

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

Marija Kordić

6351/PT

**UTJECAJ NAČINA HLADNJA TE SASTAVA ATMOSFERE NA
ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET ZAPAKIRANIH PLODOVA
MALINA TIJEKOM SKLADIŠTENJA**

ZAVRŠNI RAD

Modul: Kemija i tehnologija voća i povrća

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Završni rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

Utjecaj načina hlađenja te sastava atmosfere na antioksidacijski kapacitet zapakiranih plodova malina tijekom skladištenja

Marija Kordi

6351/PT

Sažetak: Cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj na ina hla enja te sastava atmosfere tijekom sedam dana skladi-tenja pri tri temperature na antioksidacijski kapacitet ploda maline.

Ispitivan je na in hla enja vakuumom i konvencionalno hla enje u hladnjaku. Skladi-tenje se provodilo na tri temperature: 1°C, 5°C i 10°C, nakon ega su uzorci zapakirani u vre ice s normalnom atmosferom i modificiranom atmosferom, te uvani na istim temperaturama i analizirani prvi, etvrti i sedmi dan. Antioksidacijski kapacitet odre en je DPPH metodom. Rezultati su pokazali kako modificirana atmosfera pozitivno utje e na o uvanje antioksidacijskog kapaciteta. Vi-i antioksidacijski kapacitet pokazuju maline uvane na 5°C i 10°C nego na 0 °C.

Ključne riječi: maline, skladi-tenje, hla enje, modificirana atmosfera, antioksidacijski kapacitet, DPPH

Rad sadrži: 27 stranica, 7 slika, 5 tablica, 26 literaturnih navoda, 0 priloga

Izvorni jezik: hrvatski

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

Prehrambeno-biotehnolo-kog fakulteta, Ka i eva 23, Zagreb

Mentor: *prof.dr.sc. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: Sanja Lon ari , mag.ing.

Rad predan: Rujan, 2015

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory of Food Preserving and Fruit and Vegetable Processing

Effect of way of cooling and atmosphere composition on the antioxidant capacity of packed raspberries during storage

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of way of cooling and composition of the atmosphere on the antioxidant capacity of raspberry during seven days of storage. Vacuum cooling and normal cooling in the refrigerator was used. Cooling is carried out at three temperatures: 1 °C, 5 °C and 10 °C, after which the samples were packed in bags with ambient atmosphere and MAP, and stored and analyzed in the first, fourth and seventh day. Antioxidant capacity was determined by DPPH method. The results showed that the modified atmosphere has a positive effect on the preservation of antioxidant capacity. The higher antioxidant capacity showed raspberry stored at 5 °C and 10 °C than at 0 °C.

Keywords: raspberries, storage, cooling, modified atmosphere, antioxidant capacity, DPPH

Thesis contains: 27 pages, 7 pictures, 5 tables, 26 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the faculty of Food Technology and Biotechnology, Ka i e va 23, Zagreb

Mentor:*PhD. Branka Levaj, Full Professor*

Technical support and assistance: *Sanja Lončarić, mag.ing*

Thesis delivered: Rujan, 2015

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Malina.....	2
2.2. Botani ke karakteristike	4
2.3. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost maline.....	6
2.4. Antioksidansi	8
2.5. Hla enje:.....	10
2.6. Modificirana atmosfera (MA):.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Materijal.....	13
3.2. Priprema uzoraka - Hla enje, pakiranje i uvanje uzoraka.....	13
3.3. Metoda rada.....	15
3.3.1. Odre ivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom.....	15
4. REZULTATI.....	18
4.1. Rezultati antioksidacijskog kapaciteta.....	18
5. RASPRAVA	21
6. ZAKLJU AK	24
7. LITERATURA.....	25

1. UVOD

Maline su dobar izvor prirodnih antioksidanasa, bogate su vitaminima i mineralnim tvarima, te antocijanima, flavonoidima i fenolnim kiselinama. Zbog ugodne arome i okusa te velike biološke, a male energetske vrijednosti, malina ima široku primjenu u ljudskoj prehrani, a posjeduje i određena ljekovita svojstva. Plodovi se mogu koristiti u svježem, smrznutom ili prerađenom stanju.

Antioksidansi su skupina različitih prirodnih spojeva koji u organizmu uvijek igraju važnu ulogu zaštite od štetnog djelovanja slobodnih radikala. Slobodni radikali su nestabilne i jako reaktivne molekule zato što imaju jedan ili više nesparenih elektrona. Dokazano je da antioksidansi imaju pozitivan utjecaj na zdravlje uvijek tako što inhibiraju razvoj degenerativnih bolesti (Alzheimer, artritis itd.), smanjuju rizik od nastanka raka, usporavaju procese starenja, a imaju i brojne druge pozitivne učinke. U malinama su najzastupljeniji antioksidansi koji pripadaju skupini fenolnih spojeva.

Hlađenje je najbrže i najjeftinije primjenjivana metoda kratkotrajnog konzerviranja za razne vrste namirnica. Hlađenje (eng. chilling, cooling) je postupak konzerviranja namirnica držanjem na temperaturi od (najčešće) 4 do 6°C. Ovom metodom se najmanje mijenjaju izvorna svojstva namirnice. Provodi se do temperatura koje predstavljaju temperaturu smrzavanja stanih i soka namirnice. Izbor najprikladnijeg načina hlađenja ovisi o vrsti namirnice, brzini kojom se želi provesti hlađenje, temperaturi i trajanju čuvanja odnosno transporta.

Poznato je da se mnogi antioksidansi hrane značajno gube tijekom procesiranja hrane (sterilizacije, pasterizacije, dehidracije), ali i tijekom skladištenja te rukovanjem hrane kod kuće i kuhanjem. U ovom radu ispitati će se kako na hlađenje i sastav atmosfere utječu na antioksidacijski kapacitet maline tijekom skladištenja 7 dana pri tri temperature (1,5 i 10°C).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Malina

Malina (*Rubus* sp.) je višegodišnja biljka koja pripada skupini bobica. Bobice se konzumira zbog svoje atraktivne boje i posebnog okusa, a smatra se jednim od najbogatijih izvora prirodnih antioksidansa (Manganaris i sur., 2013.). Ustanovljeno je da je antioksidativna aktivnost maline za 50% veća od antioksidativne aktivnosti jagode, 10 puta veća od rajčice i 3 puta veća od kivija (Beekwilder i sur., 2005.).

Botanička klasifikacija maline (USDA, 2015.) :

Carstvo: *Plantae*

Odjeljak: *Spermatophyta* (sjemene)

Pododjeljak: *Angiosperme* (golosjemenjače)

Divizija: *Magnoliophyta* (cvjetnice)

Razred: *Magnoliopsida* (dikotiledoni)

Red: *Rosales*

Porodica: *Rosaceae* (ruže)

Potporodica: *Rosoideae*

Rod: *Rubus* L.

Vrsta: *Rubus idaeus* L (Američka crvena malina)



Slika 1: Malina

Povijest uzgoja

Malina se spominje još u kameno i bronano doba. Potječe iz Sjeverne Azije i Istočne Europe. Vjeruje se da je prvo pronađena na planini Ida u Grčkoj, tako su joj Rimljani dali ime *Idaeus* –to u prijevodu znači "sa planine Ida". U vrijeme Rimljana i Grka upotrebljavana je kao lijek. Smatra se da su upravo Rimljani zaslužni za njeno pojavljivanje u Europi.

Maline su se masovno počele uzgajati u XIX stoljeću, kada su se planskom selekcijom i hibridizacijom izdvojile i stvorile visokoproduktivne i visokokvalitetne sorte. U XX stoljeću dogodila se masovna proizvodnja kultiviranih sorti (Volčević, 2005). Kultivirane sorte, uglavnom potječu od europske crvene maline (*R. idaeus vulgatus* Arrh.), američke crvene maline (*R. idaeobatus strigosus* Michx.) i crne maline (*R. idaeobatus occidentalis*) (Pritt, 2003.).

Vrste:

Do danas je poznato 195 vrsta malina, među kojima su najvažnije:

Europska malina (*Rubus idaeobatus idaeus* L., sin., *R. idaeus* L., *R. idaeus vulgatus* Arrh.; $2n=14$), rasprostranjena u Europi i Aziji.

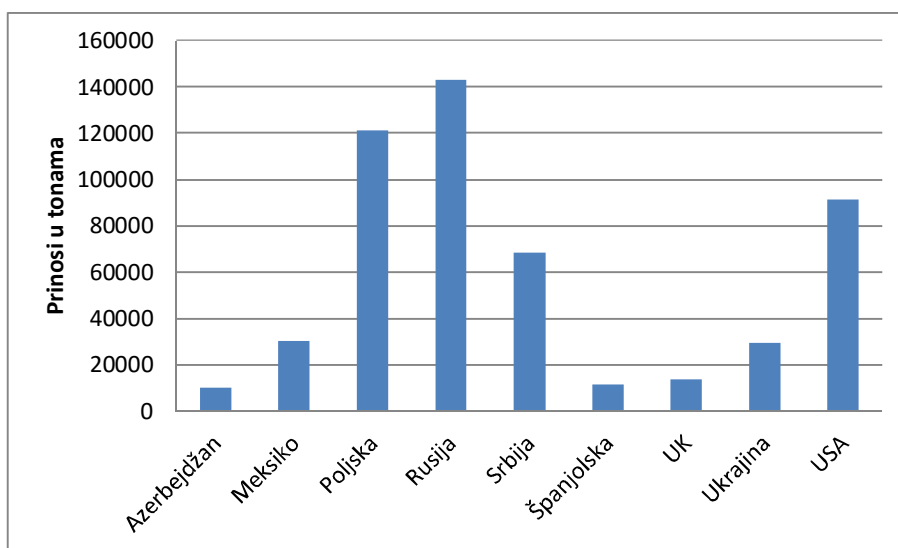
Crvena malina (*R. idaeus strigosus* Michx.-Michx., sin. *R. idaeus* L., *R. idaeus* var. *strigosus* Maxim., *R. idaeus* subsp. *strigosus* Focke; $2n=14$), rasprostranjena u Sjevernoj Americi i Aziji.

Crna malina (*R. idaeus occidentalis* L.), rasprostranjena u Sjevernoj Americi.

Ljubčasta malina (*Rubus idaeus* ssp. *neglectus* Peck), rasprostranjena u Sjevernoj Americi, prirodni je hibrid između *R. strigosus* i *R. occidentalis* (Volčević, 2005).

Svjetska proizvodnja malina

Prema podacima FAOSTAT-a za 2013. godinu, najveći svjetski proizvođač malina je Rusija s proizvedenih 143 000 t, zatim Poljska sa 121 040 t, Sjedinjene Američke Države sa 91 300 t, Srbija sa 68 458 t, Meksiko 30 411 t, Ukrajina 29 500 t, Španjolska 11 700 t, Azerbejdžan 10 000 t. To je prikazano u grafu ispod. Hrvatska je prema FAOSTAT-u 2013. godine imala proizvodnju približno 1000 t maline.



Slika 2: Najveći proizvođači malina u 2013. godini

2.2. Botaničke karakteristike

Malina je zeljasta biljka niskog rasta. Rodi odmah poslije sadnje, a punu rodnost doseže u trećoj godini. Može rađati jednom ili više puta godišnje. Živi u prosjeku 8-14 godina, a doseže starost i do 20 godina. Sadni materijal malina može se razvrstati u tri kvalitetne grupe: elitnu, specijalnu i standardnu. Sadi se od listopada do travnja zrelim sadnicama, a u lipnju zelenim. Najbolje joj odgovara nadmorska visina od 400-800 m. Podnosi niske zimske temperature do -26°C . Ona ne podnosi jako suhe i tople predjele. Malina se lako i brzo razmnožava i svake godine rodi. Donosi rod već prve godine po sadnji a već u trećoj godini može dati prinos i do 10.000-15.000 kg/ha.

Dozrijeva krajem lipnja ili 25-30 dana od početka cvjetanja. Beru se kada je plod dobio karakterističnu boju sorte, lako se odvaja od lofe i ne gnježi se. Treba ju brati svakog drugog ili trećeg dana, jer se time povećava prinos i to ujutro za vrijeme hladovine ili za oblačna vremena (Volčević, 2005).

2.3. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost maline

Prema istraflivanjima bobica ima veliki utjecaj na njihov izgled boju, miris te okus. Ova vrsta bobica ima sladak okus, vojni miris, te mekanu i sovu konzistenciju. Kemijski sastav ploda svake sorte je uvelike pod utjecajem okolišnih imbenika, zrelosti i uvjetima skladištenja (Castrejon, 2008., Giovanelli, Buratti 2009., Bobinait i sur, 2012.).

Kao i drugo svjele bobice malina sadrži najviše vode koje ima 85,75%, zatim šećera 4,42 g (USDA, 2015). Vrijedan je izvor prehrambenih vlakana kojih sadrži 6,5 g/100 g maline. Energetska vrijednost joj je 52kcal/100g, što je jako nisko.

Tablica 1: Kemijski sastav u 100 g svježeg ploda maline (USDA, 2015)

Sastav	Jedinica	Vrijednost u 100g
Voda	g	85,75
Energija	kcal	52
Proteini	g	1,20
Ukupni lipidi	g	0,65
Ugljikohidrati	g	11,94
Vlakno	g	6,5
Šećeri	g	4,42

Maline su dobar izvor vitamina, pogotovo vitamina C (100g malina može osigurati 50% potrebnog dnevnog unosa vitamina C) (Haffner i sur., 2002., Pantelidis i sur., 2007). Prosječan sastav vitamina svježeg ploda maline prikazan je u tablici 2.

Tablica 2: Sastav vitamina svjeffleg ploda maline (USDA, 2015)

VITAMINI	Jedinica	Vrijednost u 100g
Vitamin C	mg	26,2
Tiamin	mg	0,032
Riboflavin	mg	0,038
Niacin	mg	0,598
Vitamin B6	mg	0,055
Folat, DFE	μg	21
Vitamin B12	μg	0,00
Vitamin A, RAE	μg	2
Vitamin A IU	IU	33
Vitamin E	mg	0,87
Vitamin D(D2+D3)	μg	0,0
Vitamin D	IU	0
Vitamin K	μg	7,8

Prema USDA podacima za mineralni sastav, malina je najbogatija kalijem, tako er je bogata kalcijem, magnezijem, fljelzom (tablica 3).

Tablica 3. Mineralni sastav svjeffleg ploda maline (USDA, 2015.)

MINERALI	Jedinica	Vrijednost u 100g
Kalcij, Ca	Mg	25
fljelzo, Fe	Mg	0,69
Magnezij, Mg	Mg	22
Fosfor, P	Mg	29
Kalij, K	Mg	151
Natrij, Na	Mg	1
Cink, Zn	Mg	0,42

2.4. Antioksidansi

Antioksidansi su spojevi koji u biološki-kim sustavima neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala, nabijenih molekula koje u vanjskoj ljusci imaju jedan ili više nesparenih elektrona, zbog čega su jako reaktivni pa u tešnji da postignu stabilnu konfiguraciju narušavaju stabilnost drugih molekula (Percival, 1998). Tvari kao što su vitamin C, E, karotenoidi, fenolni spojevi, estrogeni biljnog podrijetla imaju antioksidativnu sposobnost (Gey i sur., 1991., Ziegler, 1991., Gaziano i sur., 1992).

Antioksidacijski spojevi u hrani imaju važnu ulogu prilikom zaštite zdravlja. Znanstveni dokazi upućuju na to da antioksidansi smanjuju rizik od bolesti kao što su tumori i srčane bolesti (Prakash i sur., 2011), pa je poželjno unositi antioksidanse hranom.

Maline su odličan izvor prirodnih antioksidansa, polifenolnih spojeva te obiluju i imaju jedinstven sadržaj elagitanina i antocijana što ih razlikuje od ostalih vrsta bobica i voća (Kähkönen i sur., 2001). Elagitanini su odgovorni za 58% antioksidativnog kapaciteta maline (Bobinaite i sur., 2012).

Polifenolni spojevi su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita, široko rasprostranjeni u biljkama, sjemenkama, povrću i voću, korijenima, lišću i cvijeću te fitaricama. Karakterizira ih prisutnost više fenolnih jedinica. Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva, a prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide i fenolne kiseline (Pandey i Rizvi, 2009). Polifenolni spojevi malina značajno pridonose ukupnom antioksidacijskom kapacitetu što je u organizmu izraženo kao antiupalno, antialergijsko te antikancerogeno djelovanje (Jakobek i sur., 2008).

Antocijani pripadaju grupi spojeva poznatih pod nazivom flavonoidi (McGhie, Walton 2007). Obuhvaćaju grupu od preko 500 različitih spojeva koja su odgovorna za crvenu, ljubičastu i plavu boju mnogih biljaka a posebno voća, povrća i fitarica. U prirodi je poznato šest osnovnih struktura antocijana: pelargonidin, cijanidin, delphinidin, peonidin, petunidin i malvidin, a razlikuju se po broju i vrsti supstituenata na postraničnom benzenskom prstenu što utječe i na razlike u boji (Belitz i sur., 2004).

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta razvijen je velik broj metoda koje se temelje na različitim mehanizmima djelovanja obrambenog sustava antioksidansa, poput uklanjanja ili inhibicije slobodnih radikala.

Jedna od najpoznatijih metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti koja je korištena u ovom radu je:

DPPH (radikal 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil-hvata slobodnih radikala) metoda. To je brza, jednostavna i jeftina metoda koja se koristi za mjerenje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Temelji na sposobnosti ekstrakta da smanji aktivnost DPPH radikala pri čemu dolazi do sparivanja nesparenog elektrona. Reakcija se očitava promjenom boje iz ljubičaste u plutu, što je popraćeno padom apsorpcije pri 517 nm (Prakash i sur., 2001).

Utjecaj uvjeta skladištenja na prisutnost antioksidansa u malinama

Maline su lako kvarljivo voće, što je izraženo truljenjem, gubitkom vrste i tamnjenjem boje. Zbog toga se treba skladištiti pri niskim temperaturama. Nekoliko je studija pokazalo da uz niske temperature, primjena kontrolirane ili modificirane atmosfere također može produžiti rok valjanosti crvenih malina (Mölder i sur, 2010)

U istraživanju u kojem su maline skladištene na 0, 10, 20 i 30°C kroz 8 dana kako bi se odredio utjecaj temperature skladištenja na antioksidacijsku aktivnost dokazano je povećanje antioksidacijskog kapaciteta pri temperaturama većim od 0°C i s prolaskom više vremena skladištenja, što je također bilo popraćeno povećanjem koncentracije ukupnih fenola i antocijana (Klat i sur, 1999).

2.5. Hlađenje:

Hlađenje je nužan postupak prilikom procesa proizvodnje gdje su sirovine lako kvarljive namirnice kao što su: jagodasto, bobasto i voće itd. Sniženjem temperature usporavaju se kemijske promjene u namirnicama, bilo da su posljedica aktivnosti autohtonih enzima ili drugih kemijskih agensa, bilo da nastaju djelovanjem mikroorganizama. Poznato je da se sniženjem temperature za 10°C veća kemijskih i biokemijskih reakcija usporava za 2 do 3 puta. Prema tome, usporavaju se metabolizam živih tkiva, odnosno različiti procesi kao što je npr. dozrijevanje voća, kao i procesi katalizirani enzimima u mrtvim tkivima, te smanjuje aktivnost i rast mikroorganizama. Konzerviranje hlađenjem se realizira na temperaturama do iznad točke smrzavanja stanih sokova. Izbor (optimalne) temperature hlađenja skladištenja vrši se prema vrsti namirnice (kod voća i prema sorti), eventualno prema fiziološkom stanju i svojstvima, namjeni i roku uporabe. U pravilu potrebno je provesti ohlađivanje pokvarljivih namirnica što brže na odgovarajuću temperaturu i održavati (po potrebi) tu temperaturu tijekom transporta, skladištenja i prodaje do krajnje upotrebe. Osim temperature važno je tokom hlađenja održavati i određenu relativnu vlažnost zraka. Ukoliko je relativna vlažnost atmosfere u kojoj se nalazi namirnica niska dolazi do dehidracije, gubitka na težini, smeđuranja i slično. Suviše visoka relativna vlažnost pogoduje razvitku plijesni i drugih mikroorganizama. Najčešće se primjenjuje relativna vlažnost zraka između 85 i 95 %.

Daljnje povećanje trajnosti nekih namirnica može se postići i hlađenim skladištenjem u kontroliranoj atmosferi, tj. u atmosferi sa sniženom koncentracijom kisika i povećanom koncentracijom CO₂ u odnosu na zrak.

Kod voća i povrća esto se primjenjuje tzv. predhlađenje, kako bi se postigla veća trajnost prilikom transporta i manipulacije, te izbjegnula fluktuacija temperature kod unošenja u rashladne komore. Predhlađenje se ostvaruje strujom hladnog zraka, prskanjem ili uranjanjem u hladnu vodu, suhim ledom ili kratkotrajnom primjenom vakuuma (Janić, 2010).

Vakuum hlađenje:

Princip vakuum hlađenja se temelji na brzom isparavanju vlage sa površine i unutrašnje strane proizvoda. Kad voda ispari, proizvod treba apsorbirati toplinu kako bi održali visoku razinu energije u molekularnom kretanju u plinovitoj fazi. Količina potrebne energije naziva se latentna toplina. Zbog oslobađanja latentne topline isparavanja, temperatura namirnice pada

Temperatura pri kojoj voda počinje isparavati izravno ovisi o okolnom tlaku pare. Na atmosferskom tlaku od 1atm, voda isparava na 100°C, ali se isparavati na nižoj temperaturi kada se tlak smanji ispod 1atm (Sun i Zheng, 2006).

Prednosti

Vakuum hlađenje ima nekoliko prednosti. Proizvodi mogu biti ohlađeni u veoma kratkom vremenu. Zbog brzine hlađenja, vakuum hlađenje donosi mnogo dodatnih prednosti, dolazi do povećanja trajnosti, smanjenja potrošnje energije, smanjenja mikrobiološkog rasta za kuhano meso. Brzina vakuum hlađenja ne ovisi o veličini proizvoda nego o poroznosti, što ga čini vakuum prikladan za velike količine proizvoda. Osim toga, vakuum hlađenje je higijenski povoljnije, budući da zrak ulazi u vakuum komoru na kraju procesa. Također, moguće je precizna kontrola temperature prilikom vakuum hlađenja

Mane

Unatoč navedenim izvrsnim prednostima, vakuum hlađenje također ima svoje nedostatke. Vakuum hlađenje je vrlo specifičan proces, koji je primjenjiv samo na vlažnim proizvodima s poroznom strukturom. Budući da se vakuum hlađenje postiže samo kroz isparavanje vode, samo proizvodi koji sadrže slobodnu vodu se mogu hladiti vakuumom (Sun i Zheng, 2006).

2.6. Modificirana atmosfera (MA):

Kontrolirana ili modificirana atmosfera (CA, MA) su pojmovi koji se odnose na dodavanje ili uklanjanje plinova iz prostorija, spremnika za transport ili ambalafe manjih dimenzija, kojim se regulira razina kisika, ugljikovog dioksida, dušika, etilena, itd., kako bi se postigao sastav atmosfere različit od onoga u normalnoj atmosferi (zraku). Pojam modificirane atmosfere se koristi kada sastav atmosfere nije u potpunosti «kontroliran», na primjer pri pakiranju u plastične filmove, dok se pojmom kontrolirana atmosfera označava upravljanje i održavanje sastava plinova u određenim granicama koncentracije. Modificirana atmosfera se postiže sniženjem udjela kisika (O_2) i povećanjem udjela ugljikovog dioksida (CO_2) ili dušika (N_2) (Lovrić, 2003).

Modificirana atmosfera može se postići i aktivno ili pasivno. Aktivna modifikacija obično podrazumjeva ubrizgavanje smjese plinova određenog sastava prije zatvaranja ambalafe. Pasivna modifikacija - može se postići i procesom disanja voćnih ili površinskih (Zagory i Kader, 1988.).

Prednosti korištenja modificirane atmosfere uključuju smanjeno disanje, proizvodnju etilena i osjetljivost na etilen; smanjenje omekšavanja proizvoda i promjene sastava, ublažavanje određenih fizioloških promjena i smanjuje propadanje (Kader, Zagory, Kerbel i Wang 1989).

Pakiranje u modificiranoj atmosferi (MA) je tehnološki postupak u kojem se neki prehrambeni proizvod omota nepropusnim, odnosno slabo propusnim (ambalafnim) materijalom (folijom), pri čemu je zrak zamijenjen odgovarajućom smjesom plinova, kako bi se produžila trajnost proizvoda. Uloga smjese plinova je u smanjenju intenziteta disanja, rasta mikroorganizama i usporavanju enzimske aktivnosti ovisno o vrsti proizvoda (Lovrić, 2003).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

Za istraffivanje je upotrijebljena malina sorte Tullamen.

Za pakiranje maline kori-tena su vre ice (Dora-Pak d.o.o., Hrvatska) sastavljene od **dvoslojne folije**, odnosno poliamida, **PA**, (koji djeluje kao nepropusni materijal) i polietilena, **PE**, koji osigurava termozavarivanje vre ice (PE/PA vre ice).

Kao modificirana atmosfera je kori-tena mje-avina plinova 20%CO₂/ 5%O₂/ 75%N₂ (MAP) u boci nabavljenoj od dobavlja a Messer Croatia Plin d.o.o.

Masa malina u pakovini je bila 150g.

Tablica 4. Karakteristike vre ica kori-tenih za pakiranje ohla ene maline

(PA 20/PE 70):

Karakteristike	Prazne
Debljina ukupna (µm)	90
Dimenzije vre ice (mm)	225x250

3.2. Priprema uzoraka - Hlađenje, pakiranje i čuvanje uzoraka

Maline nisu prane prije hla enja i pakiranja budu i da su preosjetljive.

Hla enje se provodilo na dva na ina:

Hla enje vo a u vakuumu do 10°C, jer je za daljnje snifjenje temperature bilo potrebno pove ati vakuum -to je izazivalo nepofeljnu dehidraciju plodova. Nakon hla enja uzorci su zapakirani u vre ice s normalnom atmosferom i MAP-om, nakon ega su vre ice s vo em pohranjivane u iste hladnjake kao i škonvencionalno ohla eno vo e.

Hla enje u hladnjaku na temperaturu 1°C, 5°C i 10°C, nakon ega su uzorci zapakirani u vre ice s normalnom atmosferom i MAP-om. Kao kontrolni uzorak kori-ten je uzorak nezapakiranog vo a izlofen atmosferi okoline hladnjaka.

Pakiranje je provedeno u:

a) normalnoj atmosferi (zraku) ó pasivna atmosfera (21% O₂/1% CO₂ (+Ar)/78% N₂);

b) modificiranoj atmosferi sastava 5% O₂/20% CO₂/75% N₂.

Pakiranje u modificiranoj atmosferi je provedeno u specijalnoj komori za pakiranje u MAP-u (DORADO, JUNIOR DIGIT) povezanoj s bocom s plinom odre enog sastava.

Skladi-tenje pripremljenih uzoraka provedeno je u hladnjacima pri temperaturama od 1°C, 5°C i 10°C tijekom 7 dana. Analize su provo ene prvi, etvrti i sedmi dan.

Tablica 5. Plan istraffivanja

Na in hla enja	Sastav atmosfere	Temp. skladi-tenja (°C)	Dani analize (odre ivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom) tijekom skladi-tenja		
Konvencionalno hla enje- nezapak.	Zrak	1	1	4	7
		5			
		10			
Konvencionalno hla enje (C)	Zrak	1			
		5			
		10			
	MA	1			
		5			
		10			
Vakuum hla enje VC	Zrak	1			
		5			
		10			
	MA	1			
		5			
		10			

3.3. Metoda rada

3.3.1. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal zbog nesparenog elektrona postiže apsorpcijski maksimum u vidljivom dijelu spektra (517 nm) i ljubiaste je boje. Promjena ljubiaste boje u plutu posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa, stvaraju i reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005; Braca i sur., 2001).

Aparatura i pribor:

1. Spektrofotometar (UV UNICAM HELIOS)
2. Staklene kivete
3. Tehnička vaga Mettler (točnost $\pm 0,01$ g)
4. Analitička vaga Kern ABT 220-4M
5. Povratno hladilo
6. Tronoflac
7. Plamenik
8. Azbestna mrežica
9. Erlenmeyerova tikvica sa žilom volumena 250 mL
10. Filter papir
11. Stakleni lijevci
12. Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
13. Odmjerne tikvice, volumena 100 mL i 1 L
14. Menzura, volumena 200 mL i 1 L
15. Epruvete
16. Stalac za epruvete
17. Plastična lica za vaganje

Reagensi:

1. 0,5 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)

2. 100 % -tni metanol
3. Mravlja kiselina

Priprema reagensa

0,5 mM otopina DPPH

0,02 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) odvaflje se u plasti noj la ici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tkvici od 100 mL.

Priprema ekstrakata

Od 2 g uzorka pripremi se 10 ml ekstrakta. Ekstrakcija se provodi u ultrazvu noj kupelji koja je prethodno zagrijana na 50°C. Otopalo za ekstrakciju je 1 % otopina mravlje kiseline u 80 % metanolu. Dobiveni ekstrakt se centrifugira 10 minuta pri 5500 okretaja/min, dekantira i nadopuni do 10 ml otapalom za ekstrakciju. Dobiveni ekstrakt se skladi-ti do analize na -18°C u atmosferi inertnog plina.

Postupak odre ivanja

U epruvetu se otpipetira 2 mL ekstrakata, 2 mL metanola te 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Epruvete sa sadrflajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi nakon ega se mjeri apsorbancija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu.

Za svaki pojedini uzorak ra ene su dvije paralele.

Izmjerene apsorbancije nisu prelazile vrijednost 1,0 pa ekstrakte uzoraka nije bilo potrebno razrije ivati. Pofeljne vrijednosti apsorbancije iznose od 0,1 do 0,9.

Izrada bafldarnog pravca

Za pripremu bafldarnog pravca pripremi se 100 mL 0,02 M otopine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) iz koje se pripreme razrije enja u

koncentracijama 0, 25, 50, 100, 200 i 300 M na na in da se u odmjerne tikvice volumena 50 mL redom otpipetira 0; 6,25; 125; 250; 500 i 750 L alikvot otopine troloxa te do oznake nadopuni 100%-tnim metanolom.

U epruvetu se otpipetira redom 200 µL odgovaraju e otopine Troloxa, 3,8 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Sadržaj se promiješa i ostavi stajati 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi nakon ega se mjeri apsorbancija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

Izra unavanje

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije otopina Troloxa nacrtana se baždarni pravac pomoću programa unala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (M) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$Y = - 0,00123814 \times X + 1,2031$$

$$R^2 = 0,9965$$

Iz pripadaju e jednadžbe pravca izra unana se antioksidacijski kapacitet (X) ekstrakta na temelju izmjerenih apsorbancija odre enih DPPH metodom.

gdje je:

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

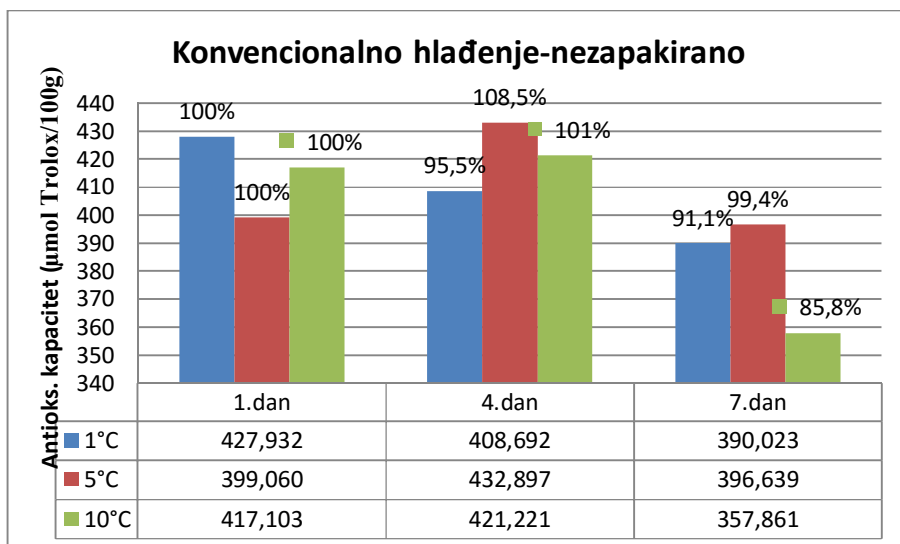
X = ekvivalent Troloxa (µmol/L)

1,2031 = odsječak pravca na osi Y

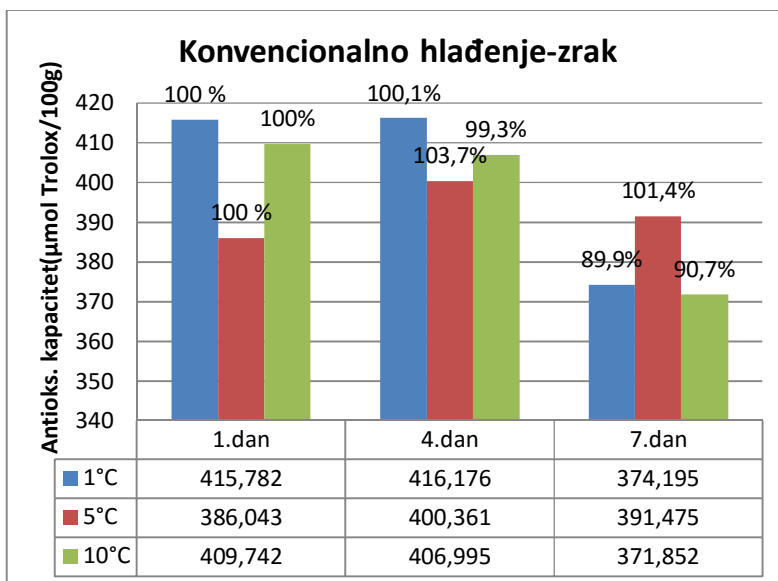
Antioksidacijska aktivnost uzorka µmol Troloxa/100g uzorka prera unana se uzevši u obzir odvagu uzorka i razrje enje.

4. REZULTATI

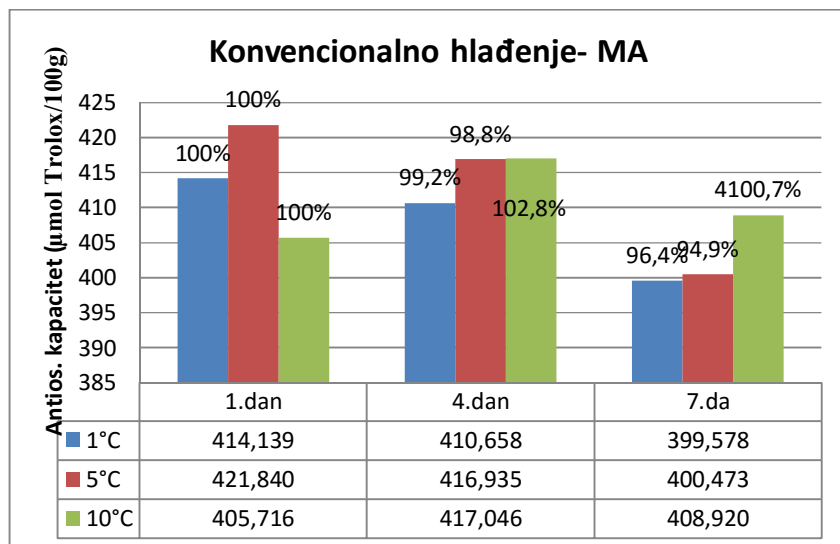
4.1. Rezultati antioksidacijskog kapaciteta



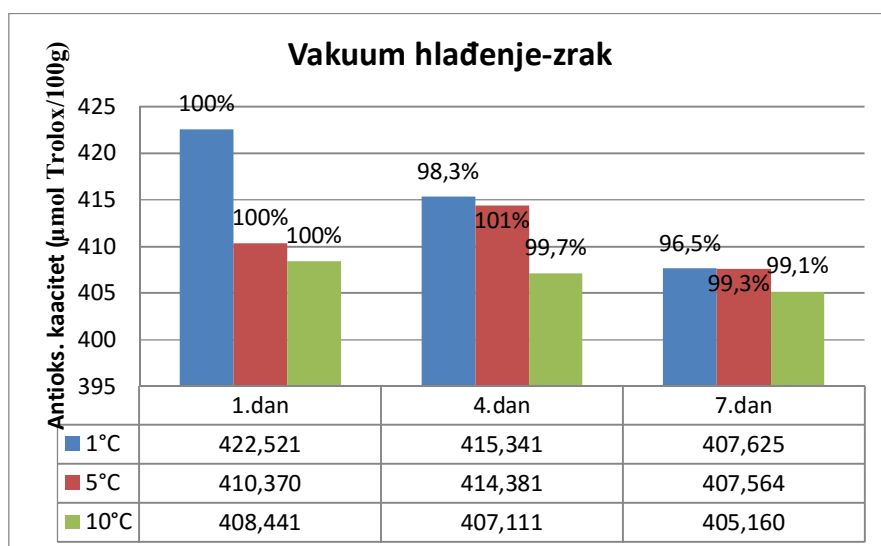
Slika 3: Antioksidacijski kapacitet nezapakiranih malina tijekom skladištenja



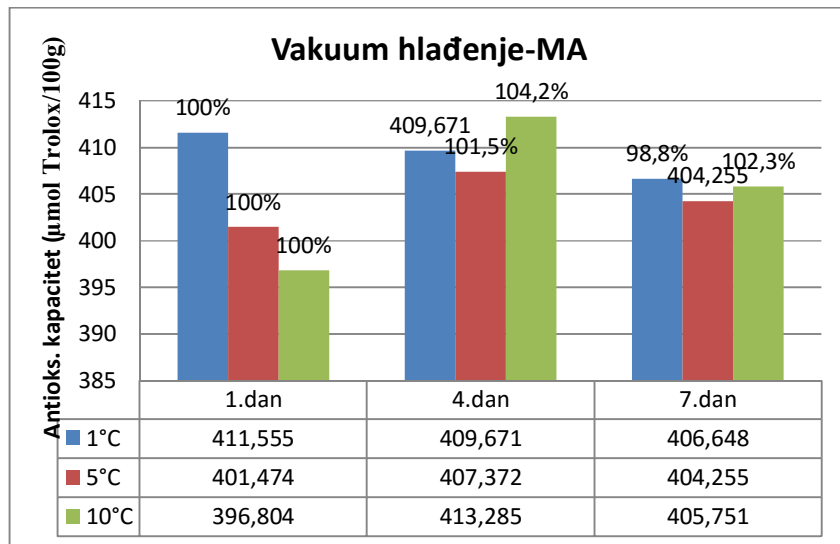
Slika 4: Antioksidacijski kapacitet konvencionalno hlađenih zapakiranih malina tijekom skladištenja



Slika 5. Antioksidacijski kapacitet konvencionalno hlađenih malina zapakiranih u MA tijekom skladištenja



Slika 6. Antioksidacijski kapacitet vakuum-hlađenih, zapakiranih malina tijekom skladištenja



Slika 7. Antioksidacijski kapacitet vakuum-hlađenih, zapakiranih malina u MA tijekom skladištenja

5. RASPRAVA

Iz rezultata dobivenih ovim istraživanjem vidi se da antioksidacijski kapacitet kroz 7 dana skladištenja mijenja od 427,931 mol/100g (1.dan skladištenja pri 1°C-nezapakirane maline) do minimalne vrijednosti 357,860 mol/100g (3 dan skladištenja pri 10°C-nezapakirane maline), pri čemu je maksimalna vrijednost postignuta pri 5°C u konvencionalno hlađenim nezapakiranim malinama.

Konvencionalno hlađenje nezapakirane maline : u prvom periodu skladištenja je došlo do povećanja antioksidacijskog kapaciteta kod 5 i 10°C, dok je kod 1°C došlo do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta. U drugom periodu je došlo do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta i to sve više s povećanjem temperature.

Konvencionalno hlađenje pakirane maline u atmosferi zraka: u prvom periodu skladištenja nije došlo do promjene antioksidacijskog kapaciteta, osim kod 5°C gdje je došlo do malog povećanja. U drugom periodu skladištenja došlo je do sniženja antioksidacijskog kapaciteta.

Konvencionalno hlađenje pakirane maline u MA: antioksidacijski kapacitet kontinuirano pada pri 7 dana pri 1 i 5°C, dok pri 10°C raste pa pada temperature prvom periodu raste a u drugom periodu pada.

Vakuumno hlađenje pakirane maline u atmosferi zraka: pri 1 i 10°C došlo je do kontinuiranog sniženja antioksidacijskog kapaciteta, dok je pri 5°C u prvom periodu došlo do povećanja, a u drugom do sniženja antioksidacijskog kapaciteta i to sve s porastom temperature.

Vakuumno hlađenje pakirane maline u MA: u prvom periodu skladištenja pri 5 i 10°C došlo je do rasta antioksidacijskog kapaciteta, a u drugom periodu skladištenja došlo je do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta i to sve s porastom temperature. Pri 1°C došlo je do kontinuiranog sniženja antioksidacijskog kapaciteta.

Ukupno gledajući i utjecaj temperature primjećuje se da pri 1°C kontinuirano dolazi do sniženja antioksidacijske aktivnosti plodova dok pri 5 i 10°C u većini uzoraka dolazi prvo do porasta, a zatim sniženja. Najveća određena vrijednost nakon 7 dana skladištenja bila je u plodovima konvencionalno hlađenim pakiranim u MA i skladištenim pri 10°C. Također su

vrlo visoke vrijednosti 7. Dana određene u vakuum hladnim plodovima pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C, te u vakuum hladnim plodovima pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C, te u vakuum hladnim plodovima pakiranim u MA i skladištenim pri 1°C.

Mullen i suradnici(2002) su istraživali utjecaj hlađenja i skladištenja na fenole, elagitanine, flavanoide i antioksidacijski kapacitet crvene maline. Istraživanje je pokazalo kako skladištenje pri niskim temperaturama nije imalo utjecaja na antioksidacijski kapacitet. Maline su skladištene na 4°C u periodu od 3 dana, te na 18°C kroz 24h. Kada su maline bile skladištene pri 4°C 3 dana i na 18°C 24h, razina antocijanina je bila ne promijenjena dok je se razina vitamina C malo snizila, a razina elagitanina lagano povećala. Zaključeno je da nema razlika u antioksidacijskom kapacitetu između maline koja je skladištena pri niskim temperaturama i one koja je skladištena pri povišenim temperaturama.

Kalt i suradnici(1999) su istraživali utjecaj temperature skladištenja maline na antioksidacijski kapacitet i ukupne fenole, antocijane i askorbinsku kiselinu. Maline su bile skladištene na 0, 10, 20 i 30°C. Rezultati su pokazali porast antioksidacijskog kapaciteta prilikom skladištenja na temperaturama višim od 0°C, što je rezultiralo porastom koncentracije fenola i antocijana, a došlo je do sniženja koncentracije askorbinske kiseline. Rezultati su također pokazali da su na antioksidacijski kapacitet maline najviše utjecali antocijani i fenoli, dok askorbinska kiselina nema velikog utjecaja na antioksidacijski kapacitet.

U radu koji su objavili Moor i suradnici(2009) cilj je bio odrediti utjecaj modificirane atmosfere na kvalitetu maline Polka. Maline skladištene u normalnoj atmosferi su služile kao kontrolni uzorak. Maline su skladištene 3 dana na 1,6°C, onda se pola vrećica prebacilo u modificiranu atmosferu na 6°C, a pola je ostalo još 3 dana na 1,6°C. Istraživanje je pokazalo da modificirana atmosfera pozitivno utječe na očuvanje boje i također na očuvanje antioksidacijskog kapaciteta.

Najbolji rezultati za sedam dana su pokazali da postoji razlika između konvencionalno hlađenih malina ili u vakuumu te skladištenih pri različitim temperaturama i u različitim uvjetima. Antioksidacijski kapacitet je kontinuirano padao kroz sedam dana prilikom skladištenja pri 1°C dok pri 5 i 10°C u većini uzoraka dolazi prvo do porasta, a zatim sniženja. U vakuum hlađenim plodovima sedmog dana uočene su vrlo male razlike antioksidacijskog kapaciteta neovisno o temperaturi skladištenja i atmosferi u pakiranjima. U konvencionalno hlađenim malinama uočeno je veći utjecaj i temperature skladištenja i atmosfere u pakiranju s tim da su niže temperature imale negativan učinak, a modificirana atmosfera pozitivan. U nezapakiranim konvencionalno hlađenim plodovima neovisno o temperaturi skladištenja određene su najmanje vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta.

6. ZAKLJUČAK

Prema izmjerenim podacima za antioksidacijski kapacitet plodova maline koji su hlađeni različitim metodama prije pakiranja u različitim uvjetima i skladišteni kroz sedam dana pri tri temperature može se zaključiti:

- Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta bile su od 427,931 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (1.dan skladištenja pri 1°C-nezapakirane maline) do 357,860 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (3 dan skladištenja pri 10°C-nezapakirane maline).
- Najslabija sa uvanost antioksidacijskog kapaciteta sedmog dana određena je u nezapakiranim plodovima neovisno o temperaturi skladištenja.
- Najbolja sa uvanost antioksidacijskog kapaciteta sedmog dana skladištenja je pri 10°C za konvencionalno hlađenje u uvjetima modificirana atmosfera (408,920 $\mu\text{mol}/100\text{g}$), a približne vrijednosti određene su i u vakuum hlađenim plodovima i to pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C (407,625 i 407,564 $\mu\text{mol}/100\text{g}$), te pakiranim u MA i skladištenim pri 1°C (407,648 $\mu\text{mol}/100\text{g}$).
- U konvencionalno hlađenim malinama viša temperatura skladištenja i modificirana atmosfera imaju pozitivan utjecaj na antioksidacijski kapacitet, dok u vakuum hlađenim plodovima nije uočeno veći utjecaj ni temperature niti atmosfere skladištenja.

7. LITERATURA

1. Bobinait R., Vi-kelis P. Venskutonis, P. R. 2012. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars, *Food Chem.* **132**,1495-1501.
2. Castrejón A., Eichholz I., Rohn S., Kroh L. W., Huyskens-Keil S. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening, *Food Chem.* **109**, 564-572.
3. FAOSTAT (2015.) Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics division< <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>Pristupljeno 27,07,2015
4. Gaziano, J.M., Manson, J.E., Buring, J.E., Henneksen, C.H. (1992) Dietary antioxidants and cardiovascular disease, *Ann. New York Acad Sci.* **669**, 249-259.
5. Gey, K.F., Puska, P., Jordan, P. and Moser, U.K. (1991) Inverse correlation between plasma Vitamin E and mortality from ischemic-heart-disease in cross cultural epidemiology. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 3266334.
6. Giovanelli G., Buratti S. 2009. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties, *Food Chem.* **112**, 903908.
7. Haffner, K.; Rosenfeld, H.J., Skrede, G., Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, Vol.24, pp. 279-289, ISSN 0925-5214.
8. Jakobek L. i su., Antioksidacijska aktivnost polifenola iz borovnice i jagode, *Pomologia Croatica* Vol.14-2008.,br 1
9. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL. (1999) Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food. Chem.***47**,4638-44. DOI: 10.1021/jf990266t
10. Lovri , T. (2003.): *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inflejerstva*, Hinus, Zagreb
11. Manganaris G. A., Goulas V., Vicente A. R. and Terry L.A. (2014) Berry antioxidants: small fruits providing large benefits, *J. Agric. Food. Chem*, **94**,8256833
12. McGhie TK, Walton MC.(2007) The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding., *Mol. Nutr. Food. Res.***51**,702-13.

13. Mölder, Moor, Tõnutare and Põldma (2010) Postharvest quality of 'Glen ample' raspberry as affected by storage temperature and modified atmosphere packaging., *J. Fruit Ornam. Plant Res.* **19**, 145-153
14. Moor, U., et al. "The effect of modified atmosphere storage on the postharvest quality of the raspberry 'Polka'" *ISSN 1406-894X* 12.3 (2009): 745-752.
15. Mullen W, Stewart , A. J., Lean E. J. (2002) Effect of Freezing and Storage on the Phenolics, Ellagitannins, Flavonoids, and Antioxidant Capacity of Red Raspberries, *J. Agric. Food Chem.* **50**, 519765201; DOI: 10.1021/jf020141f
16. Pandey K. B. and Rizvi S. I., "Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2**, 2706278, 2009.
17. Pantelidis, G.E.; Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. and Diamantidis, Gr. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem.* **102**, 777-783, ISSN 0308-8146
18. Percival M., *Antioxidants*; 1996 Advanced Nutrition Publications, Inc., *Clinical Nutrition Insights*, 1998
19. Prakash, A., Rigelhof, F. and Miller, E. "Antioxidant Activity. Available from World Wide Web: http://www.medlabs.com/downloads/antiox_acti_.pdf. 2011.
20. R. Bobinait , P. Vi-kelis , A. Morkinas & P.R. Venskutonis (2013) Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of raspberry fruit, pulp, and marc extracts, *CyTA ó J. Food Sci.* **11**, 334-342, DOI: 10.1080/19476337.2013.766265
21. Stiles, Edmund W. 1980. Patterns of fruit presentation and seed dispersal in bird-disseminated woody plants in the Eastern deciduous forest. *American Naturalist.* **116**, 670-688.
22. USDA (2015.) United States Department of Agriculture óNatural Resources Conservation Service, <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2419>> Pristupljeno 27.07.2015
23. Vol evi B., *Jagoda, malina, kupina*, Bjelovar: Neron, 2005
24. Zagory K., Kader A., Kerbel A., C.Y. Wang.; Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables., *Critical Reviews in J. Food. Sci.* Volume 28, Issue 1, 1989., DOI: 10.1080/10408398909527490
25. Zagory K., Kader A., Modified atmosphere packaging of fresh produce, *Food Technology* **42**: 70-74 & 76-77, Institute of Food Technologists 1988

26. Ziegler, R.G. (1991) Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 251-259.