći je u sušenim šljivama, groždicama i brusnicama nego u čokoladnim masama s dodatkom tog sušenog voća. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima ovog rada, prema kojima svježi i sušeni lychee imaju veći udio flavan-3-ola od čokoladnih pralina. S obzirom na prisutnost procijanidina i u lychee-ju i u čokoladi kao sirovinama, dodatkom lychee-ja u praline bilo bi omogućeno dodatno obogaćivanje sastava konačnog proizvoda. Kako tijekom ovog istraživanja isto nije postignuto, potreban je nastavak istraživanja i tehnološka rješenja za implementaciju odgovarajućeg oblika longana i lychee-ja i proizvodnju funkcionalno visokovrijednog proizvoda.

Dobiveni rezultati antioksidacijskog kapaciteta čokoladnih pralina sa svježim i sušenim longanom i lychee-jem prikazani su na slici 8. Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta uzoraka pralina, korištene su ABTS i DPPH metode. Primjenom ABTS metode, najveći antioksidacijski kapacitet određen je u kontrolnom uzorku odnosno čokoladnoj masi (0,060 mmol Trolox/g suhe stvari), dok je najmanja vrijednost određena u pralini s dodatkom polusuhog longana (0,024 mmol Trolox/g suhe stvari). Primjenom DPPH metode, najveći antioksidacijski kapacitet također je određen u kontrolnom uzorku (0,044 mmol Trolox/g suhe stvari), a najmanju vrijednost pokazale su praline sa suhim lychee-jem (0,021 mmol Trolox/g suhe stvari). Prethodnim istraživanjima (Komes i sur., 2013) pokazalo se da sušeno voće ima veći antioksidacijski kapacitet u odnosu na obogaćene čokolade što je u skladu s rezultatima ovog rada.

Također je primijećena podudarnost između rezultata bioaktivnih parametara za proizvedene uzorke čokoladnih pralina. Prema tome, uzorak koji ima najveći udio ukupnih polifenola i flavonoida (kontrolni uzorak), ima i najveći antioksidacijski kapacitet određen ABTS i DPPH metodama te je najbogatiji flavan-3-olima i procijanidinima. Posljedično, uzorci s najmanjim udjelom polifenola i flavonoida (praline sa suhim longanom i polu-suhim longanom), imaju i najmanji antioksidacijski kapacitet te najmanji udio flavan-3-ola i procijnidina.

#### **4.5 Senzorska analiza čokoladnih pralina sa svježim i suhim longanom i lychee-jem**

Grafički prikazi 9., 10. i 11. prikazuju rezultate senzorske analize različitih uzoraka pralina punjenih svježim i sušenim longanom i lychee-jem te kontrolni uzorak čiste čokoladne mase. Na slici 9. prikazani su rezultati senzorske analize vizualnih svojstava i teksture te se pokazalo da je za svojstvo strukture najbolje ocijenjen kontrolni uzorak, a najlošije je ocijenjen uzorak čokoladnih pralina sa suhim lychee-jem. S obzirom na ostala senzorska svojstva, i to topljivosti, boje i sjaja, senzorski panel nije uočio značajnije razlike između kontrolnog uzorka i pralina s dodatkom longana i lychee-ja. Na slici 10. prikazani su rezultati cojenjivanja senzorskih svojstava mirisa i okusa. Za svojstvo mirisa, najbolje je ocijenjen kontrolni uzorak, a najnižom ocjenom uzorak čokoladnih pralina sa svježim lychee-jem. Za svojstvo okusa najbolje je ocijenjen uzorak čokoladnih pralina sa svježim lychee-jem, dok je najnižom ocjenom ocijenjen uzorak čokoladnih pralina sa suhim longanom. Isti uzorak čokoladnih pralina sa suhim longanom ocijenjen je sa najnižom ocjenom za svojstvo punoće te najvišom ocjenom za svojstvo naknadnog okusa, koje nije poželjno. Prema tim rezultatima, čokoladne praline s dodatkom svježeg lychee-ja imale su neznatno niža ili čak i veća svojstva okusa od kontrolnog uzorka te su pokazale potencijal primjene ovog voća u proizvodnji inovativnih čokoladnih proizvoda.

Slikom 11. prikazani su rezultati senzorske analize svojstava slatkoće, gorčine, kiselosti te voćnog okusa. Uzorak čokoladnih pralina sa polusuhim longanom ocijenjen je najvećom ocjenom za slatkoću, dok se kao najmanje sladak pokazao uzorak čokoladnih pralina sa suhim lychee-jem. Uzorci čokoladnih pralina sa suhim longanom i suhim lychee-jem imaju prisutan najveći intenzitet gorčine, dok je gorčina najmanje prisutna u kontrolnom uzorku i uzorku čokoladnih pralina sa polusuhim longanom. Uzorak čokoladnih pralina sa suhim longanom je ocijenjen najvišom ocjenom za svojstvo kiselosti, dok je najnižom ocjenom ocijenjen kontrolni uzorak. Osim toga, kontrolni uzorak je ocijenjen najnižom ocjenom i za svojstvo voćnog okusa, a s najvećom uzorak čokoladnih pralina sa svježim lychee-jem.

## 5 ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih u ovom završnom radu doneseni su sljedeći zaključci:

1. Usporedbom bioaktivnog sastava ekstrakata longana i lychee-ja longan je bogatiji izvor polifenonim spojevima (3,74 mg GAE/g suhe tvari) u odnosu na lychee (2,60 mg GAE/g suhe tvari)
2. Sušenje svježeg lychee-ja i polusuhog longana na 60°C rezultiralo je gotovo nepromijenjenim udjelom bioaktivnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta u odnosu na uzorke prije sušenja
3. Lychee karakterizira veći udio flavan-3-ola i procijanidina u odnosu na longan
4. Zbog izražene karakteristične cvjetno-voćne arome, uzorci svježeg i sušenog lychee-ja senzorski su poželjniji dodaci za praline u odnosu na uzorke longana
5. Implementacijom suhog, usitenjenog longana i lychee-ja, kao punjenja, u proizvodnju čokoladnih pralina, nije postignuto značajnije obogaćivanje bioaktivnog sastava konačnog proizvoda
6. Antioksidacijski kapacitet čokoladnih pralina punjenih longanom i lychee-jem u korelaciji je s udjelom ukupnih polifenola
7. Usporedbom čokoladnih pralina s dodatkom polusuhog i suhog longana senzorski su bolje ocijenjene praline s polusuhim longanom
8. Među novorazvijenim čokoladnim pralinama senzorski je najbolje ocijenjena pralina sa svježim lychee-jem

## 6 LITERATURA

Adamson, G.E., Lazarus, S.A., Mitchell, A.E., Prior, R.L., Cao, G., Jacobs, P.H., Kremers, B.G., Hammerstone, J.F., Rucker, R., Ritter, K.S., Schmitz, H.H. (1999) HPLC method for quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4184-4188.

Anonymous 1, <http://www.samuiholiday.com/archives/samuiwininganddining-aug2013/tropicalpick.html>, Pristupljeno: 20.5.2016.

Anonymous 2, <https://vespertunes.wordpress.com/2015/11/07/lychee-fruit-nutrition-facts/>, Pristupljeno: 20.5.2016.

Belščak-Cvitanović, A., Komes, D., Benković, M., Karlović, S., Hečimović, I., Ježek, D., Bauman, I. (2012) Innovative formulations of chocolates enriched with plant polyphenols from *Rubus idaeus* L. leaves and characterization of their physical, bioactive and sensory properties. *Food Res. Int.* **48**, 1.

Belščak-Cvitanovic, A., Komes, D., Dujmović, M., Karlović, S., Biškić, M., Brnčić, M., Damir, J. (2013) Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. *Food Chem.* **167**, 61-62, 88.

Belščak-Cvitanović, A., Benković, M., Komes, D., Bauman, I., Horžić, D., Dujmić, Matea Matijašec, F. (2010) Physical Properties and Bioactive Constituents of Powdered Mixtures and Drinks Prepared with Cocoa and Various Sweeteners. *J. Agric. Food Chem.* **58**, 1.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* **28**, 25-30.

Cabral, T.A., Cardoso, L. de M., Pinheiro-Sant'ana, H.M. (2014) Chemical composition, vitamins and minerals of a new cultivar of lychee (*Litchi chinensis* cv. Tailandes) grown in Brazil. *Fruits.* **69**, 425-426.

Clerici, M.T.P.S., Carvalho-Silva, L.B. (2011) Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Res. Int.* **44**, 1658-1659, 1661-1662, 1667.

Hurst, W.J., Marin, R.A., Zoumas, B.L. (1982) Biogenic amines in chocolate – a review. *Nutr. Rep. Int.* **26**, 1081-1086.

Confectionery news (2013), Added health: Emerging ingredients for functional chocolate, <http://www.confectionerynews.com/Ingredients/Added-health-Emerging-ingredients-for-functional-chocolate>. Pristupljeno 17.6.2016.

Confectionery news (2012), Functional chocolate bars must target a niche, says Herza, <http://www.confectionerynews.com/Ingredients/Functional-chocolate-bars-must-target-a-niche-says-Herza>. Pristupljeno 17.6.2016.

Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Škrabal, S., Vojvodić, A., Bušić, A.. (2013) The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT Food Sci. Technol.* **53**, 2.

Nagendra Prasad, K., Yang, B., Shi, J., Yu, C., Zhao, M., Xue, S., Jiang, Y.. (2009) Enhanced antioxidant and antityrosinase activities of longan fruit pericarp by ultra-high-pressure-assisted extraction. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **51**, 471.

Ough, C.S., Amerine, M.A. (1988) Methods for analysis of musts and wine, 2. izd., John Wiley & Sons, New York.

Porter, L.J., Hrstich, L., Chan, B.G. (1986) The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochem.* **25**, 223-230.

Price, M.L., Van Scoyoc, S., Butler, L.G. (1978) A critical evaluation of vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. *J. Agric. Food Chem.* **26**, 1214-1218.

- Re et al. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
- Sabelli, H.C., Javaid, J.I. (1995) Phenylethylamine modulation of affect: therapeutic and diagnostic implications. *J. Neuropsychol.* **7**, 6-14.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamela-Raventos, R.M. (1999a) Flavonoids and other polyphenols. *Methods Enzymol.* **299**, 152.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamela-Raventos, R.M. (1999b) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 1179.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 144-158.
- Sudjaroen, Y., Hull, W.E., Erben, G., Würtele, G., Changbumrung, S., Ulrich, C.M., Owen, R.W. (2011) Isolation and characterization of ellagitannins as the major polyphenolic components of Longan (*Dimocarpus longan* Lour) seeds. *Phytochem.* **77**, 226-227.
- Thamke, I., Durschmid, K., Rohm, H. (2008) Sensory description of dark chocolates by consumers. *LWT Food Sci. Technol.* **42**, 534-535.
- Woraratphoka, J., Intarapichet, K.O., Indrapichate, K. (2007) Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. *Food Chem.* **104**,
- Yi, Y., Zhang, M.W., Liao, S.T. Zhang, R.F., Dengb, Y.Y., Weib, Z.C., Tang, X.J., Zhang, Y. (2011) Structural features and immunomodulatory activities of polysaccharides of longan pulp. *Carbohydr. Polym.* **87**, 636.
- Yang, B., Zhao, M., Shi, J., Yang, N., Jiang, Y.. (2007) Effect of ultrasonic treatment on the recovery and DPPH radical scavenging activity of polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* **106**, 685-686.

Yang, B., Jiang, Y., Shi, J., Chen, F., Ashraf, M. (2010) Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan*Lour.) fruit. *Food Res. Int.* **44**, 1837-1840.

Zhong, K., Wang, Q., He, Y., He, Z. (2010) Evaluation of radicals scavenging, immunity-modulatory and antitumor activities of longan polysaccharides with ultrasonic extraction on in S180 tumor mice models. *Int. J. Biol. Macromolec.* **47**, 356.