

# Kemijski sastav bundeve i njenih nusproizvoda

---

Staničić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:159:064880>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, svibanj 2022

Tea Staničić

**KEMIJSKI SASTAV BUNDEVE I  
NJENIH NUSPROIZVODA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za analitičku kemiju na Zavodu za kemiju i biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Antonele Ninčević Grassino.

PROJEKT - Hibridno sušenje i valorizacija biljnog prehrambenog otpada i nusproizvoda“, IP-2019-04-9750 (HYDRYBY), Hrvatska zaklada za znanost, Prof. dr. sc. Mladen Brnčić,



## ZAHVALA

*Veliko hvala mentorici, izv. prof. dr.sc. Antoneli Ninčević Grassino, na ukazanom povjerenju i prihvaćanju mentorstva. Zahvaljujem se na strpljenju, trudu, vodstvu i pomoći pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se kolegama koji su omogućili da svi studentski dani budu posebni i nezaboravljivi.*

*Beskrajno hvala mojim prijateljima i dragim osobama koji su kao i uvijek bili neizmijerna podrška i uz kojih je sve uvijek bilo lakše. Veliko hvala i Katarini na bezuvjetnoj potpori i motivaciji sve ove godine.*

*I na kraju, riječima ne mogu dovoljno zahvaliti svojim roditeljima i obitelji na pruženoj ljubavi i pomoći kako u životu, tako i tijekom svih godina studiranja.*

*Hvala Vam!*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za kemiju i biokemiju  
Laboratorij za analitičku kemiju

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Nutricionizam

**Diplomski sveučilišni studij:** Nutricionizam

## KEMIJSKI SASTAV BUNDEVE I NJENIH NUSPROIZVODA

*Tea Staničić, univ. bacc. nutr.*

0177050160

**Sažetak:** Bundeve karakterizira bogati nutritivni sastav s blagotvornim učinkom na zdravlje. Kako bi se predložila daljnja moguća primjena pulpe, kore i sjemenki bundeve u ovom radu je određen njihov kemijski sastav. Sadržaj vlage i pepela u uzorcima određen je gravimetrijskom analitičkom metodom. Rezultati su pokazali da pulpa ima najveći udio vlage (93,99 %), a sjemenke najveći udio pepela (2,75 %). Udio masti i vlakana određen je primjenom Soxhlet ekstrakcije i refluksiranjem te gravimetrijskom analizom. Rezultati su pokazali da sjemenke bundeve imaju najveći udio masti (21,44 %) i vlakana (56,56 %). U postupku određivanja sadržaja proteina i šećera u uzorcima bundeve korištena je ultrazvučna ekstrakcija, a prinos dvaju analita praćen je UV/Vis spektrofotometrijom. Dobivenim rezultatima je pokazano da povećanje vremena ekstrakcije utječe i na povećanje udjela proteina i šećera. Tako je kod 40 minuta postignuta njihova najučinkovitija ekstrakcija. Pri ovom optimalnom ekstrakcijskom parametru kora bundeve daje najveći udio proteina (15,08 %) i šećera (63,90 %).

**Ključne riječi:** *analitičke metode, bundeva i nusproizvodi bundeve, kemijski sastav, ultrazvučna ekstrakcija*

**Rad sadrži:** 41 stranica, 5 slika, 8 tablica, 59 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Antonela Ninčević Grassino

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Suzana Rimac Brnčić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Antonela Ninčević Grassino (mentor)
3. doc. dr. sc. Marija Badanjak Sabolović (član)
4. doc. dr. sc. Filip Dujmić (zamjenski član)

**Datum obrane:** 19. svibnja 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory for Analytical Chemistry**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### CHEMICAL COMPOSITION OF PUMPKIN AND ITS BY-PRODUCTS

*Tea Staničić, univ. bacc. nutr.*  
*0177050160*

**Abstract:** The pumpkin is characterized by a rich nutritional composition with a beneficial effect on health. In order to propose further uses for the pulp, peel and seeds, the aim of this work was to determine their chemical composition. The moisture and ash content of the samples was determined by the gravimetric analysis method. The results showed that the pulp had the highest moisture content (93.99 %), and the seeds had the highest ash content (2.75 %). The content of fat and dietary fiber was determined by Soxhlet extraction, reflux and gravimetric analysis. The results showed that the seeds had the highest mass content of fat (21.44 %) and dietary fiber (56.56 %). Ultrasonic extraction was used in determining the content of proteins and sugars in the samples, and the yield of the two analytes was monitored by UV/Vis spectrophotometry. The results showed that increasing the extraction time has an effect on the increase of protein and sugar levels. Thus, it can be seen that the most effective extraction is achieved at a time of 40 minutes. At this optimal parameter, the pumpkin peels had the highest mass percentage of protein (15.08 %) and sugar (63.90 %).

**Keywords:** *analytical methods, pumpkin and pumpkin by-products, chemical composition, ultrasonic extraction*

**Thesis contains:** 41 pages, 5 figures, 8 tables, 59 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** Antonela, Ninčević Grassino, PhD, Associate professor

#### **Reviewers:**

1. Suzana Rimac Brnčić, PhD, Full Professor (president)
2. Antonela Ninčević Grassino, PhD, Associate professor (mentor)
3. Marija Badanjak Sabolović, PhD, Assistant professor (member)
4. Filip Dujmić, PhD, Assistant professor (substitute)

**Thesis defended:** May 19<sup>th</sup>, 2022



## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1. POVIJEST I BOTANIČKA KLASIFIKACIJA BUNDEVE .....	3
2.2. UZGOJ BUNDEVE .....	3
2.2.1. Svježa bundeva.....	4
2.2.1.1. Brašno od bundeve .....	5
2.2.2. Sjemenke .....	5
2.2.2.1. Ulje od sjemenki bundeve.....	5
2.2.3. Kora.....	6
2.3. KEMIJSKI SASTAV BUNDEVE .....	6
2.3.1. Kemijski sastav pulpe.....	7
2.3.2. Kemijski sastav sjemenki .....	7
2.3.3. Kemijski sastav kore .....	8
2.4. ANALITIČKI POSTUPCI ODREĐIVANJA KEMIJSKOG SASTAVA .....	8
2.4.1. Gravimetrija .....	8
2.4.1.1. Određivanje udjela vlage .....	9
2.4.1.2. Određivanje udjela masti .....	9
2.4.1.3. Određivanje udjela pepela .....	10
2.4.1.4. Određivanje udjela vlakana .....	10
2.4.2. UV/Vis spektrofotometrija.....	11
2.4.2.1. Određivanje udjela proteina .....	12
2.4.2.2. Određivanje udjela šećera .....	12
2.5. EKSTRAKCIJA SPOJEVA .....	13
2.5.1. Refluksiranje .....	13
2.5.2. Soxhlet ekstrakcija .....	14
2.5.3. Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija .....	14
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>16</b>
3.1. MATERIJALI .....	16
3.2. KEMIJKALIJE .....	16
3.3. PRIBOR .....	16
3.4. APARATURA .....	17

3.5.	METODE RADA .....	18
3.5.1.	Određivanje sadržaja vlage u uzorcima bundeve i nusproizvoda .....	18
3.5.2.	Određivanje sadržaja masti u uzorcima bundeve i nusproizvoda .....	18
3.5.3.	Određivanje sadržaja pepela u uzorcima bundeve i nusproizvoda.....	19
3.5.4.	Određivanje sadržaja vlakana u uzorcima bundeve i nusproizvoda.....	20
3.5.5.	Priprema ekstrakata bundeve i nusproizvoda.....	20
3.5.6.	Određivanje proteina u uzorcima bundeve i nusproizvoda .....	21
3.5.6.1.	<i>Priprema otopina</i> .....	21
3.5.6.2.	<i>Postupak određivanje ukupnih proteina</i> .....	22
3.5.7.	Određivanje šećera u uzorcima bundeve i nusproizvoda .....	23
3.5.7.1.	<i>Priprema otopina</i> .....	23
3.5.7.2.	<i>Postupak određivanje ukupnih šećera</i> .....	24
3.6.	OBRADA PODATAKA .....	25
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>26</b>
4.1.	SADRŽAJ VLAGE U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	26
4.2.	SADRŽAJ MASTI U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	27
4.3.	SADRŽAJ PEPELA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	28
4.4.	SADRŽAJ VLAKANA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	29
4.5.	SADRŽAJ PROTEINA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	31
4.6.	SADRŽAJ ŠEĆERA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA .....	32
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b> .....	<b>35</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>36</b>

# 1. UVOD

Bundeva se ubraja među glavne usjeve porodice “*Cucurbitaceae*“ (Matin i sur., 2022). Podrijetlom je iz Južne Amerike, a uzgaja se u toplim klimatskim uvjetima zbog izrazite osjetljivosti na hladnoću i mraz (Lemus-Mondaca i sur., 2019). Pripada rodu “*Cucurbita*“, a jedna od najraširenijih vrsta je “*Cucurbita maxima*“ (Durante i sur., 2014). Bundeva obiluje bogatim nutritivnim sastavom koji ima blagotvoran učinak na zdravlje. Visoki udio različitih vrsta karotenoida utječe na žarko narančastu boju pulpe. Pored karotenoida različiti bioaktivni spojevi poput flavonoida, polifenola, tanina i tokoferola imaju protuupalno, antioksidacijsko i antikancerogeno djelovanje. Sadrži manje količine proteina i masti, a bogatom nutritivnom profilu doprinosi veliki udio prehrambenih vlakana te vitamina i minerala (Salehi i sur., 2019). Pulpa je dio bundeve koji se najčešće upotrebljava za konzumaciju, a zajedno sa sjemenkama i korom može se koristiti kao materijal za inovativnu funkcionalnu hranu, nutraceutske i farmaceutske pripravke (Kaur i sur., 2020). Iako se sjemenke često odbacuju i smatraju agroindustrijskim otpadom, u nekim dijelovima svijeta se konzumiraju sirove, pečene ili kuhane (Salehi i sur., 2019). Osim što su bogate hranjivim tvarima mogu se upotrebljavati za obogaćivanje prehrambenih proizvoda i ekstrakciju bioaktivnih spojeva (Lemus-Mondaca i sur., 2019).

Cilj ovog rada bio je istražiti kemijski sastav pulpe, kore i sjemenki bundeve “*Cucurbita maxima*“ kako bi se predložila njihova daljnja moguća primjena u različita područja prehrambene industrije.

Udio vlage i pepela u uzorcima određen je gravimetrijskom analitičkom metodom. Sadržaj masti i vlakana određen je primjenom ekstrakcijskih tehnika (Soxhlet i refluksiranje) i gravimetrijskom analizom. Iako Soxhlet ekstrakcija i refluksiranje kao konvencionalne ekstrakcijske metode imaju vrlo široku primjenu, zbog dugotrajnosti ekstrakcijskog procesa, toplinske degradacije uzrokovane povećanjem temperature te neekonomičnosti (korištenje velikih količina otapala) nastoje se zamijeniti drugim, inovativnijim ekstrakcijskim tehnikama.

Tako je u postupku određivanja sadržaja proteina i šećera u uzorcima pulpe i nusproizvoda (kora i sjemenke) korištena ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija (*engl.* ultrasound-assisted extraction, UAE). UAE je provedena pri različitim vremenima, a utjecaj ovog parametra na efikasnost ekstrakcije proteina i šećera praćen je UV/Vis spektrofotometrijom. Na temelju dobivenih rezultata određeno je optimalno vrijeme ekstrakcije

koje bi se moglo primjenjivati u daljnjim analitičkim određivanjima ovih ciljanih analita, ne samo u svježoj bundevi i njenim nusproizvodima, već i u sušenoj bundevi.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. POVIJEST I BOTANIČKA KLASIFIKACIJA BUNDEVE

Bundeva potječe iz Južne Amerike gdje je divlji oblik "*Andreea cucurbita*" poznat više od 4000 godina. U Europu je uvedena krajem 19. stoljeća te se prvo pojavljuje na području oko Sredozemnog mora, a potom i u zemljama poput Turske, Grčke i Bugarske (Apostol i sur., 2018).

Porodica "*Cucurbitaceae*" obuhvaća oko 825 vrsta i 118 rodova koji se uglavnom uzgajaju u tropskim i suptropskim područjima. Neki od glavnih usjeva porodice "*Cucurbitaceae*" su bundeva, lubenica, krastavci i dinja (Matin i sur., 2022). Bundeva pripada rodu "*Cucurbita*", a među najraširenijim vrstama su: "*Cucurbita pepo*", "*Cucurbita maxima*" i "*Cucurbita moschata*" (Durante i sur., 2014). Karakterizira ih hrapavo i bodljikavo lišće i stabljike, a žuti ili narančasti cvjetovi u obliku trube se razvijaju u plodove različitog oblika, veličine i boje (Salehi i sur., 2019). Vrste "*Cucurbita pepo*" i "*Cucurbita maxima*" razlikuju se po tvrdoći perikarpoida i obliku cvjetne stapke. "*Cucurbita pepo*" ima peterbridnu cvjetnu stapku i tvrdi perikarpoid, a "*Cucurbita maxima*" valjkastu, okruglu cvjetnu stapku i mekši perikarpoid (Pleh i sur., 1998).

Gotovo svi dijelovi bundeve (plod, cvijet, lišće, korijenje i sjeme) su jestivi s nekim razlikama između sorti. Na primjer, ulja različitih vrsta bundeve mogu imati različitu boju, bistroću, okus i miris (Kulczyński i Gramza-Michałowska, 2019). Prisutnost mnogih biološki aktivnih i nutritivnih komponenata, uključujući visoku razinu  $\alpha$ - i  $\beta$ -karotena,  $\beta$ -kriptoksantina, luteina i zeaksantina, polisaharida, fitosterola, nezasićenih masnih kiselina i proteina čine bundevu važnim izvorom bioaktivnih tvari koje imaju pozitivan učinak na zdravlje (Durante i sur., 2014).

### 2.2. UZGOJ BUNDEVE

Kvalitetna proizvodnja bundeve može se postići samo uzimajući u obzir sastav i strukturu tla, plodored i klimatske uvjete na obrađivanom području. Također treba uzeti u obzir utjecaj zagađivača okoliša koji dospijevaju u tlo i negativno utječu na količinu i kvalitetu ploda uzgojenog na toj površini (Apostol i sur., 2018). Do početka 90-tih godina u Hrvatskoj je do propadanja usjeva dolazilo zbog primjene herbicida triazina u kukuruzu u kojem su bundeve bile

uzgajane kao među usjev. Ostaci triazina su uzrokovali žućenje i isušivanje listova od ruba prema sredini i njihovo propadanje (Pleh i sur., 1998).

Za rast i razvoj bundeve potrebna je topla klima i dovoljno vlage u tlu. Bundeve se siju kada je temperatura tla u rasponu od 12 do 15 °C, a sjeme se sije na dubinu od 5 do 8 cm. Klijanje sjemena počinje tek iznad 13,7 °C, a za razvoj ploda optimalna je temperatura od 25 do 27 °C. Iako se nakon klijanja dosta sporo razvijaju, već nakon 35 do 45 dana počinje njihov brzi rast. Za vrijeme stvaranja asimilacijskog parenhima umjerena vlažnost tla, zraka i umjerena temperatura pospješuju tvorbu jakog korijena i velike mase lišća i stabljike. U periodu cvatnje za normalnu oplodnju i rast ploda potrebne su veće temperature, svjetlo i umjerena vlaga (oko 65 % relativne vlažnosti zraka). Velika otpornost korijena i velika površina koju zaklanjaju listovi omogućuju da tijekom kraćeg razdoblja bundeva bude otporna na hladno i vlažno vrijeme, odnosno na znatno više temperature i manje vlage u tlu.

Da bi se dobio visoki postotak bučinog ulja plodovi moraju biti potpuno zreli. Kod zrelih bundeva sjeme je čvrsto i lako se odvaja od mesa, a u toj fazi listovi počinju dobivati smeđu boju (Pleh i sur., 1998). Plodovi "*Cucurbita maxima*" beru se tijekom ožujka i travnja te se čuvaju u klimatiziranim prostorima koji omogućavaju skladištenje proizvoda tijekom cijele godine (Lemus-Mondaca i sur., 2019). Sačuvane u neprikladnim uvjetima nakon berbe, bundeve bi mogle biti onečišćene aflatoksinima i ohratoksinom A (Apostol i sur., 2018). Berba se može provesti ručno ili mehanizirano. Pri mehaniziranoj berbi potrebno je sjeme oprati velikom količinom vode, pod niskim pritiskom, kako ne bi oštetili zelenu površinu sjemena. Nakon toga sjeme se suši na temperaturi od 40 do 60 °C do konačne vlage od 8 do 10 % (Pleh i sur., 1998).

### 2.2.1. Svježa bundeva

Svježa bundeva cijenjena je zbog slatkog okusa i visoke nutritivne vrijednosti (Durante i sur., 2014). Ustanovljeno je da 100 g svježje bundeve sadrži 0,6 - 1,8 g proteina, 0,0 - 0,2 g lipida, 4,6 - 6,5 g šećera, 0,5 - 1,3 g vlakana i 80,0 - 96,0 g vlage (Guiné i sur., 2011). Prema Američkom zavodu za poljoprivredu (*engl.* United States Department of Agriculture, USDA) u 100 g sirove bundeve nalazi se 26 kcal te pripada namirnicama niske energetske, a visoke nutritivne gustoće. Zrela, jestiva bundeva ima pulpu karakteristične narančaste boje koja se često koristi u kulinarstvu ili kao hrana za životinje. Također, pulpa ploda se može koristiti za ublažavanje crijevnih upala, dispepsije i poremećaja želuca (Amin i sur., 2019).

### 2.2.1.1. Brašno od bundeve

Trajnost bundeve je 1 do 3 mjeseca nakon berbe. Poslije postaju podložnije gubitku vlage, omekšavanju, promjeni boje i kvarenju. Kako bi se produžio vijek trajanja koristi se metoda sušenja i dobivanja brašna od pulpe, kore ili sjemenki bundeve. Brašno se može dugo skladištiti te koristi kao sastojak u proizvodnji hrane kao što su pekarski proizvodi, juhe, začini, umaci i prirodna sredstva za bojenje u mješavinama tjestenine i brašna (El Khatib i Muhieddine, 2019). Dodavanje bundeve u prahu proizvodima ne samo da povećava sadržaj različitih hranjivih sastojaka, već poboljšava i okus proizvedene hrane (Que i sur., 2008). Sadržaj vlakana u brašnu bundeve ovisi o sorti, a maksimalni udio netopivih vlakana od 26,50 % nalazi se u brašnu vrste "*Cucurbita maxima*" (Cerniauskiene i sur., 2014). Glavni izvori minerala u brašnu su željezo i kalij (Lima i sur., 2019).

### 2.2.2. Sjemenke

Sjemenke bundeve su tamnozeleno boje, mogu biti prekrivene žuto-bijelom ljuskom ili mogu biti oljuštene i imati vrlo tanki tamnozeleni omotač (Preedy i Watson, 2020). Karakterizira ih plosnati i ovalni oblik, a težina im varira između 50 i 250 mg (Lemus-Mondaca i sur., 2019). Konzumiraju se sirove, pečene ili kuhane, a senzorske analize pokazale su češću konzumaciju oljuštenih sjemenki u odnosu na sjemenke s ljuskom (Patel, 2013). Iako se sjemenke bundeve uglavnom smatraju poljoprivredno-industrijskim otpadom, visoke su nutritivne gustoće te imaju važnu ulogu u prevenciji bolesti i promicanju ljudskog zdravlja (Dotto i Chacha, 2020). Studije pokazuju pozitivan učinak ekstrakta sjemenki bundeve na razinu glukoze u krvi, inhibiciju crijevnih parazita i na prisustvo antitumorskih i antimikrobnih svojstava (Dotto i Chacha, 2020).

#### 2.2.2.1. Ulje od sjemenki bundeve

Postupak proizvodnje bundevinog ulja započinje kratkim zagrijavanjem sjemenki na 100 do 120 °C, nakon čega slijedi prešanje bez kemijskih dodataka poput konzervansa ili boja. Zagrijavanje sjemenki se provodi radi lakšeg izdvajanja ulja, ali i zbog postizanja specifičnog okusa i arome po orašastim plodovima. Za proizvodnju ulja mogu se koristiti različite vrste bundeve, a najčešće se koristi "*Cucurbita pepo*" jer njezine sjemenke ne sadrže ljusku. Takve

sjemenke sadrže oko 42 do 50 % ulja, 30 do 33 % bjelančevina i samo 6 do 8 % vode. Budući da prilikom samog postupka proizvodnje ulja nije potrebno prethodno odvajanje ljuske od sjemenki dobiva se proizvod veće čistoće (Siegmund i Murkovic, 2004). Preko 50 % svih masnih kiselina u ulju čine esencijalne nezasićene masne kiseline linolna i linolenska kiselina. Ulje od sjemenki bundeve sadrži oko 35 % jednostruko nezasićenih masnih kiselina poput palmitoleinske i oleinske, te samo oko 17 % zasićenih masnih kiselina. Antioksidacijsko djelovanje prisutnih vitamina A i E pridonosi da je ulje dobiveno iz bundevinih sjemenki znatno manje podložno oksidaciji i pojavi užglosti u odnosu na slična ulja (Applequist i sur., 2006). Karakterizira ga specifična crveno-zelena boja, izrazito osebujan okus i prema USDA velika kalorijska vrijednost od 800 kcal na 100 g ulja. Nedavno istraživanje Gossell-Williams i suradnika (2011) pokazalo je da svakodnevna primjena 2 g ulja od bundeve u trajanju od 12 tjedana dovodi do povećane koncentracije lipoproteina visoke gustoće (HDL) i smanjenja dijastoličkog krvnog tlaka kod žena u postmenopauzi.

### 2.2.3. Kora

Tijekom prerade bundeve nastaje velika količina otpada odnosno nusproizvoda u obliku kore. Jedan od načina ponovne uporabe uobičajeno odbačenih kora je proizvodnja brašna. Prema Staichok i suradnicima (2016) djelomična zamjena pšeničnog brašna s brašnom od kore bundeve utječe na povećanje mase kruha, povećanje udjela vlakana i proteina, te boju kruha. Samo brašno karakterizira visok sadržaj proteina i dobra topljivost u mlijeku. Zbog jakih antioksidacijskih i antibakterijskih spojeva ekstrakti kore mogu biti dobar izbor za razvoj funkcionalne hrane bogate antioksidansima (Hussain i sur., 2021).

## 2.3. KEMIJSKI SASTAV BUNDEVE

Kemijski sastav bundeve ovisi ponajprije o uvjetima uzgoja, tlu, sorti, klimatskim uvjetima i dijelu same biljke. U mesu bundeve nalazi se najviše vode, ugljikohidrata i vlakana te manja količina proteina i masti (Kim i sur., 2012). Također kora, sjemenke i pulpa su bogati raznim mikronutrijentima (Amin i sur., 2019).

Prema Kim i suradnicima (2012) vrsta "*Cucurbita maxima*" sadrži znatno veći udio ugljikohidrata, masti i vlakana od vrsta "*Cucurbita pepo*" i "*Cucurbita moschata*". Također kod "*Cucurbita maxima*" kora i pulpa sadrže veću količinu ugljikohidrata u odnosu na sjemenke. S



druge strane vrste "*Cucurbita pepo*" i "*Cucurbita moschata*" imaju veći sadržaj proteina u odnosu na "*Cucurbita maxima*".

### 2.3.1. Kemijski sastav pulpe

Intenzivnu žuto-narančastu boju pulpa dobiva zahvaljujući visokoj razini karotenoida, uglavnom  $\alpha$ -karotena,  $\beta$ -karotena,  $\beta$ -kriptoksantina, luteina i zeaksantina (Durante i sur., 2014). U svježoj masi voća ukupni sadržaj karotenoida kreće se od 0,3 do 12 mg g<sup>-1</sup> svježe mase. Konzumacija karotenoida smanjuje rizik od degenerativnih i kardiovaskularnih bolesti, degeneraciju makule oka, određenih vrsta karcinoma i sprječava štetne učinke slobodnih radikala (Song i sur., 2016). Različite sorte bundeve sadrže značajne razlike u sadržaju bioaktivnih spojeva. Najznačajnije razlike utvrđene su za polifenole, minerale (kalij, magnezij, željezo) i vitamine (vitamin C, folati). Čimbenici koji mogu utjecati na takva odstupanja su uvjeti okoliša, metode uzgoja i uvjeti skladištenja. Važan faktor koji utječe na sadržaj bioaktivnih spojeva u pulpi je i sam genotip sorte. Meso bundeve sadrži velike količine kalija, koji je neophodan za pravilno funkcioniranje živčanog sustava i mišića, a pomaže i kod održavanju normalnog krvnog tlaka (Kulczyński i Gramza-Michałowska, 2019).

### 2.3.2. Kemijski sastav sjemenki

Sjemenke bundeve sadrže oko 30 % bjelančevina, a među najzastupljenijim aminokiselinama spadaju glutaminska kiselina i arginin. Sadržaj masnih kiselina u sjemenkama iznosi do 50 % ukupne mase sjemena, a prevladavaju nezasićene masne kiseline poput oleinske i linolne kiseline (Lemus-Mondaca i sur., 2019). Bogate su biološki aktivnim komponentama poput tokoferola, karotenoida, provitamina, skvalena, saponina, fitosterola, flavonoida, fenolnih spojeva i njihovih derivata. Sjemenke bundeve sadrže i značajnu količinu vrijednih minerala. Imaju visok udio kalcija, mangana, fosfora i magnezija. Pozitivan utjecaj na kardiovaskularno zdravlje doprinosi nizak sadržaj natrija i visok kalija. Također, dobar su izvor elemenata u tragovima poput cinka, željeza i bakra (Dotto i Chacha, 2020). Uslijed visokog sadržaja fitosterola mogu imati veliku ulogu u liječenju benigne hiperplazije prostate (Fruhvirth i Hermetter, 2007). Pokazalo se da bundeve imaju značajne razlike u sadržaju hranjivih sastojaka ovisno o mediju uzgoja i vrsti ploda. Sjemenke "*Cucurbita pepo*" i "*Cucurbita moschata*" imaju

znatno više  $\gamma$ -tokoferola od "*Cucurbita maxima*", čije sjemenke imaju najveći udio  $\beta$ -karotena. Sjemenke "*Cucurbita pepo*" ima znatno više  $\beta$ -sitosterola od ostalih (Kim i sur., 2012).

### 2.3.3. Kemijski sastav kore

Kora bundeve bogat je izvor antioksidativnih spojeva, minerala, vitamina i drugih sastojaka korisnih za ljudsko zdravlje (Salami i sur., 2021). U usporedbi s pulpom, dijelom koji se obično konzumira, kora ima značajne količine vlakana, kalcija i askorbinske kiseline (Staichok i sur., 2016). Kora vrste "*Cucurbita maxima*" ima značajno više ugljikohidrata i proteina od "*Cucurbita pepo*" i "*Cucurbita moschata*". Sve tri vrste imaju veću koncentraciju  $\beta$ -karotena u kori u odnosu na pulpu i sjemenke (Kim i sur., 2012). Važna komponenta kore je i pektin, za koji se pokazalo da aktivira rast nekoliko dobrih sojeva bakterija mliječne kiseline odnosno ponaša se kao prebiotik, dok s druge strane inhibira rast štetnih sojeva bakterija poput *Clostridium perfringens* i *Escherichia coli* (Jun i sur., 2006). Iako se često odbacuje prilikom prerade, proizvodnje ili konzumacije, kora sadrži mnogo više tokoferola i karotenoida nego pulpa, stoga može imati široku primjenu u medicini (Kim i sur., 2012).

## 2.4. ANALITIČKI POSTUPCI ODREĐIVANJA KEMIJSKOG SASTAVA

### 2.4.1. Gravimetrija

Gravimetrija se ubraja u kvantitativne analitičke metode, a temelji se na određivanju mase analita pomoću analitičke vage. Metoda ishlapljivanja i taložne metode su dvije glavne vrste gravimetrijskih analiza. Kod metode ishlapljivanja produkti razgradnje ili analit ishlape na prikladnoj temperaturi, te se potom hlapljivi produkt skuplja i važe ili se njegova masa može odrediti i posredno mjerenjem gubitka mase uzorka. Može se koristiti za određivanje udjela vlage i pepela direktnim vaganjem uzorka ili pri određivanju masti uz prethodnu ekstrakciju uzorka prikladnim otapalom. Sve gravimetrijske metode zahtijevaju pažljivo rukovanje s čistom aparaturom, te visoku preciznost i točnost prilikom vaganja (Skoog i sur., 2014; Fifield i Kealey, 2000).

#### *2.4.1.1. Određivanje udjela vlage*

Određivanje udjela vlage prehrambenom proizvodu jedna je od najvažnijih i najosnovnijih analiza, ali ujedno i među najtežim za dobivanje točnih i preciznih podataka. Dobivena analitička vrijednost od velike je ekonomske važnosti za proizvođače hrane (Bradley, 2009). Udio vode utječe na teksturu, okus, izgled i trajnost hrane. Prehrambeni proizvod s većim udjelom vode ima veći volumen i masu, što povećava troškove transporta, te je podložniji kvarenju, što povećava troškove skladištenja. Udio vode nije uvijek u svim dijelovima namirnice podjednak stoga, ovisno o temperaturi i relativnoj vlažnosti okoliša izlaganje hrane zraku može dovesti do gubitka ili vezanja vode. Metode za određivanje vode u uzorcima dijele se na fizikalne (indirektne i direktne) i kemijske metode. Pod indirektne fizikalne metode ubraja se određivanje mase prije i nakon sušenja, mjerenje električne vodljivosti (konduktometrija), mjerenje dielektrične konstante, mjerenje indeksa refrakcije i mjerenje spektara u bliskom infracrvenom području (Koprivnjak, 2014). Direktna fizikalna metoda je određivanje vode azeotropnom destilacijom. Kemijske metode podrazumijevaju titraciju Karl Fischerovim reagensom (Koprivnjak, 2014).

Najučestaliji postupak određivanja udjela vlage u namirnici zasniva se na sušenju uzorka poznate mase do konstantne mase u sušioniku pri 101 - 105 °C ili vakuum sušari pri 68 - 72 °C. Odabir metode analize vlage često je određen očekivanim udjelom vode, karakteristikama ostalih sastojaka hrane, dostupnom opremom, potrebnom točnošću i preciznošću te namjenom (Bradley, 2009).

#### *2.4.1.2. Određivanje udjela masti*

Lipidi koji se nalaze u namirnicama biljnog i životinjskog podrijetla su većinom esteri masnih kiselina i alkohola glicerola odnosno monogliceridi, digliceridi i trigliceridi (Min i Ellefson, 2009). Zajednička karakteristika svih lipida je podložnost saponifikaciji odnosno hidrolizi esterske veze lužinama, uz nastajanje soli masnih kiselina. Poznavanje udjela ukupne masti važno je kod proizvodnje i prerade hrane jer služi za procjenu prehrambene i tehnološke vrijednosti sirovina. Većina postupaka odjeljivanja i određivanja masti temelji se na njenoj topljivosti u organskim otapalima te netopljivosti u vodi. Stoga se udio ukupne masti najčešće određuje izravno gravimetrijski, nakon ekstrakcije iz hrane i uklanjanja otapala. Ukoliko je mast

vezana za bjelančevine i ugljikohidrate potrebno je provesti kiselinsku hidrolizu pri čemu mast u uzorku postaje dostupna otapalu, a ukoliko mast nije vezana dovoljno je uzorak osušiti i ravnomjerno usitniti radi postizanja veće dodirne površine između otapala i masti (Koprivnjak, 2014). Neke od metoda koje se koriste za određivanje udjela masti su: metoda po Soxhletu, po Grossfeldu, Weibull - Stoldtu i po Röse - Gottliebu. Uobičajena metoda koja se zbog svoje ekonomičnosti često koristi i koja je ujedno korištena u ovom radu je metoda po Soxhletu (Min i Ellefson, 2009). Zbog jednostavnosti same metode i aparature, mogućnosti korištenja male količine uzoraka, ova metoda je duže od stoljeća bila standardna metoda za ekstrakciju masti iz različitih uzoraka (López-Bascón i Luque de Castro, 2020). Bazira se na kontinuiranoj ekstrakciji u posebnoj aparaturi s odgovarajućim otapalom ili smjesom otapala. Uvjeti ekstrakcije ovise o prirodi otapala odnosno o sposobnosti otapanja i prodiranja u uzorak, veličini čestica i veličini površine koja je u kontaktu s otapalom kao i o samoj prirodi uzorka (brzina kojom pojedine komponente prelaze u otapalo i topljivosti pojedinih komponenti) (Min i Ellefson, 2009).

#### *2.4.1.3. Određivanje udjela pepela*

Sadržaj pepela predstavlja ukupni sadržaj mineralnih tvari u namirnicama biljnog ili životinjskog podrijetla. Pepeo se odnosi na anorganske ostatke koji ostaju nakon paljenja ili potpune oksidacije organske tvari u hrani. Metoda korištena u ovom radu temelji se na dobivanju pepela suhim putem korištenjem mufolne peći koja može održavati temperature od 500 do 1000 °C. Prilikom žarenja dolazi do isparavanja vode i hlapljivih tvari, a organske tvari sagorijevaju u prisutnosti kisika do ugljikovog dioksida i dušikovih oksida. Većina minerala pretvara se u okside, sulfate, fosfate ili kloride (Marshall, 2009).

#### *2.4.1.4. Određivanje udjela vlakana*

Prehrambena vlakna uključuju različite polisaharide, oligosaharide, lignin i s njima povezane biljne tvari. Budući da topljivost u vodi određuje njihova fiziološki funkcionalna svojstva dijele se u dvije u vrste: vlakna topiva u vodi i netopiva vlakna. Topiva prehrambena vlakna poput beta-glukana, pektina, inulina i ostalih oligofruktana imaju sposobnost vezanja vode i stvaranja strukture gela, a ujedno su podložna mikrobnoj razgradnji u crijevima i stvaranju

kratkolančanih masnih kiselina. Celuloza, hemiceluloza i rezistentan škrob pripadaju netopljivim prehrabrenih vlaknima, koji vežu na sebe vodu, pri čemu bubre i ubrzavaju prolaz hrane kroz gastrointestinalni sustav (Koprivnjak, 2014). Ovisno o stupnju zrelosti biljnog materijala prehrabrena vlakna se mogu mijenjati kvalitativno i kvantitativno (Roehrig, 1988). Metode za određivanje udjela vlakana dijele se na enzimsko-gravimetrijske metode i enzimsko-kemijske metode koje mogu uključivati kolorimetriju i tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (BeMiller, 2009).

#### 2.4.2. UV/Vis spektrofotometrija

Ultraljubičasta (UV) i vidljiva apsorpcijska (Vis) spektroskopija jedna je od najčešćih laboratorijskih metoda za analizu hrane budući da se mjerenja mogu izvoditi pri niskim koncentracijama analita. Temelji se na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava ispitivane tvari. UV-Vis spektroskopija može se podijeliti na apsorpcijsku i fluorescentnu spektroskopiju, koje se dalje dijele na kvalitativne i kvantitativne tehnike. Apsorpcijska spektroskopija je najupotrebljavanija tehnika u kvantitativnoj kemijskoj analizi zbog svoje široke primjenjivosti, velike osjetljivosti, prihvatljive točnosti, jednostavnosti i brzini izvođenja. Prikladna je za tvari koje apsorbiraju elektromagnetsko zračenje na valnim duljinama od 200 do 700 nm. Valna duljina UV dijela spektra je od 200 do 350 nm, a Vis od 350 do 700 nm (Penner, 2009).

Intezitet signala u UV-Vis spektru ovisi o sposobnosti analita da apsorbira svjetlost, duljini puta zrake kroz otopinu te o koncentraciji analita. U kvantitativnoj analizi odnos između apsorpcije i koncentracije analita pri mjerenoj valnoj duljini izražen je Lambert-Beerovim zakonom (1):

$$A(\lambda) = \varepsilon b c \quad [1]$$

Pri tome je  $A$  apsorpcija (bezdimezionalna veličina),  $\lambda$  je valna duljina mjerenja,  $\varepsilon$  molarni apsorpcijski koeficijent ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ),  $b$  je duljina puta zračenja kroz uzorak odnosno debljina kivete (cm), a  $c$  je množinska koncentracija uzorka ( $\text{mol L}^{-1}$ ). Apsorpcija pri mjerenoj valnoj duljini je direktno proporcionalna koncentraciji, odnosno što je veća apsorpcija to je veća koncentracija tvari. Lambert-Beerov zakon vrijedi samo za razrijeđene otopine gdje nema interakcije među otopljenim tvarima (Penner, 2009).

Spektrofotometar je uređaj koji se koristi kod UV-Vis spektrofotometrije, a sastoji se od izvora zračenja, selektora valnih duljina (monokromator), spremnika za uzorak (kiveta),

detektora i procesora signala. Za vidljivi dio spektra kao izvor zračenja upotrebljava se lampa s volframovom niti, dok se za ultraljubičasti dio spektra upotrebljava deuterijeva lampa. Također za vidljivi dio spektra koriste se staklene kivete, a budući da staklo ne propušta UV zračenje za UV dio spektra se koriste kivete od kvarca.

Ukoliko analit ne apsorbira ili apsorbira vrlo slabo elektromagnetsko zračenje potrebno je upotrijebiti kromogene reagense, odnosno tvari koje u reakciji s analitom daju novu kemijsku vrstu koja apsorbira u UV-Vis području. Primjer kromogenih reagensa su bakrov sulfat koji se može koristiti kod određivanja ukupnih proteina i fenol koji se može koristiti kod određivanja ukupnih šećera (Penner, 2009).

#### *2.4.2.1. Određivanje udjela proteina*

Proteini imaju veliku značajnost za proizvođače i potrošače jer su izvor esencijalnih aminokiselina, mogu utjecati na teksturu tkiva, nositelji su tehnološki funkcionalnih svojstava važnih u proizvodnji hrane i mogu djelovati kao alergeni. Proteini iz različitih izvora razlikuju se po sastavu i zastupljenosti pojedinih aminokiselina, a udio ukupnih proteina većinom se određuje indirektno određivanjem udjela dušika u uzorku hrane. Neke od najčešće korištenih metoda za određivanje dušika u hrani su metoda po Dumasu odnosno suho spaljivanje namirnice u struji kisika i metoda po Kjeldahu odnosno vlažno spaljivanje namirnice (Koprivnjak, 2014). Udio proteina u hrani može se određivati i uz pomoć reakcija koje se temelje na taloženju ili promjeni boje, a neke od njih su biuret reakcija, primjena azo bojila, ksantoproteinska reakcija, Sørensenova formolna titracija i elektroforeza.

Metoda korištena u ovom radu je Biuret metoda, koja se zasniva na reakciji peptidne veze s bakrovim ionima u lužnatim uvjetima pri čemu dolazi do razvoja ljubičastog obojenja reakcijske smjese. Intenzitet obojenja proporcionalan je udjelu proteina u uzorku, a određuje se spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije pri 540 nm (Chang, 2009).

#### *2.4.2.2. Određivanje udjela šećera*

Postupak određivanja udjela šećera uključuje ekstrakciju šećera iz hrane i pročišćavanje ekstrakta ovisno o tipu analize koja će se provesti. U većini slučajeva hranu je potrebno osušiti, usitniti (kako bi se omogućio veći kontakt između hrane i otapala), ukloniti masti organskim

otapalima te na kraju ukloniti otapalo. U pročišćenom ekstraktu udio šećera se može odrediti fizičkim, kemijskim (kolorimetrijski, gravimetrijski i titrimetrijski), kromatografskim, enzimskim i imunološkim metodama. Kolorimetrijska metoda se temelji na kemijskoj reakciji šećera sa različitim reagensima, pri čemu se razvija karakteristično obojenje otopine i potom se mjeri apsorbancija spektrofotometrijski (Koprivnjak, 2014).

U ovom radu za određivanje udjela šećera koristio se fenol kao specifični organski reagens i koncentrirana sumporna kiselina. Redukcija šećera mjerila se pomoću UV/Vis spektrofotometra pri valnoj duljini od 490 nm.

## **2.5. EKSTRAKCIJA SPOJEVA**

Ekstrakcija je brza i pouzdana metoda koja se često upotrebljava prilikom izolacije prirodnih produkata. Temelji se na prijenosu tvari iz krute ili tekuće faze u neko otapalo, odnosno ekstrakcija tvari iz smjese se provodi na principu njene različite topljivosti u različitim otapalima koja se ne miješaju (Lianfu i Zelong, 2008). Među konvencionalne tehnike ubraja se destilacija, maceracija, refluksiranje te Soxhlet ekstrakcija. Zbog potrebe za smanjenjem vremena ekstrakcije, poboljšanjem kvalitete ekstrakta i za smanjenjem upotrebe otapala došlo je do razvoja nekonvencionalnih metoda ekstrakcije. One obuhvaćaju ekstrakciju superkritičnim fluidima, turbo-ekstrakciju, ekstrakciju s električnom energijom i ekstrakciju potpomognutu ultrazvukom (Eskilsson i Bjorklund, 2000).

Ekstrakcijske metode korištene u ovom radu su refluksiranje, Soxhlet ekstrakcija i ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija, a njihov pobliži opis prikazan je u poglavljima 2.5.1., 2.5.2. i 2.5.3.

### **2.5.1. Refluksiranje**

Refluksiranje pripada konvencionalnim metodama ekstrakcije, a provodi se zagrijavanjem tikvice koja je vertikalno spojena na povratno hladilo. U tikvici je uronjen uzorak s određenom količinom otapala. Tikvica se zagrijava do temperature vrenja otapala, a otapalo koje pri tome isparava odlazi u povratno hladilo te se kondenzira u tekućinu i kapa nazad u tikvicu. Na kraju procesa ekstrahirani materijal se odvaja od otapala filtracijom. Ova metoda se koristi za ekstrakciju termo stabilnih sastojaka, a mogu se koristiti uzorci od nekoliko grama ili

nekoliko desetaka kilograma. Prednost refluksiranja je velika efikasnost ekstrakcije, ali zbog upotrebe velikih količina otapala i dugotrajnog vremena ekstrakcije sve se više zamjenjuje nekonvencionalnim metodama (Liu, 2011).

### 2.5.2. Soxhlet ekstrakcija

Metoda po Soxhletu jedna je od najčešće korištenih metoda određivanja ukupne masti u hrani (opisano u poglavlju 2.4.1.2.) ekstrakcijom pomoću organskih otapala. Metoda je pogodna za čvrste, suhe i usitnjene uzorke kod kojih mast nije vezana niti blokirana. Prije početka ekstrakcije uzorak je potrebno odvagati i osušiti u celuloznoj čahuri, ista se potom zatvara vatom i smješta u srednji dio Soxhletove aparature (ekstraktor) koji se potom spaja s hladilom i tikvicom. Prethodno se tikvica ohladi i izvaže. Otapalo se zatim uz pomoć lijevka ulijeva kroz hladilo dok se ekstraktor ne napuni i pomoću kapilarne cjevčice isprazni u tikvicu. U vodenoj ili pješčanoj kupelji tikvica se s otapalom zagrijava, dok otapalo ne počne isparavati, kondenzirati se u hladilu i kapati na čahuru u ekstraktoru. Nadalje, nakon što se ekstraktor napuni, otapalo se s otopljenom masti prelijeva natrag u tikvicu. Ciklusi punjenja i pražnjenja ekstraktora se ponavljaju dok čahura u ekstraktoru ne ostane bez otapala. U tikvici ostane ekstrahirana mast iz uzorka, a otapalo se iz otopine u tikvici ukloni uparavanjem ili destilacijom. Sadržaj masnoće mjeri se gubitkom težine uzorka ili masom ekstrahirane masti (Min i Ellefson, 2009; Koprivnjak, 2014).

Osnovni nedostaci ove metode su dugo trajanje (10 do 24 h), zagađenje okoliša zbog velike potrošnje organskih otapala te ekstrahirani spojevi moraju biti stabilni na temperaturi vrenja otapala. Iskorištenje Soxhlet ekstrakcije je od 50 do 100 % ovisno o ekstrahiranom spoju. Pored konvencionalne Soxhlet metode danas se još koriste i Soxhlet ekstrakcija pri povišenom tlaku, automatizirana Soxhlet ekstrakcija, Soxhlet ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom i Soxhlet ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima. Problem velike količine otapala pokušao se riješiti uporabom automatizirane Soxhlet ekstrakcije, ali taj volumen je još uvijek velik (od 50 do 100 mL), a trajanje ekstrakcije dugo (López-Bascón i Luque de Castro, 2020).

### 2.5.3. Ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija

Nekonvencionalna ekstrakcijska tehnika poput ekstrakcije ultrazvukom jedna je od novijih metoda koja omogućuje jednostavnije rukovanje, te smanjenu upotrebu otapala. Ova



tehnika osigurava veći prinos ekstrahiranih sastojaka, poput bioaktivnih tvari i mikronutrijenata, zadržavajući pritom njihova izvorna svojstva. Zbog navedenih karakteristika sve je veća primjena ultrazvukom potpomognute ekstrakcije u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji.

S obzirom na primjenu, ultrazvuk se može podijeliti na ultrazvuk niskog intenziteta i ultrazvuk visokog intenziteta. U frekvencijskom rasponu od 2 do 10 MHz djeluje ultrazvuk niskog intenziteta. Smatra se neinvazivnom tehnikom jer ne uzrokuje fizička oštećenja materijala niti kemijske promjene ispitivanog medija. Koristi se u analitičke svrhe za određivanje sastava, strukture ili viskoznosti hrane (Povey i Mason, 1998)

Ultrazvuk visokog intenziteta djeluje u frekvencijskom rasponu od 20 do 100 kHz, a područje od 20 do 40 kHz ima najefikasnije djelovanje te se zbog toga većina istraživanja koristi tim frekvencijskim rasponom. Prilikom obrade uzorka ultrazvukom visokog intenziteta nastaju longitudinalni valovi stoga dolazi do izmjene ciklusa kompresije i ekspanzije tlaka. Zbog takvog izmjenjivanja tlaka nastaje kavitacija, nakon čega se formiraju mjehurići plina u uzorku. Ukoliko energija ultrazvuka nije dovoljna za zadržavanje plinske faze u mjehuriću dolazi do brze kondenzacije. Kondenzirane molekule se sudaraju velikom brzinom i počinju se stvarati šok valovi. Nastali šok valovi uzrokuju područja visokog tlaka (do 100 MPa) i vrlo visoke temperature (do 5500 K). Sposobnost ultrazvuka da izazove stabilne kavitacije ovisi o frekvenciji i intenzitetu ultrazvuka, karakteristikama uzorka poput viskoznosti, gustoći i površinskoj napetosti te okolišnim uvjetima (Brnčić i sur., 2009).

Tijekom tretiranja materijala ultrazvukom kavitacija uzrokuje bubrenje stanica i probijanje staničnih stijenki. To omogućuje lakše prodiranje otapala u stanice materijala, odnosno veću brzinu difuzije otapala i otpuštanje željenih sastojaka kroz staničnu stijenku. Na takav način dolazi do ubrzavanja ekstrakcije i povećavanja njene efikasnosti. Kako bi se spriječila neželjena razgradnja kemijskih sastojaka u ekstrahiranom materijalu i postigli maksimalni rezultati, potrebno je optimizirati vrijeme obrade uzorka, izbor otapala i samu snagu ultrazvuka (Wang i Weller, 2006).

Ultrazvučne kupelji su uređaji kod kojih su elementi pretvornika smješteni na dnu spremnika, a većina kupelji radi pri frekvenciji od 20 do 40 kHz. Zbog svoje lake dostupnosti i cjenovne pristupačnosti često se koriste u laboratorijima (Brnčić i sur., 2009).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

U ovom radu korištena je bundeva vrste “*Cucurbita maxima*“, narodnog naziva “Prinčeva kruna“ dobivena od OPG-a Šulog Dejan (Veliki Zdenci, Hrvatska). Kora bundeve i sjemenke su samljevene pomoću sjeckalice za hranu, a pulpa usitnjena pomoću štapnog miksera. Svi uzorci su čuvani u falcon kivetama, na temperaturi od 4 °C u hladnjaku tijekom 30 min, nakon čega je uslijedila njihova ekstrakcija i analiza.

#### **3.2. KEMIKALIJE**

- Bakrov sulfat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Bovin serum albumin, BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Destilirana voda (Zagreb, Hrvatska)
- Fenol (Acros organics, Geel, Belgija)
- Glukoza monohidrat (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Kalij natrij tartarat (Alkaloid, Skopje, Makedonija)
- Kalijev jodid (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev hidroksid (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- Petroleter (Carlo Erba Reagents S.A.S., Francuska)
- Sumporna kiselina (VWR Chemicals, Pennsylvania, SAD)

#### **3.3. PRIBOR**

- Aluminijske posudice
- Automatska pipeta volumena 100 - 1000 µL (DLAB, Beijing, Kina)
- Boca sisaljka
- Boce za čuvanje otopina od 500 mL
- Celulozne čahure (tuljci)

- Eksikator sa silika gelom
- Erlenmeyerove tikvice s brušenim grlom 250 mL
- Falcon kivete za čuvanje uzoraka 50 mL
- Filter papir
- Gooch lončići
- Kapaljka
- Kivete
- Laboratorijska žlica
- Magnet
- Menzure od 10, 25, 50 i 100 mL
- Metalni prsten
- Mufa
- Nastavci za pipete
- Odmjerne tikvice od 10, 25, 50, 100 i 200 mL
- Pinceta
- Plamenik
- Porculanske zdjelice
- Povratno hladilo
- Satno staklo
- Staklene čaše od 50,100 i 500 mL
- Stakleni lijevci
- Stakleni štapići
- Stezaljka
- Tikvice s okruglim dnom od 250 mL
- Tronožac
- Željezni stativ

### **3.4. APARATURA**

- Analitička vaga (JOBST, Samobor, Hrvatska)
- Centrifuga (Tehtnica, Železnik, Slovenija)
- Magnetska mješalica (IKA, RH basic 2, Boutersem, Belgija)

- Mufolna peć (Model Heraew)
- Soxhlet ekstraktor
- Sušionik (Instrumentaria, Zagreb, Hrvatska)
- Ultrazvučna vodena kupelj (Elmasonic, P300H, Elma, Njemačka)
- UV/Vis Spektrofotometar (Perkin-Elmer, Lambda 25, Massachusetts, USA)
- Vodena kupelj za Soxlet ekstrakciju (Inka, Zagreb, Hrvatska)
- Vorteks (Metron, Zagreb, Hrvatska)

### 3.5. METODE RADA

#### 3.5.1. Određivanje sadržaja vlage u uzorcima bundeve i nusproizvoda

U prethodno osušenu i izvaganu aluminijsku posudicu s poklopcem, odvaž se po 3 grama uzorka (svježa bundeva, kora i sjemenke bundeve). Posudica s uzorkom stavlja se u sušionik na temperaturu od 105 °C te se suši do konstantne mase. Potom se hladi u eksikatoru 1 sat, a zatim ponovno važe. Udio vlage u uzorku izračunava se prema formuli 2:

$$w \text{ (vode)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad [2]$$

gdje je  $m_1$  - masa prazne aluminijske posudice (g),  $m_2$  - masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g) i  $m_3$  - masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g).

#### 3.5.2. Određivanje sadržaja masti u uzorcima bundeve i nusproizvoda

U odmašćenu, papirnatu čahuru odvaž se 3 g prethodno osušenog uzorka svježe bundeve, kore i sjemenki bundeve (poglavlje 3.5.1). Čahura se pokrije slojem suhe vate i stavi u srednji dio Soxhletove aparature (ekstraktor). Zatim se ekstraktor spoji s hladilom i tikvicom, koja je prethodno osušena (na 105 °C), ohlađena i izvagana. Uz pomoć lijevka kroz hladilo se ulijeva petroleter toliko da se ekstraktor napuni i pomoću kapilarne cjevčice isprazni u tikvicu. Tikvica se puni otapalom odnosno petroleterom do  $\frac{3}{4}$  njena volumena. Potom se u vodenoj

kupelji tikvica s otapalom zagrijava, a ekstrakcija se odvija pri temperaturi ključanja otapala (slika 1). Ekstrakcija se ponavlja do postizanja konstantne mase, približno 8 sati uz protok 2-3 kapi/s.

Nakon završetka ekstrakcije tikvica s ekstraktom se suši 30 minuta pri 105 °C, hladi u eksikatoru do sobne temperature i važe. Udio masti u uzorku izračunava se prema formuli 3:

$$w \text{ (masti)} = \frac{m_2 - m_1}{m} \cdot 100 \quad [3]$$

gdje je  $m_1$  - masa prazne tikvice (g),  $m_2$  - masa tikvice i ekstrahirane masti (g) i  $m$  - masa uzorka uzetog za analizu (g).



**Slika 1.** Soxhlet ekstrakcija (*vlastita fotografija*)

### 3.5.3. Određivanje sadržaja pepela u uzorcima bundeve i nusproizvoda

Prazna porculanska zdjelica se žari u mufolnoj peći na 600 °C tijekom 1 sata, potom hladi u eksikatoru (1 sat) i važe. U porculansku zdjelicu stavlja se 1 g odvaganog uzorka (svježa bundeva, kora i sjemenke bundeve). Zdjelica s uzorkom stavlja se u mufolnu peć na 600 °C i žari 4 sata. Tijekom perioda žarenja uzorak se pretvara u bijeli pepeo. Nakon žarenja zdjelica

sa sadržajem se hladi u eksikatoru 1 sat, te se važe. Udio pepela u uzorku izračunava se prema formuli 4:

$$w (\text{pepeo}) = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \cdot 100 \quad [4]$$

gdje je  $m_1$  - masa uzorka uzetog za analizu (g),  $m_2$  - masa prazne porculanske zdjelice (g) i  $m_3$  - masa porculanske zdjelice i pepela (g).

#### 3.5.4. Određivanje sadržaja vlakana u uzorcima bundeve i nusproizvoda

U Erlenmeyerovu tikvicu s brušenim grlom odvaže se 2 g prethodno odmašćenog uzorka (svježa bundeva, kora i sjemenke bundeve). Zatim se doda 200 mL 0,255 mol L<sup>-1</sup> sumporne kiseline, refluksira 1 sat i filtrira preko Gooch-ijeva lončića. Talog koji je zaostao ispire se nekoliko puta s kipućom vodom, vrati u Erlenmeyerovu tikvicu, doda 200 mL 0,313 mol L<sup>-1</sup> natrijevog hidroksida te ponovo refluksira 1 sat. Otopina se potom profiltrira preko Gooch-ijeva lončića, a zaostali talog ispire nekoliko puta s vrućom vodom. Gooch-ijev lončić s talogom suši se 24 sata na 105 °C, zatim spaljuje 4 sata u mufolnoj peći na 600 °C i na kraju hladi u eksikatoru, te važe. Udio vlakana u uzorku izračunava se prema formuli 5:

$$w (\text{vlakna}) = \frac{m_2 - m_1}{m} \cdot 100 \quad [5]$$

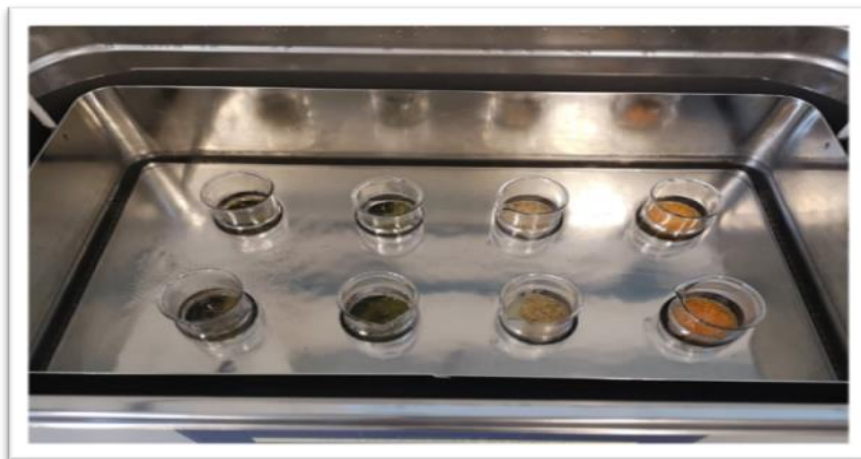
gdje je  $m_1$  - masa Gooch lončića,  $m_2$  - masa Gooch lončića s odmašćenim uzorkom nakon spaljivanja i  $m$  - masa odmašćenog uzorka uzetog za analizu.

#### 3.5.5. Priprema ekstrakata bundeve i nusproizvoda

U svrhu pripreme ekstrakata za određivanje šećera i proteina korištena je ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija. Za određivanje udjela proteina odvagano je 1 g uzorka (svježa bundeva, kora i sjemenke bundeve) u staklenu čašu od 50 mL, te je dodano 30 mL fosfatnog pufera (pH= 7) kao ekstrakcijskog sredstva. Poslije kratkog miješanja na vorteksu, čaša sa

uzorkom, fosfatnim puferom i magnetom je stavljena u ultrazvučnu kupelj (slika 2) nakon postavljanja slijedećih ekstrakcijskih parametara:

- nepromjenjive varijable: temperatura 50 °C, frekvencija 37 kHz i snaga 100 %
- promjenjive varijable: vrijeme 10, 20 i 40 min



**Slika 2.** Uzorci u ultrazvučnoj kupelji (Elmasonic, P300H, Elma, Njemačka) (*vlastita fotografija*)

Nakon završetka ekstrakcije čaša sa smjesom uzorak/ekstrakcijsko sredstvo je izvađena iz ultrazvučne kupelji i ostavljena da se ohladi na sobnoj temperaturi. Potom su uzorci profiltrirani kroz obični filter papir u falcon kivete koje su čuvane u hladnjaku na temperaturi od 4 °C tijekom 24 h.

Prilikom pripreme ekstrakata za određivanja udjela šećera postupak je isti kao i za određivanje udjela proteina, osim što su uzorci (svježa bundeva, kora i sjemenke bundeve) ekstrahirani u 30 mL deionizirane vode.

### 3.5.6. Određivanje proteina u uzorcima bundeve i nusproizvoda

#### 3.5.6.1. Priprema otopina

- Biuret reagens: otopljeno je 1,8 g KNa tartarata, 1,6 g NaOH, 0,6 g CuSO<sub>4</sub> i 1,8 g KI u deioniziranoj vodi, u odmjerne tikvici od 200 mL.

- Otopina bovin serum albumina (BSA) standarda ( $\gamma = 20 \text{ mg mL}^{-1}$ ): otopljeno je 0,4700 g BSA u deioniziranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 25 mL.

### 3.5.6.2. Postupak određivanja ukupnih proteina

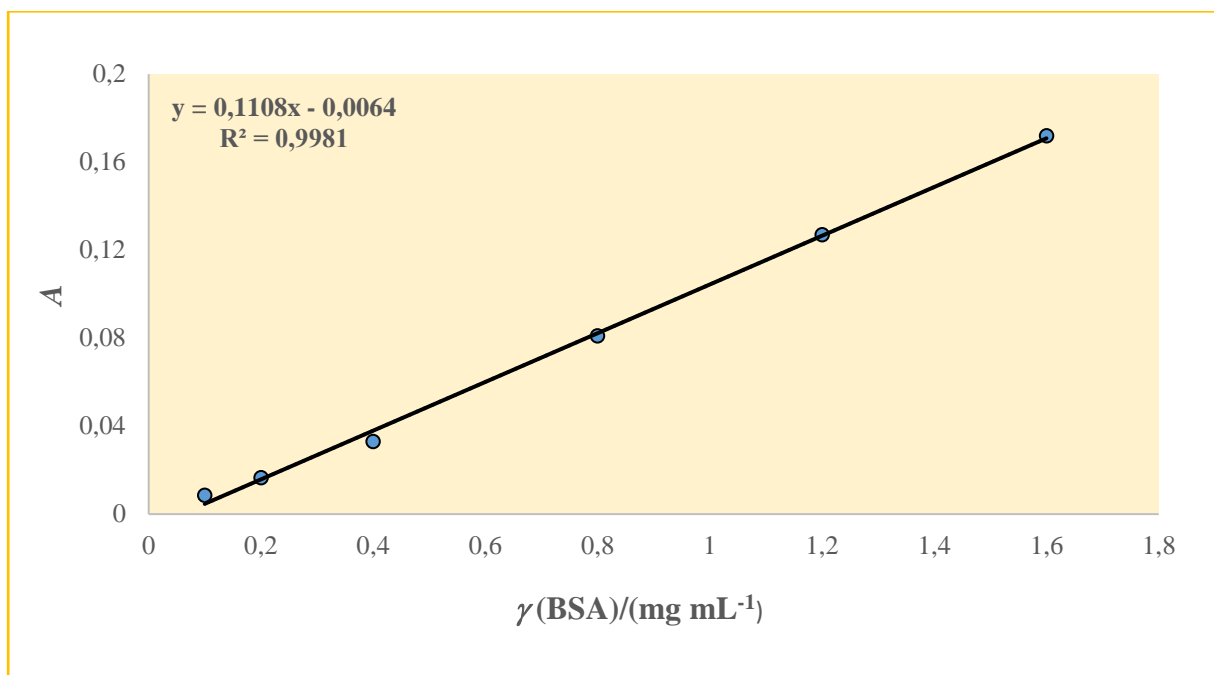
Za izradu baždarnog dijagrama pripremljene su pojedinačne standardne otopine BSA ( $\gamma = 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,2$  i  $1,6 \text{ mg mL}^{-1}$ ) tako da su alikvoti od 0,125; 0,25; 0,5; 1; 1,5 i 2 mL ishodne otopine BSA ( $\gamma = 20 \text{ mg mL}^{-1}$ ) otpipetirani u odmjerne tikvice od 25 mL, koje su potom razrijeđene deioniziranom vodom do oznake. Zatim se iz ovako priređenih pojedinačnih standardnih otopina otpipetira po 3 mL alikvota u odmjerne tikvice, te se doda 3 mL Biuret reagensa. Nakon toga se otopine homogeniziraju na vorteksu i stavljaju na tamno mjesto 30 minuta, pri sobnoj temperaturi. Potom im se izmjeri apsorbancija na UV/Vis spektrofotometru pri valnoj duljini od 540 nm (tablica 1). Iz izmjerenih apsorbancija pripremljenih standardnih otopina i masenih koncentracija otopine BSA izradi se baždarni dijagram (slika 3), a iz dobivene jednadžbe pravca izračuna se koncentracija, odnosno maseni udio ukupnih proteina u uzorcima.

**Tablica 1.** Masene koncentracije individualnih standardnih otopina bovin serum albumina (BSA) i pripadajućih vrijednosti apsorbancija izmjerenih spektrofotometrom pri valnoj duljini od 540 nm

Standardna otopina	$\gamma(\text{BSA})/(\text{mg mL}^{-1})$	$A \pm \text{SD}$
1	0,1	$0,009 \pm 0,001$
2	0,2	$0,017 \pm 0,001$
3	0,4	$0,033 \pm 0,001$
4	0,8	$0,081 \pm 0,001$
5	1,2	$0,127 \pm 0,001$
6	1,6	$0,172 \pm 0,001$

A - apsorbancija; SD - standardna devijacija





**Slika 3.** Baždarni dijagram BSA

Slijepa proba se priprema na isti način, ali umjesto 3 mL standarda uzima se 3 mL deionizirane vode.

Za određivanje ukupnih proteina u uzorcima svježe bundeve (pulpe) i kore bundeve otpipetirano je po 3 mL filtriranih ekstrakata (opisano u poglavlju 3.5.5.) kojima je dodano 3 mL Biuret reagensa.

Kod uzoraka kore ekstrahiranih 40 minuta, 1 mL filtriranog ekstrakta je otpipetiran u odmjernu tikvicu od 10 mL, a zatim je tikvica razrijeđena deioniziranom vodom do oznake. Iz tako razrijeđenih otopina otpipetira se po 3 mL alikvota, kojima se doda i 3 mL Biuret reagensa.

Kod određivanja sadržaja proteina u sjemenkama, ultrazvukom ekstrahirani i filtracijom dobiveni ekstrakti su još i centrifugirani 20 minuta na 3000 okretaja u minuti. Nakon završetka centrifugiranja ekstrakti su filtrirani, a potom je 1 mL filtrata otpipetiran u odmjernu tikvicu od 10 mL, koja je potom razrijeđena deioniziranom vodom do oznake. Iz ovako priređenih otopina otpipetira se po 3 mL alikvota kojima se doda 3 mL Biuret reagensa.

### 3.5.7. Određivanje šećera u uzorcima bundeve i nusproizvoda

#### 3.5.7.1. Priprema otopina

- Otopina glukoze ( $\gamma = 2000 \text{ mg L}^{-1}$ ): otopljeno je 100 mg glukoze u deioniziranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 50 mL.
- Otopina fenola ( $w = 5 \%$ ,  $w/v$ ): otopljeno je 2,5 g fenola u deioniziranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 50 mL.

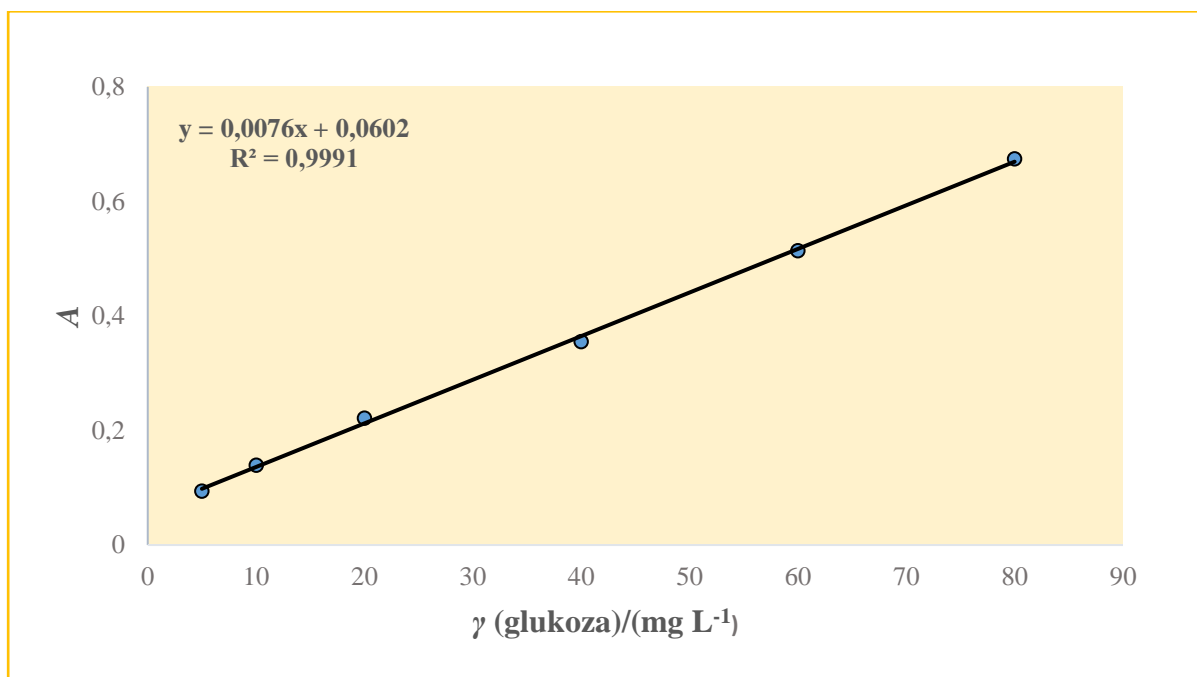
### 3.5.7.2. Postupak određivanje ukupnih šećera

Za izradu baždarnog dijagram iz pripremljene ishodne standardne otopine glukoze ( $\gamma = 2000 \text{ mg L}^{-1}$ ) priređene su individualne standardne otopine (5, 10, 20, 40, 60 i 80  $\text{mg L}^{-1}$ ) u odmjernim tikvicama od 100 mL nadopunjavanjem s deioniziranom vodom. Potom se iz pojedinačnih standardnih otopina otpipetira po 1 mL alikvota u odmjerne tikvice (10 mL), te doda 1 mL 5 %-tne otopine fenola i 5 mL koncentrirane sumporne kiseline. Nakon što se otopina homogenizira na vorteksu, stavi se zagrijavati 5 minuta u vodenoj kupelji uz ključanje. Zatim se hladi 10 minuta u posudi s ledom i potom ostavi na tamnom mjestu 30 minuta na sobnoj temperaturi. Ovako pripremljenim otopinama (zlatno-žuta boja) izmjeri se apsorbancija pri 490 nm pomoću UV/Vis spektrofotometra (tablica 2). Iz izmjerenih apsorbancija pripremljenih standardnih otopina i masenih koncentracija otopine glukoze izradi se baždarni dijagram (slika 4), a iz dobivene jednadžbe pravca izračuna se koncentracija, odnosno maseni udio ukupnih šećera u uzorcima.

**Tablica 2.** Masene koncentracije individualnih standardnih otopina glukoze i pripadajućih vrijednosti apsorbancija izmjerenih spektrofotometrom pri valnoj duljini od 490 nm

Standardna otopina	$\gamma$ (glukoza)/( $\text{mg L}^{-1}$ )	$A \pm \text{SD}$
1	5	$0,094 \pm 0,015$
2	10	$0,139 \pm 0,000$
3	20	$0,221 \pm 0,007$
4	40	$0,355 \pm 0,004$
5	60	$0,514 \pm 0,005$
6	80	$0,674 \pm 0,002$

A - apsorbancija; SD - standardna devijacija



**Slika 4.** Baždarni dijagram glukoze

Slijepa proba se priprema na isti način, s time da se umjesto 1 mL standarda uzima 1 mL deionizirane vode. Za određivanje nepoznatih masenih koncentracija ukupnih šećera u uzorcima svježe bundeve, kore i sjemenki umjesto 1 mL pojedinačne standardne otopine uzet je 1 mL razrijeđenih filtriranih ekstrakata, dobivenih ultrazvukom potpomognutom ekstrakcijom (opisno u poglavlju 3.5.5.). Za uzorke svježe bundeve i uzorke kore 1 mL filtriranog ekstrakta je otpipetiran u odmjerne tikvice od 25 mL, koje su potom nadopunjene s deioniziranom vodom do oznake. Kod uzorka sjemenki 1 mL filtriranog ekstrakta je otpipetiran u odmjernu tikvicu od 50 mL, koja je potom razrijeđena deioniziranom vodom do oznake. Iz ovako priređenih otopina otpipetira se po 1 mL alikvota te potom doda 1 mL 5 %-tne otopine fenola i 5 mL koncentrirane sumporne kiseline.

### 3.6. OBRADA PODATAKA

Dobiveni rezultati obrađeni su pomoću programa Microsoft Excel (2019) te su prikazani kao srednja vrijednost triju paralelnih mjerenja ± standardna devijacija (SD).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

Bundeve je nutritivno bogata, a energetska siromašna namirnica te kao takva ima blagotvoran učinak na zdravlje. Sadržaj hranjivih tvari znatno se razlikuje među dijelovima bundeve, a ovisi o sorti, klimatskim uvjetima rasta i stupnjem zrelosti.

Cilj ovog rada bio je odrediti kemijski sastav svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki bundeve "*Cucurbita maxima*".

Sadržaj vlage, masti, pepela i vlakana u uzorcima određen je gravimetrijskom metodom. Kod određivanja sadržaja proteina i šećera u uzorcima korištena je ultrazvukom potpomognuta ekstrakcija (UAE). UAE je provedena pri temperaturi od 50 °C, frekvenciji 37 kHz i snazi 100 % te vremenu od 10, 20 i 40 minuta. Budući da je ekstrakcija provedena pri različitim vremenima praćen je utjecaj tog parametra na prinos proteina i šećera iz ekstrahiranih uzoraka. Njihov udio određen je metodom UV/Vis spektrofotometrije.

Iz dobivenih vrijednosti određivanih analita izračunate su srednje vrijednosti i standardna devijacija, a rezultati su prikazani u tablicama 3-8 i slika 5.

### 4.1. SADRŽAJ VLAGE U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA

Sadržaj vlage u uzorcima svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki određen je gravimetrijskom metodom sušenja. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 3.

**Tablica 3.** Udio vlage u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

<b>w (vlaga)/% ± SD</b>		
<b>Pulpa</b>	<b>Kora</b>	<b>Sjemenke</b>
93,99 ± 0,11	86,78 ± 0,53	9,66 ± 0,56

SD - standardna devijacija

Nakon 14 sati sušenja svježe bundeve i kore te 16 sati uzoraka sjemenki rezultati su pokazali da se dobivene vrijednosti kreću u rasponu od 9,66 do 93,99 %. Najveći udio vlage od

93,99 % ima pulpa bundeve. Nešto nižu vrijednost vlage od 92,70 % dobivaju Márquez Cardozo i suradnici (2021), a Kim i suradnici (2012) 84,04 %. Visoki udio vode u pulpi čini bundevu podložnu razvoju patogenih mikroorganizama, pa kako bi se spriječilo njeno kvarenje bundeva se podvrgava sušenju i dobivanju brašna.

Pored pulpe, veliki udio vlage od 86,780 % ima i kora “*Cucurbite maxima*“. Vrlo slični udio vlage od 86,01 % dobivaju Márquez Cardozo i suradnici (2021), dok Kim i suradnici (2012) dobivaju nešto nižu vrijednost od 75,68 %.

U odnosu na pulpu i koru najniže vrijednosti vlage od 9,66 % imaju sjemenke bundeve. Dobivena vrijednost je nešto viša u odnosu na istraživanje Rezig i suradnika (2012) i Habib i suradnika (2015) koji dobivaju vrijednosti od 8,46 % i 4,06 %. Kim i suradnici (2012) pronalaze još nižu vrijednost vlage u sjemenkama od 2,75 %. Važno je poznavati udio vode u sjemenkama jer povećana vlažnost može izazvati biokemijske promjene koje dovode do smanjenje kakvoće sjemena i povećavanja troškova skladištenja i prerade (Rade i sur., 2001).

Razlike između dobivenih vrijednosti za vlagu u ovom radu i drugih istraživanja mogu se objasniti razlikama u klimatskim uvjetima rasta i razvoja sorte te i samim stupnjem zrelosti bundeve i njenih dijelova (Márquez Cardozo i sur., 2021).

#### 4.2. SADRŽAJ MASTI U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA

Udio masti u uzorcima svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki određen je Soxhlet ekstrakcijom u trajanju od 8 sati. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 4.

**Tablica 4.** Udio masti u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

<b>w (mast)/% ± SD</b>		
<b>Pulpa</b>	<b>Kora</b>	<b>Sjemenke</b>
1,55 ± 0,10	3,24 ± 0,17	21,44 ± 0,61

SD - standardna devijacija

Najmanji udio masti od 1,55 % dobiven je u uzorcima svježe bundeve (pulpe). Sličnu vrijednost od 1,40 % dobivaju Amin i suradnici (2019), dok su Kim i suradnici (2012) zabilježili

vrijednost od 0,42 %. Prema USDA prosječni udio masti u pulpi je 0,1 g na 100 g sirove bundeve (0,1 %), što je slično rezultatima istraživanja Márquez Cardozo i suradnika (2021) koji su dobili vrijednost od 0,173 %. Niski udio masti, a visoki udio vode doprinosi niskoj kalorijskoj vrijednosti pulpe i čini je prikladnom namirnicom za kontrolu tjelesne težine.

U odnosu na pulpu, nešto veći udio masti od 3,24 % ima kora bundeve. Amin i suradnici (2019) dobivaju manju vrijednost od 1,65 %, kao i Kim i suradnici koji dobivaju vrijednost od 0,87 %.

Očekivano najveći sadržaj masti (21,44 %) nalazi se u sjemenkama bundeve. U istraživanju Amin i suradnika (2019) dobivena je slična vrijednosti kao i u ovom radu, a iznosi 23,45 %. S druge strane znatno viši udio masti od 52,43 % dobivaju Kim i suradnici (2012), dok Rezig i suradnici (2012) dobivaju vrijednost od 31,57 %. Udio masnih kiselina u sjemenkama "*Cucurbita maxima*" iznosi do 50 % ukupne mase sjemenki, a prevladavaju nezasićene kratkolančane masne kiseline (Lemus-Mondaca i sur., 2019).

Varijacije u udjelima masti među istraživanjima mogu se pripisati razlikama u sorti bundeve, fazama zrenja, klimatskim uvjetima te korištenim metodama ekstrakcije (Nyam i sur., 2009).

#### 4.3. SADRŽAJ PEPELA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA

Udio pepela u namirnicama se odnosi na anorganske ostatke, odnosno mineralne tvari, koje ostaju nakon spaljivanja ili potpune oksidacije organske tvari u hrani (Marshall, 2009). Sadržaj pepela u uzorcima svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki određen je gravimetrijskom metodom žarenja u mufolnoj peći, pri 600 °C u vremenskom periodu od 4 sata. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 5.

**Tablica 5.** Udio pepela u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

<b>w (pepeo)/% ± SD</b>		
<b>Pulpa</b>	<b>Kora</b>	<b>Sjemenke</b>
0,55 ± 0,07	0,97 ± 0,05	2,75 ± 0,18

SD - standardna devijacija

Prema USDA prosječni udio pepela u pulpi bundeve je 0,8 g na 100 g sirove bundeve (0,8 %), što je nešto više u odnosu na vrijednost od 0,55 % dobivenu u ovom istraživanju. Kim i suradnici (2012) također su zabilježili dvostruko veći udio pepela u pulpi od 1,05 %. S druge strane rezultati dobiveni istraživanjem Márquez Cardozo i suradnika (2021) ukazuju da je udio pepela u svježoj bundevi sličan (0,64 %) rezultatima ovog istraživanja.

Dobiveni rezultati pokazuju da udio pepela u kori bundeve iznosi 0,97 %, što je neznatno viša vrijednost u odnosu na istraživanje Márquez Cardozo i suradnika (2021) koji dobivaju udio od 0,83 %. Prema rezultatima Kim i suradnika (2012) sadržaj pepela u kori iznosi 1,12 %, dok Amin i suradnici (2019) pronalaze značajno veći udio od 7,32 %. Dakle, uočene razlike među dobivenim vrijednostima za udio pepela mogu se objasniti različitom vrstom i sastavom tla kao i različitoj dostupnosti i apsorpciji hranjivih tvari (Lemus-Mondaca i sur., 2019).

Prosječna vrijednost pepela u ispitivanim uzorcima sjemenki bundeve iznosila je 2,75 % što je približno jednako rezultatima dobivenim u ispitivanju Márquez Cardozo i suradnika (2021) gdje je ustanovljeno da je udio pepela 2,14 %. Skoro dvostruko višu vrijednost od 4,59 % dobivaju Kim i suradnici (2012), dok Habib i suradnici (2015) dobivaju udio pepela od 3,80 %.

U odnosu na pulpu i koru, sjemenke bundeve imaju najveći udio minerala, a prema Rezig i suradnicima (2012) najzastupljeniji su kalij, fosfor, natrij i kalcij. Budući da je udio pepela proporcionalan udjelu minerala za očekivati je da će sjemenke sadržavati veći udio različitih elemenata.

#### 4.4. SADRŽAJ VLAKANA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA

Nakon odmašćivanja uzoraka bundeve i nusproizvoda metodom po Soxhletu (opisano u poglavlju 2.5.2.) određen im je i sadržaj ukupnih vlakana. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 6.

**Tablica 6.** Udio vlakana u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

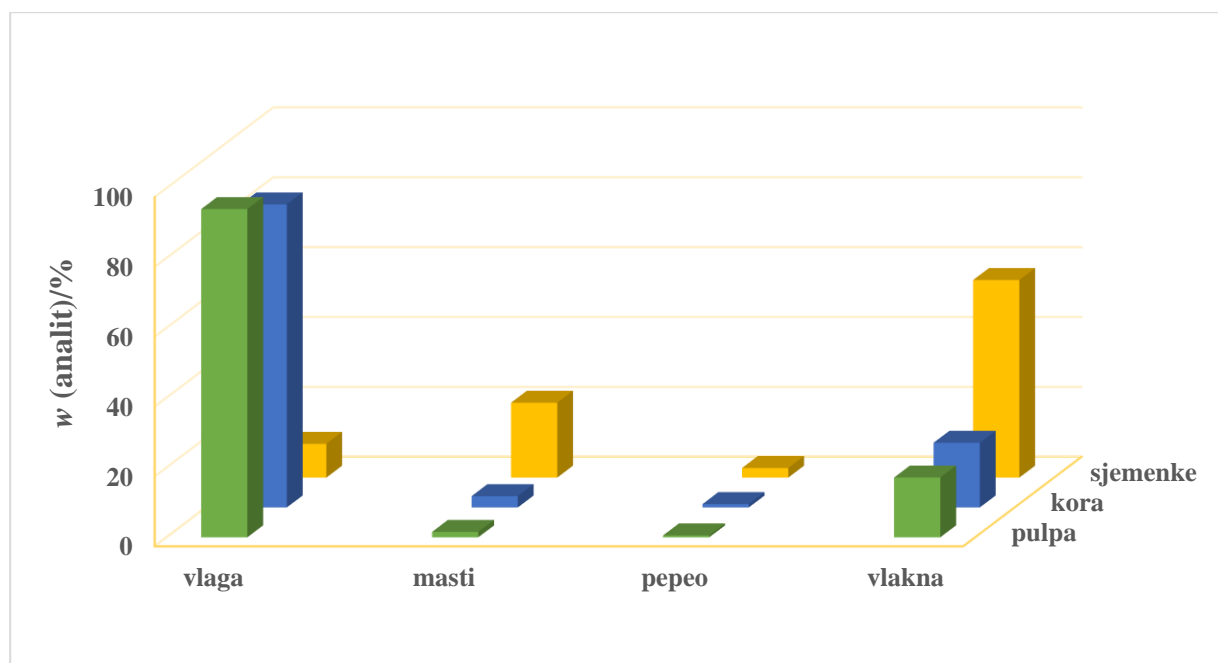
<b>w (vlakna)/% ± SD</b>		
<b>Pulpa</b>	<b>Kora</b>	<b>Sjemenke</b>
17,13 ± 0,19	18,52 ± 0,94	56,56 ± 0,25

SD - standardna devijacija

Dobiveni rezultati pokazuju da pulpa bundeve ima najmanji udio vlakana od 17,13 %, nešto veći udio od 18,52 % ima kora, dok sjemenke sadrže značajno najveći udio od 56,56 %. Kim i suradnici (2012) pronalaze vrijednost od 1,09 % u pulpi, 2,24 % u kori te 16,15 % u sjemenkama bundeve. Prema rezultatima Márquez Cardozo i suradnika (2021) pulpa bundeve sadrži 2,00 % vlakana, a kora i sjemenke sadrže 5,97 % odnosno 12,65 %.

Unatoč velikim odstupanjima u rezultatima ovog i drugih istraživanja, može se zaključiti kako bundeva ima značajni udio vlakana te se može koristiti kao funkcionalni sastojak u proizvodnji hrane obogaćene vlaknima. Prema istraživanju Kim i suradnika (2016) prehrambena vlakna iz bundeve mogu doprinijeti razvoju namirnica sa smanjenim udjelom masnoće i tako utjecati na poboljšanje senzorskih i fizikalno kemijskih svojstava namirnice.

Pulpa, kora i sjemenke pokazuju značajne razlike u sadržaju hranjivih tvari, što ovisi o vrsti bundeve te području i metodi njenog uzgoja (Kim i suradnici, 2012). Prema rezultatima ovog istraživanja (slika 5) sjemenke se ističu s najvišim udjelom masti, pepela i vlakana, a najmanjim udjelom vode što doprinosi povećanju kakvoće ulja dobivenog iz sjemenki. Zbog povećanog udjela vode u pulpi i kori, bundeva pripada među namirnice niske energetske, a visoke nutritivne gustoće te svakodnevnim uključivanjem u prehranu mogu doprinijeti održavanju tjelesne mase.



**Slika 5.** Udio vlage, masti, pepela i vlakana u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i nusproizvoda



#### 4.5. SADRŽAJ PROTEINA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA

Za određivanje udjela proteina u uzorcima svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki izrađen je baždarni dijagram ovisnosti apsorbancija i njima pripadajućih masenih koncentracija (opisano u poglavlju 3.5.6.2.). Iz dobivene jednadžbe pravca izračunati su udjeli ukupnih proteina u uzorcima (tablica 7).

**Tablica 7.** Rezultati UV/Vis spektrofotometrijskog određivanja ukupnih proteina u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

Uzorak	<i>t</i> (ekstrakcije)/min	<i>A</i> ± SD	<i>w</i> (ukupni proteini)/% ± SD
Pulpa	10	0,032 ± 0,002	2,06 ± 0,12
	20	0,037 ± 0,004	2,34 ± 0,28
	40	0,079 ± 0,011	4,61 ± 0,61
Kora	10	0,063 ± 0,002	3,74 ± 0,14
	20	0,105 ± 0,005	6,02 ± 0,31
	40	0,022 ± 0,000	15,08 ± 0,31
Sjemenke	10	0,010 ± 0,008	8,61 ± 0,05
	20	0,010 ± 0,001	8,74 ± 0,59
	40	0,012 ± 0,002	9,53 ± 0,85

A - apsorbancija; SD - standardna devijacija

U uzorku svježe bundeve maseni udio proteina kreće se u rasponu od 2,06 do 4,61 %, ovisno o vremenu ekstrakcije (10, 20 i 40 minuta). Dvostruko veću vrijednost od 10,45 % pronalaze Amin i suradnici (2019), kao i Kim i suradnici (2012) koji dobivaju vrijednost od 11,31 %. Znatno niži udio proteina od 0,68 % dobivaju Márquez Cardozo i suradnici (2021).

Kod ekstrakcije kore u vremenu od 10 i 20 minuta dobiveni udio proteina kreće se u rasponu od 3,74 do 6,02 %. Uslijed povećanja vremena ekstrakcije (40 minuta) dolazi do porasta prinosa proteina (15,08%), što znači da vrijeme ekstrakcije značajno utječe na izolaciju ovog

analita iz kore bundeve. U istraživanjima Amin i suradnika (2019) te Kim i suradnika (2012) korištena je metoda po Kjeldahl-u prilikom određivanja udjela proteina u kori i dobivene su vrijednosti od 14,67 % i 16,54 %. Koristeći se istom metodom Márquez Cardozo i suradnici (2021) dobivaju značajno nižu vrijednost od 2,00 %. Iako se često smatra poljoprivredno-industrijskim otpadom kora bundeve ima znatan udio proteina te se kao takva može koristiti pri obogaćivanju različitih namirnica.

Udio proteina u uzorku sjemenki bundeve razlikuje se ovisno o vremenu ekstrakcije (10, 20 i 40 minuta), a kreće se u rasponu od 8,61 do 9,53 %. Dvostruko veći udio proteina od 16,07 % i 21,31 % dobivaju Márquez Cardozo i suradnici (2021) i Amin i suradnici (2019). Također značajno višu vrijednost od 34,56 % dobivaju Habib i suradnici (2015).

Dobiveni rezultati pokazuju da najveći udio proteina sadrži kora bundeve (15,08 %), dok pulpa i sjemenke imaju znatno niže vrijednosti (4,61 % i 9,53 %). Udio proteina varira među istraživanjima zbog različitih metoda ekstrakcije kao i zbog razlika između sorti bundeve.

U zaključku, povećanje vremena ekstrakcije značajno utječe na prinos proteina u svim analiziranim uzorcima (pulpa, kora i sjemenke), što znači da vrijeme od 40 minuta doprinosi njihovoj optimalnoj ekstrakciji. Dijelovi bundeve poput pulpe, kore i sjemenki imaju značajan udio proteina te mogu biti pogodni za obogaćivanje namirnica i poboljšavanje njihovog nutritivnog sastava.

#### **4.6. SADRŽAJ ŠEĆERA U UZORCIMA BUNDEVE I NUSPROIZVODA**

Za određivanje udjela šećera u uzorcima svježe bundeve (pulpe), kore i sjemenki izrađen je baždarni dijagram (opisano u poglavlju 3.5.7.2.), a potom su iz dobivene jednadžbe pravca izračunate vrijednosti masenih udjela ukupnih šećera u uzorcima (tablica 8).

**Tablica 8.** Rezultati UV/Vis spektrofotometrijskog određivanja ukupnih šećera u uzorcima svježe bundeve (pulpa) i njenih nusproizvoda (n = 6)

Uzorak	t (ekstrakcije)/min	A ± SD	w (ukupni šećeri)/% ± SD
Pulpa	10	0,352 ± 0,055	20,94 ± 3,58
	20	0,437 ± 0,024	26,19 ± 1,78
	40	0,639 ± 0,041	39,32 ± 2,85
Kora	10	0,584 ± 0,046	36,80 ± 2,91
	20	0,569 ± 0,057	34,05 ± 3,77
	40	0,518 ± 0,055	63,90 ± 8,02
Sjemenke	10	0,057 ± 0,024	7,94 ± 3,02
	20	0,118 ± 0,006	16,87 ± 0,75
	40	0,118 ± 0,007	16,90 ± 0,88

A - apsorbancija; SD - standardna devijacija

Dobivene vrijednosti masenih udjela ukupnih šećera razlikuju se ovisno o uzorku i vremenu ekstrakcije. Sadržaj šećera u pulpi bundeve kreće se od 20,94 % do 39,32 %, a povećano vrijeme ekstrakcije (40 minuta) dovodi do povećanog udjela šećera. Prema USDA prosječni udio šećera u pulpi bundeve je 2,76 g na 100 g sirove bundeve ( 2,76 %), što je značajno niže u odnosu na vrijednosti dobivene u ovom istraživanju. U istraživanju Amin i suradnika (2019) također je korištena metoda s fenolnom i sumpornom kiselinom, a dobiveni su znatno niži udjeli šećera od 10,49 %. Montesano i suradnici (2018) u pulpi bundeve pronalaze udio šećera od 4,90 %. S druge strane, prema istraživanju Perez Gutierrez (2016) prosječni udio ugljikohidrata odnosno šećera u pulpi bundeve je znatno veći (66 %). Također veći udio ugljikohidrata od 44 % u svom istraživanju dobivaju Zhang i suradnici (2013). Zbog velikih razlika u vrstama bundeve i načinima ekstrakcije šećera dobivene vrijednosti u drugim istraživanjima znatno se razlikuju u odnosu na one dobivene u ovom radu.

Najveći udio šećera od 63,90 % dobiven je u uzorku kore ekstrahirane 40 minuta. Nakon 10 minuta ekstrakcije udio šećera iznosi 36,80 %, a s 20 minuta ekstrakcije dobiven je najniži

udio od 34,05 %. Norfezah i suradnici (2010) dobivaju značajno niži udio šećera (0,29 %) u kori bundeve. U istraživanju Amin i suradnika (2019) vrijednost šećera u kori bundeve iznosila je 7,63 %.

Kod uzoraka sjemenki bundeve ekstrakcijom u trajanju od 10 i 20 minuta dobivena je vrijednost šećera od 7,94 % i 16,87 %. S povećanjem vremena ekstrakcije na 40 minuta došlo je do neznatnog porasta udjela šećera od 16,90 %. U istraživanju Habib i suradnika (2015) dobivena je vrijednost šećera od 1,08 %, dok Lazos (1986) u svom istraživanju dobiva udio šećera od 5,55 %. Značajno niži udio šećera od 0,11 % pronalaze Rezig i suradnici (2012). Prema istraživanju Srbinska i suradnika (2012) sjemenke bundeve sadrže 24,90 % šećera, a Norfezah i suradnici (2010) dobivaju vrijednost od 43,37 %.

Promatrajući utjecaj vremena ekstrakcije na sadržaj šećera u uzorcima pulpe, kore i sjemenki bundeve može se zaključiti da povećanje vremena ekstrakcije značajno utječe na prinos šećera u svim analiziranim uzorcima, što znači da vrijeme od 40 minuta doprinosi njihovoj maksimalnoj ekstrakciji.

Dobiveni rezultati u ovom radu odstupaju od rezultata drugih autora, a to se može objasniti spoznajom da udio šećera varira od sorte do sorte bundeve i metodom njenog uzgoja. Iako se vrijednosti šećera značajno razlikuju među istraživanjima umjereni udio ugljikohidrata u pulpi i sjemenkama svrstava bundevu među namirnicama pogodnim za dijabetičare. Rezultati istraživanja Candido i suradnika (2018) pokazali su da prehrana bogata sjemenkama bundeve dovodi do značajnog smanjenja postprandijalne glukoze u krvi. Također, konzumacija bundeve svaki dan kroz period od mjesec dana može znatno sniziti razine glukoze u krvi i urinu kod bolesnika s dijabetesom tipa 2 (Adams i sur., 2011).

## 5. ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata dobivenih u ovom radu može se zaključiti:

1. Sadržaj vlage u analiziranim uzorcima dobiven je u slijedećem nizu: pulpa bundeve > kora > sjemenke, što ukazuje na nisku energetska vrijednost, a visoku hidratacijsku vrijednost pulpe.
2. Najveći sadržaj masti određen je u sjemenkama bundeve, dok je znatno manje ovog makronutrijenta nađeno u pulpi i kori bundeve, što znači da su sjemenke izvrstan izvor za proizvodnju bučinog ulja.
3. U sjemenkama bundeve dobiven je dvostruko veći udio pepela u odnosu na pulpu i koru bundeve, što ukazuje na visoki udio različitih minerala u sjemenki.
4. Sadržaj vlakana u analiziranim uzorcima kreće se u rasponu od 17,13 % do 56,56 %. No ipak valja naglasiti da među uzorcima prednjače sjemenke bundeve s oko 3 puta većim udjelom vlakana te se mogu koristiti kao funkcionalni sastojak u proizvodnji hrane obogaćene vlaknima.
5. Vrijeme ekstrakcije (10, 20 i 40 min) uzoraka svježe bundeve, kore i sjemenki utječe na prinos proteina, pri čemu vrijeme od 40 minuta doprinosi njihovoj optimalnoj izolaciji.
6. Najveći udio šećera u analiziranim uzorcima (pulpa, kora i sjemenke) dobiven je pri dužem vremenu ekstrakcije (40 minuta). Najveći utjecaj prolongiranog vremena ekstrakcije uočen je kod uzroka kore gdje se vrijednost šećera udvostručila.
7. Najveći udio proteina i šećera dobiven je u kori bundeve te iako se često smatra poljoprivredno-industrijskim otpadom, može se koristiti u prehrambenoj industriji za obogaćivanje namirnica i poboljšavanje njihovog nutritivnog sastava.

## 6. LITERATURA

- Adams G G, Imran S, Wang S, Mohammad A, Kok S, Gray D A, i sur. (2011) The Hypoglycaemic Effect of Pumpkins as Anti-Diabetic and Functional Medicines. *Food Res Int* **44**, 862-867. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.016>
- Amin Z, Islam T, Uddin M, Uddin M, Rahman M, Miah M (2019) Comparative study on nutrient contents in the different parts of indigenous and hybrid varieties of pumpkin (*Cucurbita maxima* Linn.). *Heliyon* **5**, 2-4. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02462>
- Apostol L, Berca L, Mosoiu C, Badea M, Bungau S, Oana Bianca O, i sur. (2018) Partially Defatted Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seeds - a Rich Source of Nutrients for Use in Food Products. *Rev Chim* **69**, 1398-1402. <https://doi.org/10.37358/RC.18.6.6332>
- Applequist W L, Avula B, Schaneberg B T, Wang Y H, Khan I A (2006) Comparative Fatty Acid Content of Seeds of Four Cucurbita Species Grown in a Common (shared) Garden. *J Food Compos Anal* **19**, 606-611. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.001>
- BeMiller J M (2009) Carbohydrate Analysis. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str. 165-170.
- Bradley R L (2009) Moisture and Total Solids Analysis. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str. 87-89.
- Brnčić M, Tripalo B, Penava A, Karlović D, Ježek D, Topić D V, i sur. (2009) Primjena ultrazvuka visokog intenziteta pri obradi hrane. *Croat J Food Sci Technol Biotechnol Nutr* **4**, 32-37.
- Cândido F G, de Oliveira F C E, Lima M F C, Pinto C A, da Silva L L, Martino H S D, i sur. (2018) Addition of pooled pumpkin seed to mixed meals reduced postprandial glycemia: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Nutr Res* **56**, 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.04.015>
- Cerniauskiene J, Kulaitiene J, Danilcenko H, Jariene E, Jukneviene E (2014) Pumpkin Fruit Flour As a Source for Food Enrichment in Dietary Fiber. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca* **42**, 19-23. <https://doi.org/10.15835/nbha4219352>
- Chang S K C (2009) Protein Analysis. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str. 135-146.
- Dotto J M, Chacha J S (2020) The potential of pumpkin seeds as a functional food ingredient: A review. *Sci Afr* **10**, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00575>

- Durante M, Lenucci M, Mita G (2014) Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carotenoids from Pumpkin (*Cucurbita* spp.): A Review. *Int J Mol Sci* **15**, 6725-6740. <https://doi.org/10.3390/ijms15046725>
- El Khatib S, Muhieddine M (2020) Nutritional Profile and Medicinal Properties of Pumpkin Fruit Pulp. U: Salanta L C (ured.) *The Health Benefits of Foods - Current Knowledge and Further Development*, 1 izd., IntechOpen, London, str. 1-20.
- Eskilsson S, Bjorklund E (2000) Analytical-scale microwave-assisted extraction, *J Chrom A*, **902**, 227-250. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00921-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00921-3)
- Fifield F W, Kealey D (2000) *Principles and Practice of Analytical Chemistry*, 5. izd., Wiley-Blackwell, United Kingdom, str. 216-226.
- Fruhworth G O, Hermetter A (2007) Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities. *Eur J Lipid Sci Technol* **109**, 1128-1140. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700105>
- Gossell-Williams M, Hyde C, Hunter T, Simms-Stewart D, Fletcher H, McGrowder D, i sur. (2011) Improvement in HDL cholesterol in postmenopausal women supplemented with pumpkin seed oil: pilot study. *Climacteric* **14**, 558-564. <https://doi.org/10.3109/13697137.2011.563882>
- Guiné R P F, Pinho S, Barroca M J (2011) Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Food Bioprod Process* **89**, 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.09.001>
- Habib A, Biswas S, Siddique A H, Manirujjaman M, Uddin B, Hasan S, i sur. (2015) Nutritional and Lipid Composition Analysis of Pumpkin Seed (*Cucurbita maxima* Linn.). *J Nutr Food Sci* **5**, 1-6. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000374>
- Hussain A, Kausar T, Din A, Murtaza A, Jamil M A, Noreen S, i sur. (2021) Antioxidant and Antimicrobial Properties of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Peel, Flesh and Seeds Powders. *J Biol Agric Healthc* **11**, 42-48. <https://doi.org/10.7176/jbah/11-6-05>
- Jun H I, Lee C H, Song G S, Kim Y S (2006) Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. *LWT - Food Sci Technol* **39**, 554-561. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.03.004>
- Kaur S, Panghal A, Garg M K, Mann S, Khatkar S K, Sharma P, i sur. (2020), Functional and nutraceutical properties of pumpkin - a review. *Food Sci Nutr* **50**, 384-401. <https://doi.org/10.1108/nfs-05-2019-0143>

- Kim C J, Kim H W, Hwang K E, Song D H, Ham Y K, Choi J H, i sur. (2016) Effects of Dietary Fiber Extracted from Pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) on the Physico-Chemical and Sensory Characteristics of Reduced-Fat Frankfurters. *Korean J Food Sci An* **36**, 309-318. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.309>
- Kim M Y, Kim E J, Kim Y N, Choi C, Lee B H (2012) Comparison of the chemical compositions and nutritive values of various pumpkin (*Cucurbitaceae*) species and parts. *Nutr Res Pract* **6**, 21-27. <https://doi.org/10.4162/nrp.2012.6.1.21>
- Koprivnjak O (2014) Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane: udžbenik iz kolegija: “Uvod u prehrambene tehnologije“ Sveučilište u Rijeci, Rijeka, str. 37-73.
- Krimer-Malešević V (2020) Chapter 37 - Pumpkin Seeds: Phenolic Acids in Pumpkin Seed (*Cucurbita pepo* L.) U: Preedy V R, Watson R R (ured.) *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 2 izd., Academic Press, Cambridge, str. 533-542.
- Kulczyński B, Gramza-Michałowska A (2019) The Profile of Carotenoids and Other Bioactive Molecules in Various Pumpkin Fruits (*Cucurbita maxima* Duchesne) Cultivars. *Molecules* **24**, 2-17. <https://doi.org/10.3390/molecules24183212>
- Lazos E (1986) Nutritional, fatty acid, and oil characteristics of pumpkin and melon seeds. *J Food Sci* **51**, 1382-1383. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb13133.x>
- Lemus-Mondaca R, Marin J, Rivas J, Sanhueza L, Soto Y, Vera Céspedes N, i sur. (2019) Pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*). A review of functional attributes and by-products. *Rev Chil Nutr* **46**, 783-791. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182019000600783>
- Lianfu Z, Zelong L (2008) Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes, *Ultrason Sonochem* **15**, 731-737. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2007.12.001>
- Lima P, Rubio F, Silva M, Pinho L, Kasemodel M, Favaro-Trindade C, i sur. (2019) Nutritional Value and Modelling of Carotenoids Extraction from Pumpkin (*Cucurbita Moschata*) Peel Flour By-Product. *Int J Food Eng* **15**, 1-15. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2018-0381>
- Liu H W (2011) Extraction and Isolation of Compounds from Herbal Medicines. U: Liu W J H (ured.) *Traditional Herbal Medicine Research Methods: Identification, Analysis, Bioassay and Pharmaceutical and Clinical Studies*, 1 izd., John Wiley and Sons, New Jersey, str. 107-108.
- López-Bascón M A, Luque de Castro M D (2020) Chapter 11- Soxhlet Extraction U: Poole C F (ured.) *Liquid-Phase Extraction.*, 1 izd., Elsevier, USA, str. 327-354.



- Márquez Cardozo C J, Molina Hernández D, Caballero B L, Ciro Velásquez H J, Restrepo Molina D A, i sur. (2021) Physical, physiological, physicochemical and nutritional characterization of pumpkin (*Cucurbita maxima*) in postharvest stage cultivated in Antioquia-Colombia. *Rev Fac Nac Agron Medellín* **74**, 9735-9744. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v74n3.90820>
- Marshall M R (2009) Ash Analysis. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str.105-117.
- Matin A, Krička T, Kiš D, Grubor M, Kontek M, Kalambura S, i sur. (2022) Usability of Pumpkin for Nutritional Purposes and Green Energy Production. *Teh Vjesn* **29**, 775-780. <https://doi.org/10.17559/TV-20210513103418>
- Min B D, Ellefson W C (2009) Fat Analysis. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str. 117-133.
- Montesano D, Blasi F, Simonetti M S, Santini A, Cossignani L (2018) Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima* L. (var. Berrettina) Pumpkin. *Foods* **7**, 6-9. <https://doi.org/10.3390/foods7030030>
- Norfezah M N, Hardacre A, Brennan C S (2011) Comparison of waste pumpkin material and its potential use in extruded snack foods. *Food Sci Technol Int* **17**, 367-373. <https://doi.org/10.1177/1082013210382484>
- Nyam K L, Tan C P, Lai O M, Long K, Che Man Y B (2009) Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils. *Food Sci Technol* **42**, 1396-1403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.006>
- Patel S (2013) Pumpkin (*Cucurbita* sp.) seeds as nutraceutical: a review on status quo and scopes. *Mediterr J Nutr Metab* **6**, 183-189. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.006>
- Penner M H (2009) Ultraviolet, Visible, and Fluorescence Spectroscopy. U: Nielsen S S (ured.) Food Analysis, 4. izd., Springer, New York, str. 387-407.
- Perez Gutierrez R M (2016) Review of *Cucurbita Pepo* (Pumpkin) Its Phytochemistry and Pharmacology. *Med Chem* **6**, 12-21. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000316>
- Pleh M, Kolak I, Dubravec K, Šatović Z (1998) Sjemenarstvo bundeva. *Sjemenarstvo* **15**, 43-75. <https://doi.org/10.33128/s1>
- Povey J W M, Mason T J (1998) Ultrasound in Food Processing, 1. izd., Blackie academic and professional, London.
- Que F, Linchun M, Xuehua F, Tao W (2008) Comparison of Hot Air-Drying and Freeze-Drying on the Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Pumpkin (*Cucurbita*

- Moschata Duch.) Flours. *Int J Food Sci* **43**, 1195-1201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01590.x>.
- Rade D, Morovčak Ž, Štrucelj D (2001) Priručnik za vježbe iz kemije i tehnologije lipida, Durieux, Zagreb, str. 1-21.
- Rezig L, Chouaibi M, Msaada K, Hamdi S (2012) Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. *Ind Crops Prod* **37**, 82-87. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.12.004>
- Roehrig K L (1988) The physiological effects of dietary fiber. *Food Hydrocoll* **2**, 1-18. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(88\)80033-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(88)80033-X)
- Salami A, Asefi N, Kenari R E, Gharekhani M (2021) Extraction of pumpkin peel extract using supercritical CO<sub>2</sub> and subcritical water technology: Enhancing oxidative stability of canola oil. *J Food Sci Technol* **58**, 1101-1109. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04624-x>
- Salehi B, Sharifi-Rad J, Capanoglu E, Adrar N, Catalkaya G, Shaheen S, i sur. (2019) Cucurbita Plants: From Farm to Industry. *Appl Sci* **9**, 2-21. <https://doi.org/10.3390/app9163387>
- Siegmund B, Murkovic M (2004) Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 2: volatile compounds). *Food Chem* **84**, 367-374. [http://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00241-3](http://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00241-3)
- Skoog D A, West D M, Holler F J, Crouch S R (2014) Fundamentals of Analytical Chemistry, 9. izd., Brooks/Cole, USA, str. 280-300.
- Song J, Wang X, Li D, Meng L, Liu C (2016) Degradation of carotenoids in pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) slices as influenced by microwave vacuum drying. *Int J Food Prop* **20**, 1479-1487. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1212875>
- Srbinska M, Hrabovski N, Rafajlovska V, Sinadinović-Fišer S (2012) Characterization of the seed and seed extracts of the pumpkins *Cucurbita maxima* D. and *Cucurbita pepo* L. from Macedonia, *Maced J Chem Chem* **31**, 65-78. <https://doi.org/10.20450/mjccce.2012.58>
- Staichok A C B, Mendonça K R B, Santos P G A D, Garcia L G C, Damiani C (2016) Pumpkin Peel Flour (*Cucurbita máxima* L.) - Characterization and Technological Applicability. *J Food Nutr Res* **4**, 327-333. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-5-9>
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2019) USDA FoodData Central Search Results, Pumpkin, raw. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168448/nutrients>. Pristupljeno 1. srpnja 2021.

Wang L, Weller C L (2006) Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci Technol* **17**, 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>

Zhang Y, Chen P, Zhang Y, Jin H, Zhu L, Li J, i sur. (2013) Effects of polysaccharide from pumpkin on biochemical indicator and pancreatic tissue of the diabetic rabbits. *Int J Biol Macromol* **62**, 574-581. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.044>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja TEA STANIČIĆ izjavljujem da je ovaj diplomski 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