

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Morana Novak

6919/N

**UTJECAJ PRIPREME I STAJANJA NA SENZORSKA
SVOJSTVA I ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST
NAPITKA OD LISTA MASLINE**

ZAVRŠNI RAD

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

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

Zagreb, 2017.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

UTJECAJ PRIPREME I STAJANJA NA SENZORSKA SVOJSTVA I ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST NAPITKA OD LISTA MASLINE

Morana Novak, 00582047558

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je odrediti utjecaj pripreme i stajanja na antioksidacijsku aktivnost i senzorska svojstva napitka (infuzije) lista masline. U tu svrhu pripremljeno je tri uzorka napitka od lista masline koja su se razlikovala u vremenu kontakta listića i vode. Promjene su praćene i mjerene kroz 15, 30, 60, 240 i 420 min. Pomjene antioksidacijske aktivnosti praćene su primjenom DPPH metode. Praćeno je i kako se mijenjaju senzorska svojstva napitka od lista masline kroz isto vrijeme stajanja. Prema dobivenim rezultatima, može se zaključiti da na antioksidacijsku aktivnost utječe vrijeme kontakta, ali ne i vrijeme stajanja. . Dok vrijeme stajanja značajno utječe na senzorska svojstva infuzije iako je napitak i nakon 420 min bio svojstven na list masline.

Ključne riječi: infuzija lista masline, napitak, antioksidacijska aktivnost, senzorska svojstva

Rad sadrži: 30 stranica, 16 slika, 3 tablice, 33 literaturni navod

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Pomoć pri izradi: *dr.sc. Maja Repajić*

Rad predan: srpanj 2017.

DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate Study Nutrition

Department of Food Engineering

Laboratory for processes of preserving and processing fruit and vegetables

STABILITY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SENSORY PROPERTIES OF OLIVE LEAF DRINK

Morana Novak, 00582047558

Summary: The aim of this study was to determine the influence of preparation and staying on antioxidant activity and sensory properties of olive leaf drink (infusion). For this purpose, three samples of olive leaf infusion were prepared, which differed in the time contact of leaf and water. Changes were monitored and measured over 15, 30, 60, 240 and 480 min. The By using the DPPH method antioxidant activity was determined. Sensory properties of olive leaf drinks were also monitored during the same staying time. From the obtained results, it can be concluded that the time of contact affects on antioxidant activity. The staying time significantly influenced the sensory properties of the infusion but its still retain its typical attributes.

Keywords: olive leaf infusion, drink, antioxidant activity, sensory properties

The paper contains: 30 pages, 16 figures, 3 tables, 33 references

Source language: Croatian

The paper is printed and electronic (pdf format) form stored in: Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Branka Levaj, PhD, full professor

Help with the production: Maja Repajić, PhD

Work Committed: July 2017.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	
2.1. MASLINA.....	2
2.2. INFUZIJA LISTA MASLINE.....	4
2.3. FENOLNI SPOJEVI.....	5
2.3.1. Polifenoli u maslini.....	6
2.4. ANTIOKSIDANSI.....	7
2.4.1. Antioksidacijska aktivnost infuzije lista masline.....	9
2.5. SENZORSKA ANALIZA.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. MATERIJALI.....	14
3.2. METODE RADA	
3.2.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom.....	15
3.2.2. Senzorska analiza	18
4. RASPRAVA I REZULTATI	
4.1. Rezultati određivanja ukupne antioksidacijske aktivnosti.....	19
4.2. Rezultati senzorske analize infuzije lista masline.....	21
5. ZAKLJUČCI	29
6. LITERATURA	30

1. UVOD

Maslina je jedna od najstarijih kultiviranih biljni vrsta s područja Mediterana. Zbog svog dekorativnog izgleda, vrijednosti koju nose plodovi, ljepote drva i lišća, maslina je nezaobilazna u hortikulturi mediteranskog područja. Maslina je od davnina poznata po svom pozitivnom učinku na ljudsko zdravlje jer smanjuje rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti, pozitivno utječe na profil lipida u krvi, pokazala je dobar utjecaj na razinu glukoze u krvi, ima izražena antimikrobna, antikancerogena i protuupalna svojstva. Upravo ta ljekovitost masline može se pripisati polifenolima, bioaktivnim spojevima koje sadrži u najvećim količinama.

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji su u biljkama nosioci karakteristične boje, okusa, mirisa i biološke vrijednosti. Njihov sadržaj u biljkama varira i ovisi o vrsti biljke, uzgoju, okolišnim uvjetima, stupnju zrelosti te uvjetima proizvodnje i prerade. Najzastupljeniji polifenol u listu masline na kojem su provedena mnoga istraživanja je gorki spoj oleuropein koji pripada skupini sekoiridoida. Istraženo je da oleuropein ima veliku antioksidacijsku moć i da djeluje kao hvatač slobodnih radikala. To znači da ima sposobnost stabilizacije nesparenih elektrona i neutralizacije štetnog djelovanja slobodnih radikala u organizmu, a samim time smanjuje rizik za razvoj mnogih kroničnih bolesti.

Infuzija od lista masline se od davnina koristila u svrhu liječenja najvjerojatnije zahvaljujući antioksidacijskoj aktivnosti koju posjeduju polifenoli koji se nalaze u listu masline.

Cilj ovog istraživanja bio je proučiti kako priprema napitka od lista masline i vrijeme stajanja utječu na antioksidacijsku aktivnost i senzorske karakteristike napitka: boju, miris, aromu i okus.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASLINA (*Olea Europaea* L.)

Maslina je kao biljka bila vrlo cijenjena kroz prošlost, pogotovo u ljudi mediteranskog podneblja. Ona predstavlja simbol obilja, slave i mira i njezine grančice su se koristile za izradu krune pobjednika Prijateljskih igara i krvavog rata. Plod masline, drvo, ulje i list masline našli su široku upotrebu u ljudi, još u doba starih civilizacija kao što su Egipćani, Grci, Rimljani i Židovi. Samo podrijetlo masline još uvijek nije poznato i o njemu postoje brojne teorije. Najveći dio masline, čak 98% stabala masline uzgaja se na području Sredozemlja, iako se njezin uzgoj danas proširio i na područje JAR-a, Argentine, Čile-a, Urugvaja, Meksika i mnogi drugih zemalja (Večernik, 2003).

Maslina ima dugu tradiciju i u Hrvatskoj jer se njen početak upotrebe pripisuje dolasku Grka u Hrvatskoj, a sam procvat proizvodnje dogodio se početkom XIX. stoljeća.

Pripada razredu Magnoliatae, podrazredu Asteridae, redu Pleales, porodici Oleaceae, rodu *Olea*. Zimzeleno drvo, vrlo razgranatog korijena, debelog stabla i bogate krošnje raste na mediteranskom području Europe. Može doseći visinu 3 do 13 metara, a jedno stablo može dati 15 do 40 kg masline. Životni vijek masline je jako dug i ona u tom periodu prolazi kroz nekoliko razdoblja koja se razlikuju po rodnosti same masline. Svoj vrhunac proizvodnje doseže između 7. i 30. godine života. Kako bi prinosi masline bili što veći i stabilniji, potrebno je voditi brigu o pravovaljanom navodnjavanju, dovoljno svjetlosti i manjoj izloženosti vjetru.

Listovi masline su nasuprotno raspoređeni, duguljastoeliptična oblika, s vrlo kratkom lisnom peteljkom i sa cijelim rubom. Plod je bobica koštunica, loptasto-jajasta oblika. U početku je zelene boje, a poslije crvenkast, a kada dozrije tamnomodre ili crne boje.

Srednja godišnja temperatura koja odgovara zoni uzgoja masline je 15 do 20 °C, ali i temperatura oko 40 °C neće biti štetna za maslinu ako je drvo dovoljno opskrbljeno vodom.

Postoji oko 1275 registriranih sorti masline. Osnovna podjela sorata masline prvenstveno polazi od njihove namjene, pa se svrstavaju u uljne i stolne sorte.

Neke od poznatih uljnih sorti su: bjelica, buža, drobnica, leccino, grozdulja, karbona, karbunčela, lastovka, levantinka, puljka, piculja, rosinjola, rosulja, sitnica, slatka, šarulja, uljarica, zuzorka, žutica. U stolne sorte spadaju dužica i murgulja, dok postoje i mješovite sorte kao što su buža, karbonera, oblica, grozdača, slivnjača, mezanica, želudarica. Jedna od najzastupljenijih vrsta je oblica čiji je prosječni dio ulja 17 do 22% (Slika 1).



Slika 1. Sorta Oblica (Anonymous, 2002)

Na području Republike Hrvatske uzgaja se oko 90% produktivnih stabala masline. Kod nas se uzgaja oko 60 domaćih i introduciranih sorata. Na području Istre su najpoznatije bjelica, buga, moražola, rosinjola i drobnica. Kvarner i Podvelebitsko područje su poznati po slivnjači, plominki, rosulji, slatki, drobnici i oblici. Na području sjeverne i srednje Dalmacije se najviše uzgajaju oblica, drobnica, piculja, krvavica, levantinka i lastovka. Južna Dalmacija se ističe po uzgoju oblice, uljarice, murgulje, piculje, želudarice, mezanice, žutice i grozdače (Večernik, 2003).

2.2. INFUZIJA LISTA MASLINE

Porijeklom iz Kine, infuzija je postala popularna u posljednjih 2000 godina kao jedna od najpopularnijih bezalkoholnih napitaka. Pripada skupini tekućih ekstrakata.

Tekući ekstrakti pripremaju se potapanjem biljaka u određeno otapalo koje može biti alkohol, glicerol, etanol, smjesa vode i etanola i/ili glicerola. Svrha dobivanja tekućih ekstrakata je izolacija aktivni tvari iz biljke te uklanjanje balastnih tvari.

U tekuće ekstrakte ubrajamo infuzije, dekokte, macerate, glicerinske ekstrakte, perkolate i digeste.

Infuzije tj. čajevi su tekući ekstrakti u kojima se aktivne tvari ekstrahiraju vrućom vodom kojom se preliju osušeni dijelovi biljke. Važno je provesti sušenje prije pripreme infuzije jer se tim načinom koncentriraju ljekovite tvari.

Postupak pripreme infuzije je jednostavan. Voda se zagrije do vrenja, te se njom prelije osušena i/ili usitnjena biljka i to se ostavi pokriveno da stoji 5 do 15 min. Potom se talog odvoji od tekućine.

Infuzije se najčešće dobivaju od dijelova kao što su list, cvijet, cijeli nadzemni dio zeljaste biljke.

Polifenoli su biološki aktivna skupina komponenti čaja, koja imaju antioksidacijske, antimutagene i antikancerogene učinke (Karak i Bhagat, 2010). U čaju, postoje i drugi spojevi koji su korisni za ljudsko zdravlje poput fluorida, kofeina i esencijalnih minerala.

Pijenje infuzije povezano je s redukcijom serumskog kolesterola, prevencijom oksidacije lipoproteina niske gustoće, smanjenim rizikom od kardiovaskularnih bolesti i raka. U infuziji postoje i drugi spojevi koji su korisni za ljudsko zdravlje poput fluorida, kofeina i esencijalnih minerala. Nedavna studija pokazala je prisutnost elemenata u tragovima (metala s visokom relativnom atomskom masom) u čaju. Sadržaj elemenata u tragovima čaja može imati i korisne i štetne učinke na zdravlje ljudi (Karak i Bhagat, 2010).

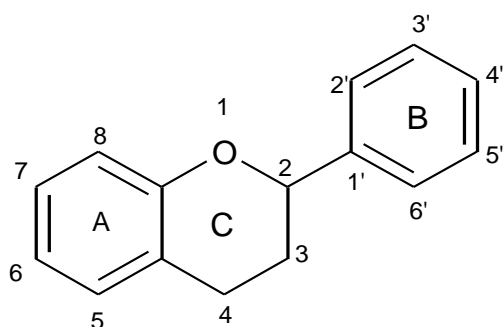
2.3. FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su kemijski spojevi u kojima je hidroksilna skupina (OH) direktno vezana na benzenski ili aromatski prsten. Nosioci su karakteristične boje, mirisa i biološke vrijednosti u biljkama, a sadržaj polifenola u biljkama ovisi o vrsti biljke, načinu uzgoja, stupnju zrelosti, okolišnim uvjetima te uvjetima prerade i skladištenja. Dijele se prema kemijskoj strukturi na flavonoide i ostale fenolne spojeve kao što su fenolne kiseline i ostali srodni spojevi (Slika 2). U prirodi ih rijetko možemo naći u slobodnom obliku. Najčešće su esterificirani s malim organskim kiselinama, konjugirani sa šećernim jedinicama ili se nalaze u polimernom obliku.

FLAVONOIDI

Flavonoidi su skupina polifenolnih spojeva koji se nalaze u mnogim biljkama i pokazuju izrazita antioksidacijska i antiradikalna svojstva. Imaju zaštitnu ulogu u biološkim sustavima jer imaju sposobnost hvatanja elektrona slobodnog radikala, kelatno mogu vezati ione prijelaznih metala i aktivirati antioksidacijske enzime i inhibirati oksidaze (Shortle i sur., 2014).

Flavonoidi se dijele ovisno o strukturi koja je prikazana na slici 3, o broju i položaju hidroksilnih skupina, stupnju nezasićenosti te stupnju oksidacije centralnog C-prstena.



Slika 3. Osnovna struktura flavonoida

Nalaze se u mnogim biljkama, koncentrirani u sjemenkama, koži ili kori voća, kori drveća, lišću i cvijeću. Flavonoidima se pripisuju i mnoga terapijska djelovanja, kao što su antibakterijska, protuupalna, antialergijska, antimutagena, antiviralna i antikancerogena (Kazazić, 2014) te povoljno utječu na mnoge bolesti, uključujući karcinogene i kardiovaskularne bolesti te neurodegenerativne poremećaje.

2.3.1. POLIFENOLI U MASLINAMA

Mediterransko područje, područje gdje se masline uglavnom uzgajaju, karakteriziraju produljena razdoblja sunčeve svjetlosti i visoke stope insekata i različiti patogenih organizama. Upravo za borbu protiv tih stresora, stabla masline sintetiziraju velike količine polifenola koji su uglavnom pohranjeni u njihovom debelom lišću. Mnogi čimbenici kao što su zemljopisni položaj, kultivar stabla i starost biljke će utjecati na koncentraciju i raznolikost polifenola prisutnih u listovima (Abaza i sur., 2015). Polifenoli se pretežno pojavljuju u konjugiranom obliku, s jednim ili nekoliko šećera vezanih za hidroksilnu skupinu. Do sada je jako puno studija bilo napisano i proučavano upravo na temu polifenola iz masline i njihovog učinka na zdravlje.

Broj i struktura tih fenolnih prstenova u polifenolnim spojevima određuje njihova biološka svojstva i koristi se za klasifikaciju polifenola. Polifenoli prisutni u listovima maslina su: oleuropeozidi (oleuropein i verbaskosid); flavoni (luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid, diosmetin-7-glukozid, luteolin i diosmetin); flavonoli (rutin); flavan-3-ol (katehin) i supstituirani fenoli (tirozol, hidroksitirozol, vanilin, vanilliskana kiselina i kavaska kiselina) (Karakaya i sur., 2016).

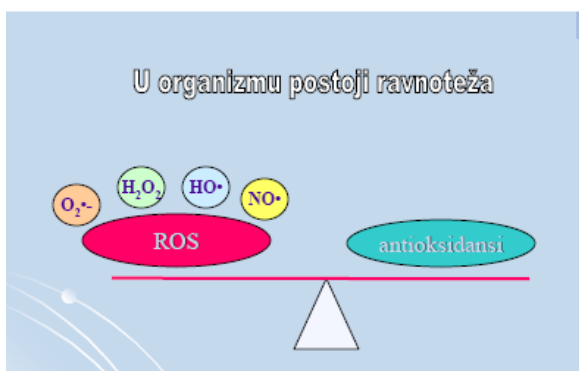
Sekoiridoidi su skupina spojeva koji se nalaze isključivo u biljkama obitelji Oleaceae i čine većinu polifenola masline i to oko 85% polifenola u maslinovom listu. Oleuropein je najviše zastupljen polifenol iz te skupine, dok su njegovi derivati oleuropein aglikon, oleozid i ligstroid aglikon također prisutni, ali u nešto manjim koncentracijama. Gorak spoj oleuropein, dominantni sekoiridoid u stablu masline, snažan je antioksidans sa protuupalnim svojstvima (Boss i sur., 2016). Obilje je istraživanja koja su upravo proučavala utjecaj oleuropeina na ljudsko zdravlje i njegove prednosti, uključujući sposobnost: snižavanja krvnog tlaka kod štakora (Nekooian i sur., 2015), smanjenja koncentracije glukoze u plazmi kod štakora (Jemai i sur., 2009), inhibiranja rasta mikroorganizama uzgojenih na pločama agara (Lee i sur., 2010), inhibiranja kultiviranih parazitskih protozoa i također je pokazala sposobnost izazivanja apoptoze u modelima raka karcinoma: kolorektalni (Cardeno i sur., 2013), grudi (Han i sur., 2009) i prostate.

Ekstrakt lista masline se sastoji od brojnih flavonoida uključujući luteolin, apigenin, rutin, katehin i diosmetin. Flavonoidi i drugi biljni fenoli, kao što su fenolne kiseline, tanini, lignani i lignini, posebno su važni antioksidansi jer oni obično imaju visok redoks potencijal (Lee i Kader, 2000).

2.4. ANTIOKSIDANSI

Antioksidansi su skupina različitih prirodnih spojeva koji imaju sposobnost spriječavanja oksidacije drugih tvari, a u biološkim sustavima služe za neutralizaciju slobodnih radikala. Oni stabiliziraju nesparene elektrone i neutraliziraju potencijalno štetno djelovanje slobodnih radikala, a da pri tome sami ne postanu nestabilni (Slika 4).

Slobodni radikali su molekule koje imaju nespareni elektron i stoga su izuzetno reaktivni i jako nestabilni jer reagiraju s drugim tvarima u okolini. Reaktivni kisik i dušik, vrste su bitne za opskrbu energijom, detoksikaciju, kemijsku signalizaciju i imunološku funkciju. Oni se u našem tijelu kontinuirano proizvode u normalnim fiziološkim procesima kao što je proces dobivanja energije. i njihova je proizvodnja kontrolirana endogenim enzimima kao što su superoksid dismutaze, glutation peroksidaze i katalaze (Karakaya i sur., 2016). Isto tako mogu nastati kao posljedica loših životnih navika ili kao rezultat vanjskih čimbenika kao što su: izloženost stresu, pretjerano izlaganje suncu (UV-zračenje), pretjeran fizički napor, izloženost ionizirajućem zračenju i zagađeni zrak. Uslijed izloženosti vanjskim oksidacijskim tvarima ili zbog pogrešaka koje nastaju u obrambenim mehanizmima, oštećenjem vrijednih biomolekula kao što su DNA, lipidi i proteini povećava se rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti, raka i drugih kroničnih bolesti. Kronična bolest povezana je s oksidacijskim stresom pa se preporuča povećani unos antioksidansa ili unos spojeva koji poboljšavaju vlastiti antioksidacijski sustav, čime se smanjuje rizik od tih bolesti i upravo zato postoji sve veći interes za prirodne antioksidanse kao bioaktivne komponente hrane (Tangvarasittchai, 2015).



Slika 4. Prikaz ravnoteže antioksidansa i slobodnih radikala u organizmu (Dragović Uzelac, 2013)

Antioksidansi mogu biti jednostavni enzimi ili neke male molekule koje su dobro topljive u lipidima i dobro topljive u vodi. To su brojne jednostavne ili složene molekule koje pretvaraju

nezasićene oblike (vrlo aktivne molekule slobodnih radikala) u kemijski zasićene, inaktivne oblike koji nisu opasni za normalnu aktivnost organizma (Landeka, 2016).

Dva su izvora antioksidansa: naš vlastiti organizam je sposoban proizvesti antioksidanse kao što su primjerice glutation i SOD. Drugi, vanjski izvor antioksidansa je hrana. Podijeljeni su u 2 skupine: primarni i sekundarni. Primarni antioksidansi inhibiraju ili usporavaju oksidaciju uklanjanjem slobodnih radikala dok sekundarni antioksidansi djeluju mehanizmom koji ne uključuje direktno uklanjanje slobodnih radikala. Neki od egzogenih antioksidansa koje unosimo hranom su vitamin A, vitamini B skupine i vitamin E (Hamid i sur., 2010).

Antioksidansi su odgovorni za zaštitu biljnih stanica u kojima su prisutni, za održavanje kvalitete voća i povrća te za pozitivan učinak na zdravlje ljudi koji konzumiraju voće i povrće bogato antioksidansima. Antioksidansi i enzimski sustavi uključeni u njihovu sintezu i obnovu, štite stanične membrane i organele od oštećenja uzrokovanih štetnim učincima reaktivnih kisikovih jedinki (ROS). ROS nastaju i tijekom normalnog staničnog metabolizma, dok se pojačano stvaraju u uvjetima stresa uslijed nepovoljnog djelovanja različitih biotičkih i abiotičkih čimbenika. ROS uzrokuju oksidacijska oštećenja lipida, proteina i nukleinskih kiselina (Pietta, 2000).

2.4.1. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST INFUZIJE LISTA MASLINE

Zahvaljujući svojem kemijskom sastavu, maslina se kroz povijest koristila kao tradicionalan lijek u medicini širom svijeta. Upravo ta sposobnost se pripisuje oleoruropeinu, najviše zastupljenom polifenolu u listu masline. U prošlosti napitak od suhog lišća koristio se oralno za liječenje bolesti crijeva i želuca te bolesti žučnih kamenaca. Dekokti sušenog lišća i ploda konzumirani su kako bi se ublažili simptomi infekcija dišnih puteva, mokraćnog sustava te smanjile neugodnosti vezane uz dijareju i bolove u trbuhu. Ekstrakt koji se dobio preljevanjem vruće vode preko suhog lišća koristio se za liječenje hipertenzije i izazivanje diureze te za liječenje bronhijalne astme. Korištenje ljekovitih svojstava listova maslina potječe još početkom 1800-ih kada su ekstrakti korišteni za liječenje malarije (Khayyal i sur., 2002). Isto tako maslinovo ulje se koristilo kao lijek. Prvenstveno se koristilo u problemima s kosom te se u tu svrhu stavljalo na samo vlasište, a drugi dan je služilo kao šampon. Bila je poznata i njegova uloga laksativa kod gastrointestinalnih bolesti. Sam plod masline se koristio za vanjsku upotrebu, stavljao se na ozlijeđene udove ili kao sredstvo za čišćenje kože. Infuzije svježeg lišća korištene su kao protuupalni lijekovi (Qasem i sur., 2015).

Zbog potencijalnog utjecaja antioksidansa na zdravlje ljudi, znanstvenici su pokušavali povećati sadržaj fenolnih spojeva u biljkama te istražiti nove učinke i razjasniti kvantitativne odnose strukture i aktivnosti različiti vrsta fenola (Karakaya i sur., 2009).

Međutim postoje određena ograničenja kada su u pitanju antioksidansi i njihov utjecaj na slobodne radikale. Antioksidacijsko sredstvo mora dosegnuti te radikale u aktivnom obliku kako bi ih inaktiviralo, a istovremeno radikali mogu reagirati s drugim biološkim molekulama kao što su DNA i lipidi i to istom brzinom kao i antioksidacijska sredstva. To znači, da bi trebalo konzumirati veliku količinu polifenola kako bi oni mogli imati ikakav utjecaj na ljudsko zdravlje (Salem i sur., 2014).

Postoji teorija da antioksidacijski spojevi, kao što su polifenoli, mogu aktivirati faktore transkripcije i time transkribiraju gene za zaštitne enzime koji imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje (Forman i sur., 2014).

Tablica 1. Antioksidacijska aktivnost (mmol/L) polifenola prisutnih u listu masline

SASTAV POLIFENOLA	
Ekstrakt maslinovog lista	1.58±0.06
Rutin	2.75±0.05

Katehin	2.28±0.04
Luteolin	2.25±0.11
Hidroksitirozol	1.57±0.12
Diosmetin	1.42±0.07
Kavska kiselina	1.37±0.08
Verbaskozid	1.02±0.07
Oleuropein	0.88±0.09
Luteolin-7-glukozid	0.71±0.04
Vanilinska kiselina	0.67±0.09
Diosmetin-7-glukozid	0.64±0.09
Apigenin-7-glukozid	0.42±0.03
Tirozol	0.35±0.05
Vanilin	0.13±0.01

Gorki spoj oleuropein, glavni sastojak sekoiridoidnih spojeva masline, pokazao se kao snažan antioksidans s protuupalnim svojstvima. Proučavani su i identificirani svi fenolni spojevi masline i određena je njihova antioksidacijska aktivnost (Abaza i sur., 2015). Cijeli ekstrakt maslinovog lišća pokazuje 72% veću antioksidacijsku aktivnost s obzirom na teoretsku vrijednost aktivnosti dobivene iz zbroja prosječnih pojedinačnih vrijednosti aktivnosti svih fenolnih spojeva prisutnih u maslin. To pokazuje da fenoli masline pokazuju sinergističko djelovanje kada se izmiješaju, što se događa u samom ekstraktu od lista masline i samim time njihova antioksidacijska aktivnost je veća. Isto tako, može se vidjeti u tablici 1 da bez obzira što je oleuropein najviše zastupljen polifenol u ekstraktu lista masline nema tako veliku antioksidacijsku aktivnost, a s druge strane ostali polifenoli čija je zastupljenost manja pokazuju puno veću antioksidacijsku aktivnost i tako svi polifenoli pridonose antioksidacijskoj aktivnosti (Karakaya i sur., 2009).

Benavente-Garcia i suradnici (1997) su zaključili da su flavonoli, flavan-3-oli i flavoni bili najučinkovitiji „hvatači“ radikala, a ta aktivnost je bila veća ako je bilo prisutno više slobodnih hidroksilnih skupina u flavonoidnoj strukturi. Sposobnost oleuropeina da spriječi stvaranje slobodnih radikala temelji se i na njegovoj mogućnosti da ukloni metalne ione kao što su bakar i željezo jer oni inače kataliziraju reakcije generiranja slobodnih radikala. Isto tako oleuropein pokazuje sposobnost inhibiranja nekih upalnih enzima kao što su lipooksigenaze. Osim toga, otkrili su da oleuropein, hidroksitirozol, kavska kiselina i tirozol spriječavaju stvaranje reaktivnih vrsta kisika. Oleuropein i njegovi metaboliti, hidroksitirozol, oboje posjeduju strukturu, (kateholnu grupu) koja je potrebna da bi imali optimalnu antioksidacijsku aktivnost i da bi mogli djelovati kao „čistači“.

Antioksidacijska aktivnost oleuropeina je proučavana korištenjem in vivo metoda. Listovi maslina poznati su kao tradicionalni antidijabetici i antihipertenzivna biljni lijek. Predložena su dva mehanizma koja objašnjavaju hipoglikemijski učinak oleuropeina, a to su potencijalni utjecaj na oslobađanje inzulina uzrokovanog visokim dozama glukoze tj. olakšano otpuštanje inzulina i povećani periferni unos glukoze (Castro i sur., 2006).

Al-Azzawie i Alhamdani (2006) proučavali su hipoglikemijski i antioksidacijski učinak oleuropeina u Alzaksan-dijabetičkih zečeva. Zečevi su tretirani s 20 mg/kg tjelesne mase oleuropeina tijekom 16 tjedana. Kod tih zečeva, razina glukoze u krvi značajno je smanjena. Nakon početka liječenja, došlo je do smanjenja razine glukoze u krvi što je vidljivo u 8. tjednu u usporedbi s nalazima kontrolnih zečeva, koji su i dalje imali povišene razine glukoze tijekom cijelog razdoblja praćenja. Time je utvrđeno da oleuropein može doprinijeti inhibiciji hiperglikemije i oksidacijskom stresu induciranom dijabetesom.

Prirodni antioksidansi, isto tako uključujući oleuropein, mogu pomoći u prevenciji kardiovaskularnih bolesti kroz smanjenu tvorbu ateroskleroznih plakova inhibiranjem oksidacije lipoproteina niske gustoće.

Ispitivanja na životinjama pokazala su da je oleuropein konzumiran u štakora u dozi od 100 do 1000 mg/kg kroz 2 do 6 tjedana značajno snizio srednju vrijednost arterijskog tlaka. (Khayyal i sur., 2002). Još jedno istraživanje na životinjama ukazalo je da kod genetski hipertenzivnih štakora korištenje oleuropeina u količini 60 mg/kg tjelesne mase tijekom 6 tjedana spriječilo razvoj teške hipertenzije i ateroskleroze i poboljšala se inzulinska rezistencija (Khayyal i sur., 2002).

Također je utvrđen anti-aterosklerotički učinak oleuropeina ispitivanjem na kunićima koji su bili na visoko lipidnoj dijeti i onima kojima je ta visoko lipidna dijeta bila obogaćena oleuropinom kroz 6 tjedana. Kunići u skupini koji su konzumirali visoku lipidnu hranu imali su više razine kolesterola, triglicerida i LDL kolesterola, kao i debeli lipidni sloj na žilama, u

usporedbi s onima čija je hrana bila obogaćena oleuropeinom. Ti rezultati su potvrdili anti-arterosklerotični učinak lista maslina, najvjerojatnije povezano sa sprječavanjem upale (Poudyal i sur., 2010).

Oleuropein također posjeduje protuupalna svojstva. Pokazuje sposobnost inhibicije mnogih gram negativnih i gram pozitivnih bakterija, kvasaca i parazita. Smatra se da se njegovo antibakterijsko djelovanje temelji na inaktivaciji staničnih enzima ključnih za bakterijsku replikaciju ili na izravnom djelovanju na staničnu membranu mikroorganizma što rezultira „izbacivanjem“ unutarstaničnih komponenata, kao što je glutamat, kalij i fosfor.

Ono što se pokazalo u istraživanjima je da apigenin i luteolin, flavoni prisutni u maslini, mogu djelovati kao tumorski supresori kroz smanjenu DNA replikaciju. Luteolin bi također mogao imati protuupalni učinak (Bianco i sur., 2006).

2.5. Senzorska analiza

Senzorska analiza je znanstvena disciplina koja prikazuje reakcije na one značajke hrane koje se opažaju osjetilima vida, mirisa, okusa i sluha. Ona mjeri, analizira i interpretira upravo te reakcije. Za određivanje senzorskih svojstava proizvoda koriste se isključivo ljudska osjetila jer za to ne postoje tehnički mjerni instrumenti. Pri određivanju senzorske analize proizvoda koriste se 3 skupine metoda:

- opisne ili deskriptivne metode, koje uključuju detekciju i opis svih kvalitativnih i kvantitativnih obilježja proizvoda od strane treniranih panelista
- razlikovne metode ili metode diferencijacije,
- metode sklonosti ili preferencije.

Senzorska procjena primjenjuje se kada se želi utvrditi najbolji postupak prerade, izvršiti odgovarajući izbor sirovina, ispitati utjecaj zamjene jednog sastojka drugim ili odabrati najbolji postupak skladištenja. Informacije dobivene senzorskim ispitivanjem potrebne su kako bi se donijele odluke o kakvoći samog proizvoda.

U deskriptivnoj metodi panelisti slučajnim redoslijedom identificiraju i kvantitativno određuju osjetilna svojstva proizvoda ili svojstva dodataka, čime panelisti ne određuju samo što, nego i koliko čega ima u proizvodu. Kvalitativni elementi deskriptivne analize su: vanjski izgled, karakteristike arome, karakteristike okusa, tekstura u ustima i karakteristike koje se osjete dodirrom. Training uključuje veliki broj uzoraka i sastojaka, da bi se osim stjecanja osjetljivosti na različite koncentracije razvila i terminologija koja je od neizostavne važnosti.

Vrijeme- intezitet opisna analiza je metoda koja prati kako se intezitet osjeta mijenja tijekom vremena (Vahčić, 2016).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI:

Istraživanje je provedeno na biljnoj mješavini više sorata masline iz maslinika u Raševiću. Mješavina sadrži sorte Orkulu (90%), Leccino (5%) i ostalo su sorte Marokanka i Garbunčela.

Sirovina je transportirana u kartonskim kutijama do laboratorija na Prehrambeno-biotenološkom fakultetu nakon čega su listići raspoređeni u tankom sloju po stolovima i ostavljeni nekoliko dana da se posuše na zraku. Potom su listići očišćeni od grančica, odvojeni su nezdravi dijelovi i potom su dobro oprani. Tako oprani i ponovno osušeni na zraku usitnjeni su (narezani su) na manje komadiće, veličine 1 cm.

Na tehničkoj vagi izvagana su po 4g listića koji su bili potrebni za rad. Izvagani listići prebačeni su u laboratorijske čaše u koje je dodano 100 mL destilirane vode temperature 100 °C, . Čaše su potom pokrivene i ostavljene stajati 5, 10 i 15 min što predstavlja vrijeme kontakta listića i vode.

Nakon isteka vremena kontakta, infuzija je procijeđena u nove laboratorijske čaše. Za određivanje antioksidacijske aktivnosti bilo je potrebno svaki uzorak raditi u triplikatu, tj. u tri paralelne probe. Nakon toga su se pratile promjene koje su nastale tijekom stajanja infuzije kroz 7 h. Mjerenja su se provodila nakon 15, 30, 60, 240 i 420 min.

3.2. METODE RADA:

3.2.1. Određivanje antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom

Princip rada:

Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) je stabilan dušikov radikal, tamno ljubičastog obojenja. Zbog nesparenog elektrona princip određivanja temelji se na sposobnosti redukcije DPPH radikala, pri čemu dolazi do sparivanja nesparenog elektrona. Reakcija se očituje promjenom boje iz ljubičaste u žutu, što se sprektrofotometrijski prati kao pad apsorbancije pri 517 nm. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005).

Antioksidacijska aktivnost danas se najčešće opisuje TEAC vrijednošću (Trolox ekvivalent antioksidacijske aktivnosti od eng. „Trolox equivalent antioxidant activity“) koja je definirana kao koncentracija otopine, izražena u mmol/L, u vodi topljivog analoga vitamina E, Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) ekvivalentne antioksidacijske aktivnosti kao i 1 mmol/L otopina ispitivanog fenolnog spoja (Rice-Evans i Miller, 1996). U tu svrhu potrebno je napraviti baždarni pravac s Troloxom.

Aparatura i pribor:

1. Spektrofotometar (VWR UV-1600PC Spectrophotometer)
2. Staklene kivete
3. Tehnička vaga Mettler (točnosti $\pm 0,01g$)
4. Analitička vaga Kern ABT 220-4M
5. Odmjerne tikvice, volumena 10 mL i 100 mL
6. Epruvete
7. Stalak za epruvete
8. Plastična ladica za vaganje

Kemikalije i reagensi:

1. 100 %-tni metanol
2. 0,5 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)

Priprema: 0,0079 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala se odvažuje u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno preko staklenog lijevka prenese u odmjernu tikvicu od 100 ml i otopi u 100 %-tnom metanolu tako da se tikvica do oznake napuni 100% metanolom. DPPH je potrebno čuvati na tamnom mjestu u zatvorenoj tikvici.

Postupak određivanja:

U epruvetu se otpipetira 0,75 mL uzorka 1,5 mL 0,2 mM otopine DPPH. Za slijepu probu u epruvetu se otpipetira 2,25 mL 100 % metanola.

Epruvete sa sadržajem stoje 30 minuta u mraku, pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbanacija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu. Mjerenja se provode u triplikatu.

Izrada baždarnog pravca za određivanje ukupnih fenola:

Za pripremu baždarnog 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 razrijeđenja u koncentracijama 0, 25, 50, 100, 200 i 300 μM na način da se u odmjerne tikvice volumena 50 mL redom otpipetira 0; 6,25; 125; 250; 500 i 750 μL alikvot otopine troloxa te do oznake nadopuni 100%-tnim metanolom.

U epruvetu se otpipetira redom 200 μL odgovarajuće 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 čega se mjeri apsorbanacija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

Izračunavanje: Iz izmjerenih vrijednosti apsorbanacije otopina Troloxa nacrtava se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μM) na apscisi i vrijednostima apsorbanacije nanesenim na ordinati.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

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

$$R^2 = 0,9965$$

gdje je:

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

X = ekvivalent Troloxa ($\mu\text{mol/L}$)

1,2031 = odsječak pravca na osi Y

Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračuna se antioksidacijski kapacitet (X) uzoraka na temelju izmjerenih apsorbancija određenih DPPH metodom.

3.2.2. SENZORSKA ANALIZA

Materijali i pribor:

Staklene boce od 1L

Jednokratne plastične čašice

Princip rada:

Prije samog ocjenjivanja definirala su se svojstva i opisni pojmovi koji najbolje karakteriziraju proizvod te skala intenziteta pojedinog svojstva (od 1 do 10). Ocjenjivala su se sljedeća svojstva:

1. boja (intenzite žute ili smeđe boje),
2. miris (miris lista masline, strani miris),
3. aroma (svojstvena na list masline, na zeleno, strana aroma)
4. okus (trpki okus, gorki okus, okus na list masline, strani okus, harmoničan okus).

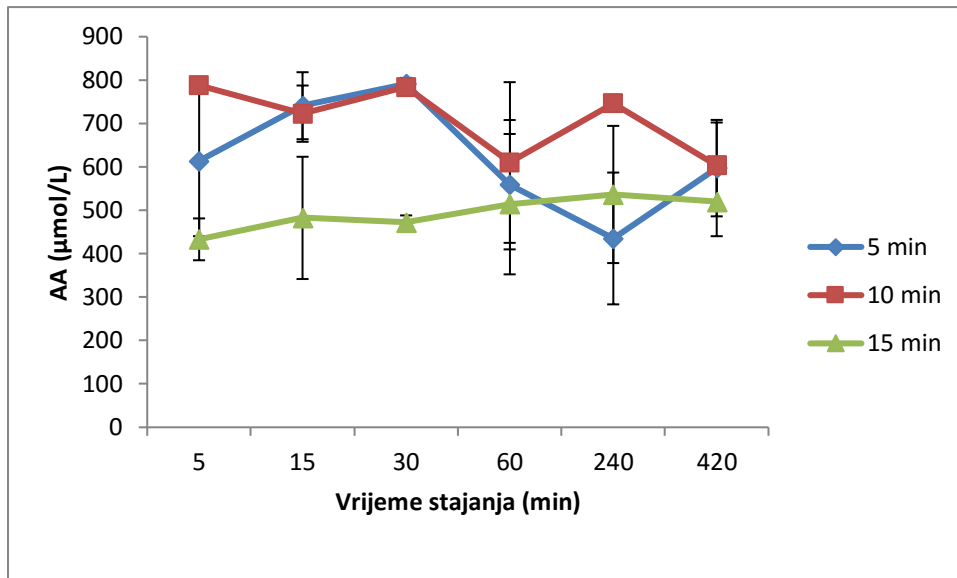
Pojmovi moraju biti jasni i razumljivi, jer je važno da svi panelisti pod određenim opisom misle isto. Točne opise utvrđuju panelisti prije ocjenjivanja i na temelju toga izrađuje se ocjenjivački upitnik koji može obuhvaćati više uzoraka.

U istraživanju je sudjelovao panel od 10 članova. Ispitivanje senzorskih karakteristika se provodilo na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda. Članovima panela bila su ponuđena tri uzorka koja su se razlikovala u vremenu kontakta listića i vode. Redom je kontakt u uzorcima bio 5 min, 10 min i 15 min. Uzorci su bili sobne temperature jer je prvo kušanje bilo nakon 15 min stajanja tako da su bili prihvatljive temperature za konzumiranje. Svaki panelist je dobio čistu plastičnu čašicu kojom je isprobavao redom uzorke. Uzorci su isprobavani nakon 30, 60, 240 i 420 min stajanja. Nakon kušanja svakog uzorka panelisti su ocjenjivali intezitet ispitivanih karakteristika prema bodovnoj ljestvici od 0 do 10.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati određivanja ukupne antioksidacijske aktivnosti

U ovom radu cilj je bio ispitati antioksidacijsku aktivnost i senzorska svojstva napitka od lista masline u ovisnosti o pripremi napitka i vremenu stajanja. Predstavljena su tri uzorka infuzije lista masline gdje je vrijeme kontakta listića i tekućine za svaki uzorak bio redom 5, 10 i 15 min. Mjerene su vrijednosti antioksidacijske aktivnosti za sva tri uzorka nakon 5, 15, 30, 60, 240, 420 min.



Slika 5. Grafički prikaz ovisnosti antioksidacijske aktivnosti infuzije lista masline o vremenu stajanja

Jasno je vidljivo kako kontakt listića masline i vode značajno utječe na vrijednosti antioksidacijske aktivnosti (Tablica 2). Kod drugog uzorka infuzije u kojem je kontakt listića i vode trajao samo 10 min vrijednosti antioksidacijske aktivnosti su najveće, dok kod trećeg uzorka gdje je kontakt trajao 15 min. vrijednosti antioksidacijske aktivnosti su najmanje (Slika 5).

Tablica 2. Podaci dobiveni analizom varijance

Izvor varijacije	<i>F</i>	<i>P</i> vrijednost
Vrijeme stajanja	0,803923	0,571871458
Vrijeme kontakta	8,028591	0,008324589

Nadalje, treba uvidjeti da vrijeme stajanja infuzije nije imalo značajan utjecaj na promjenu vrijednosti antioksidacijske aktivnosti, ali vidljivo je iz grafa da ona varira tijekom određenog vremena.

Tako pri vremenu kontakta od 5 min aktivnost je najmanja na samome početku pa doživljava lagani porast do 30 min te pad i u 240 min stajanja ima najmanju vrijednost, a zatim opet lagano raste

Uzorak gdje je kontakt bio 10 min ima najveću antioksidacijsku vrijednost na samom početku i zatim lagano pada i u 60. minuti je najmanja pa ponovno raste i nakon 7h stajanja ponovno pada.

Pri kontaktu od 15 min antioksidacijska aktivnost je najmanja na samom početku, a daljnim stajanjem lagano raste i nakon 7 sati stajanja pokazuje najveću vrijednost.

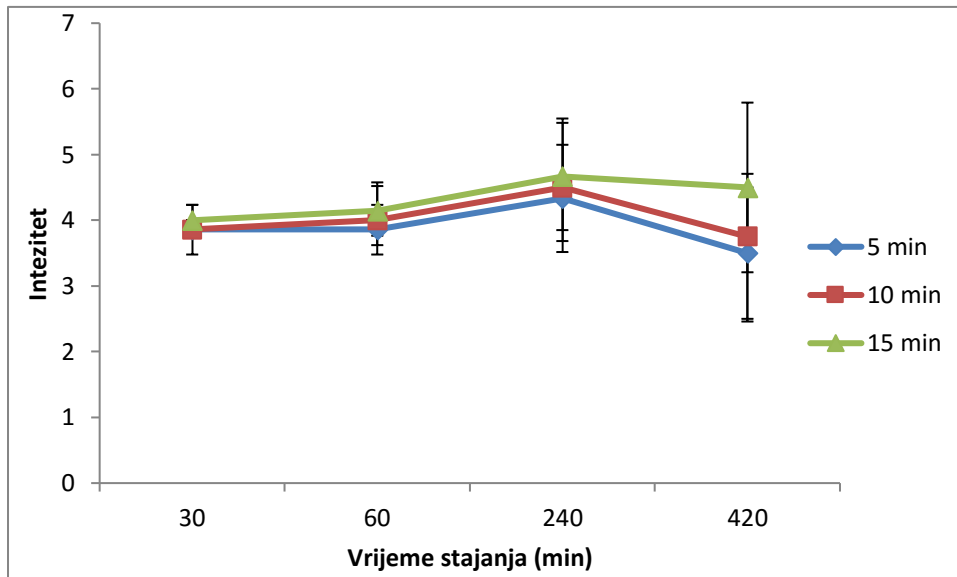
4.2.2. Rezultati senzorske analize infuzije lista masline

Cilj ove senzorske analize bilo je utvrditi kako vrijeme kontakta listića i vode, a nakon toga i vrijeme stajanja utječe na neke karakteristike napitke lista masline kao što su boja, okus, miris i aroma. Senzorskom analizom od strane 10 panelista tijekom 7 sati zabilježena je značajna promjena boje, okusa i arome u infuziji lista masline. Osjetne karakteristike infuzije lista masline uglavnom ovise o njezinom sadržaju poput fenolnih i hlapivih spojeva. Svaka pojedina komponenta može pridonijeti različitim osjetilima percepcije (Ceretani i sur., 2008).

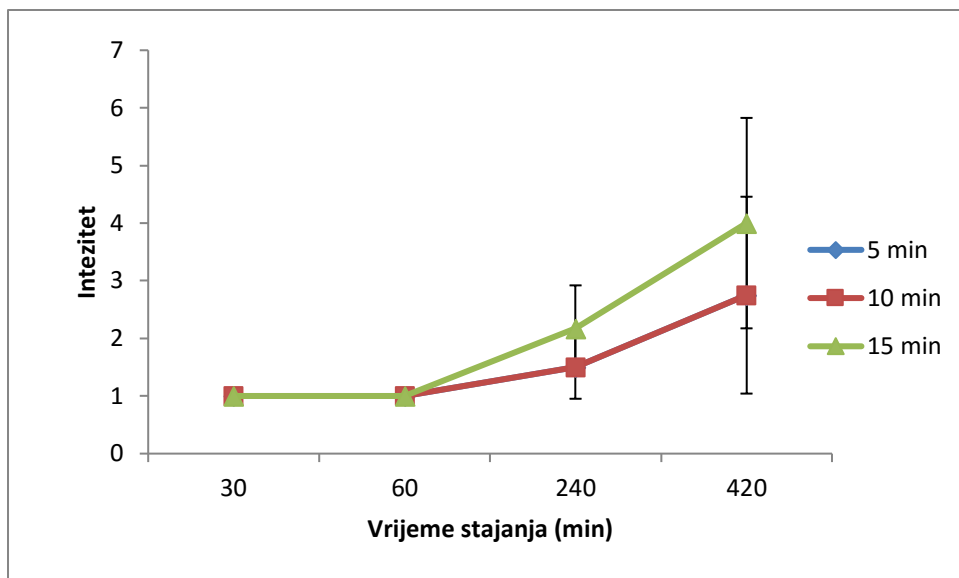
BOJA

Iz dobivenih rezultata jasno je vidljivo da intezitet žute boje opada u sva tri uzorka neovisno o tome koliko je bilo vrijeme kontakta, tj. vrijeme stajanja infuzije nakon cijedenja značajno utječe na intenzitet (Tablica 3) i on je nakon 7 sati stajanja najmanji, tj. žuta boja lagano blijedi (Slika 6).

Što se smeđe boje tiče, ona je općenito ocijenjena niskim ocjenama upravo iz tog razloga jer je na prvi pogled kod infuzije puno jače vidljiva žuta boja. Tek stajanjem 4 i 7 sati malo se zamjećuje smeđkasta boja infuzije (Slika 7).



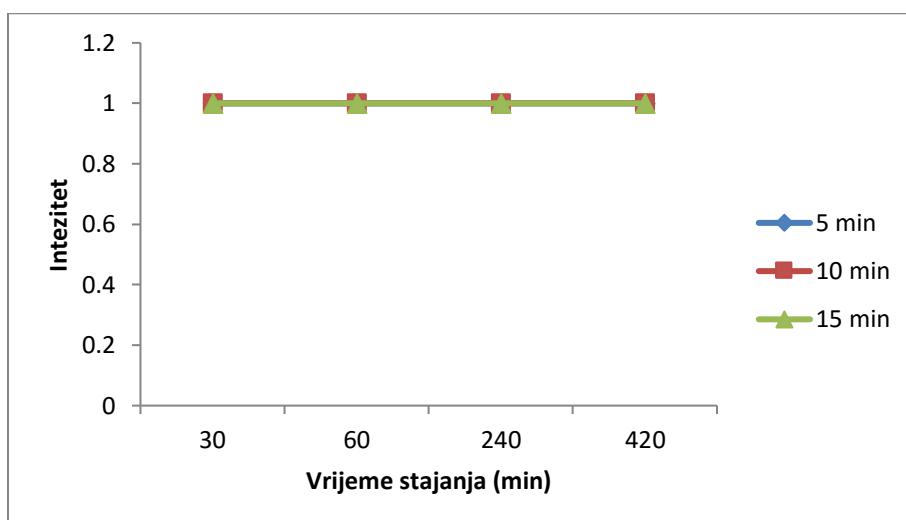
Slika 6. Grafički prikaz promjene inteziteta žute boje infuzije lista masline tijekom vremena stajanja



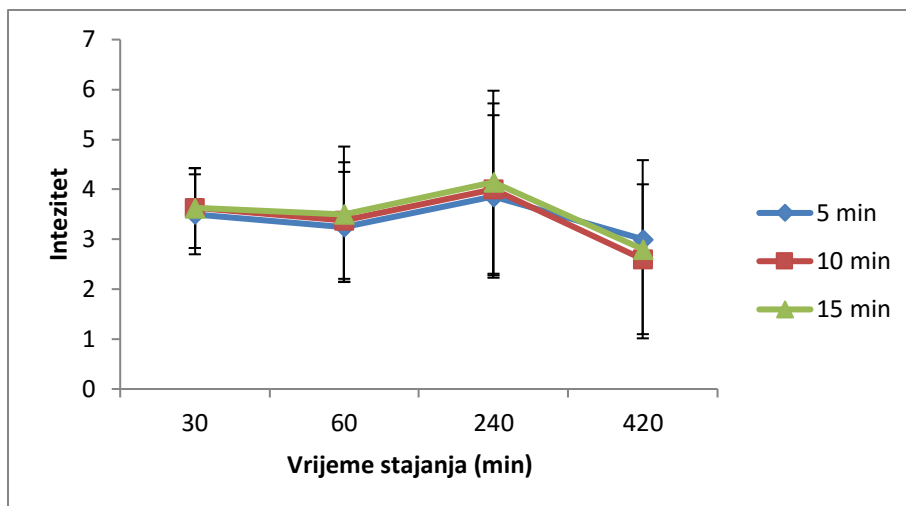
Slika 7. Grafički prikaz promjene inteziteta smeđe boje infuzije lista masline kroz vrijeme

MIRIS

Strani miris je od strane svih panelista bio ocijenjen najnižom ocjenom što znači da nitko nije mogao identificirati nikakav drugi miris osim mirisa masline (Slika 8). Kao što je vidljivo na slici 9, vrijeme stajanja značajno utječe na miris masline (Tablica 3) koji polako slabi sa stajanjem same infuzije i on je nakon 7h stajanja najslabiji, a na samom početku je najizraženiji. U istraživanju koje je provedeno na čaju od zelenog medunca isto je vidljivo kako se kroz vrijeme smanjuje intezitet biljnog mirisa, tj mirisa svojstvenog toj biljci. (Alexander i sur., 2017).



Slika 8. Grafički prikaz promjene inteziteta stranog mirisa kroz vrijeme

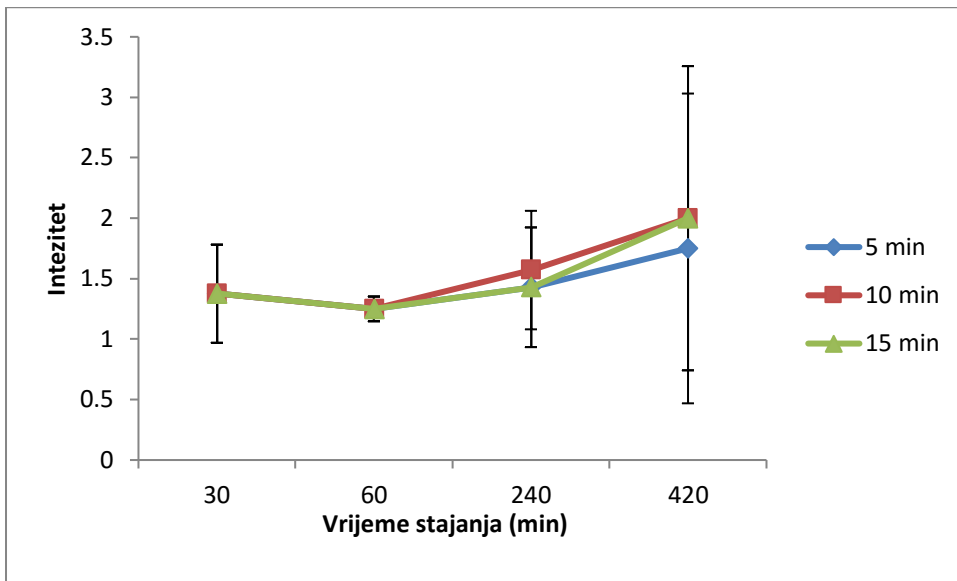


Slika 9. Grafički prikaz promjene inteziteta mirisa po maslini kroz vrijeme

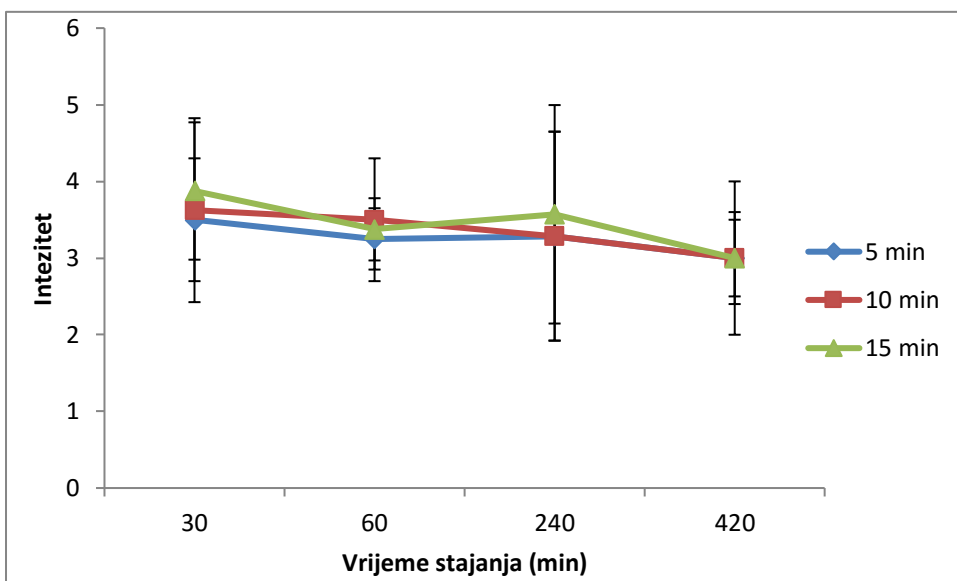
OKUS

Strani okus je na početku ocijenjen najnižom ocjenom. Trpki okus je ocijenjen nešto višom ocjenom i vidljivo je da je njegov intezitet najveći nakon 7 sati stajanja infuzije (Slika 10) što pokazuje da vrijeme stajanja značajno utječe na intezitet trpkosti (Tablica 3). Očigledno je da najviše, prema ocjeni panelista prevladava gorki okus, koji je najjači na samom početku, ali ta gorčina se stajanjem infuzije smanjuje i najmanja je nakon 7 sati stajanja što pokazuje slika 11. Uz gorki okus, dosta je izražen i okus lista masline koji je dobio najveće ocjene od strane panelista. Ali isto je jasno sa slike 12 da je jačina tog okusa najmanja nakon što je infuzija odstajala 7h. Tu treba naglasiti da osim što vrijeme stajanja značajno utječe na njegovu jačinu, isto tako značajno utječe i vrijeme kontakta i može se uvidjeti da je u uzorku tri gdje je vrijeme kontakta listića i vode najduže i okus po listu masline najizraženiji (Tablica 3). Harmoničan okus je ocijenjen nekom srednjom ocjenom i njegova jačina varira kroz vrijeme tako je najbolje ocijenjen onaj nakon 4 h stajanja, dok već nakon 7 sati stajanja njegov se intezitet smanjuje (Slika 13).

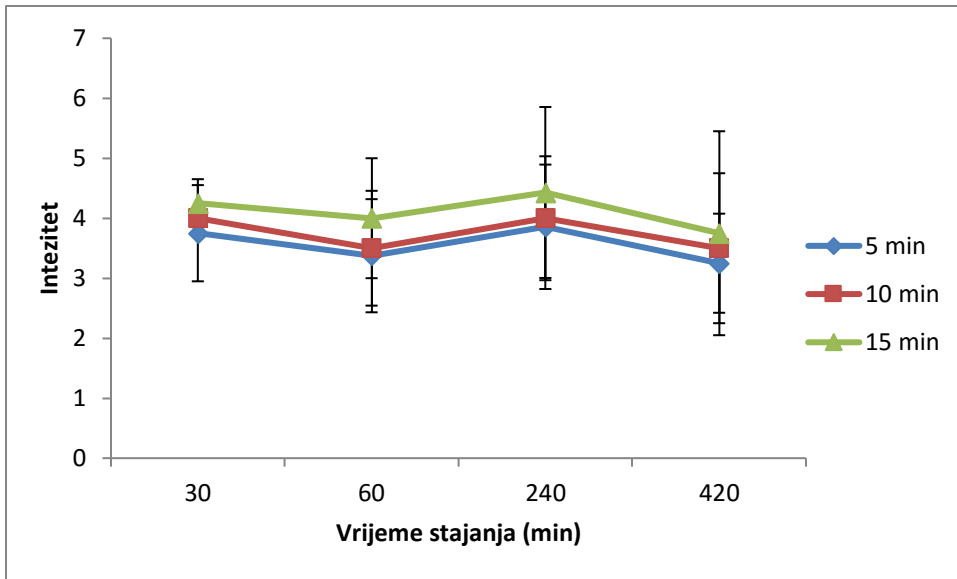
Neki fenoli uglavnom izazivaju percepciju okusa gorčine, a neki mogu izazvati osjećaj trpkosti jer neke fenolne molekule mogu potaknuti slobodne završetke trigeminalnog živca koji se nalaze u nepcu, kao i u gustativnim pupoljcima, što dovodi do kemijske percepcije pungencije, astringencije i metalnih svojstava. Upravo se gorak okus masline pripisuje oleuropeinu aglikonu što dovodi i do pretpostavke da i u napitku od masline je oleuropein odgovoran za osjećaj gorčine (Bendini i sur., 2007).



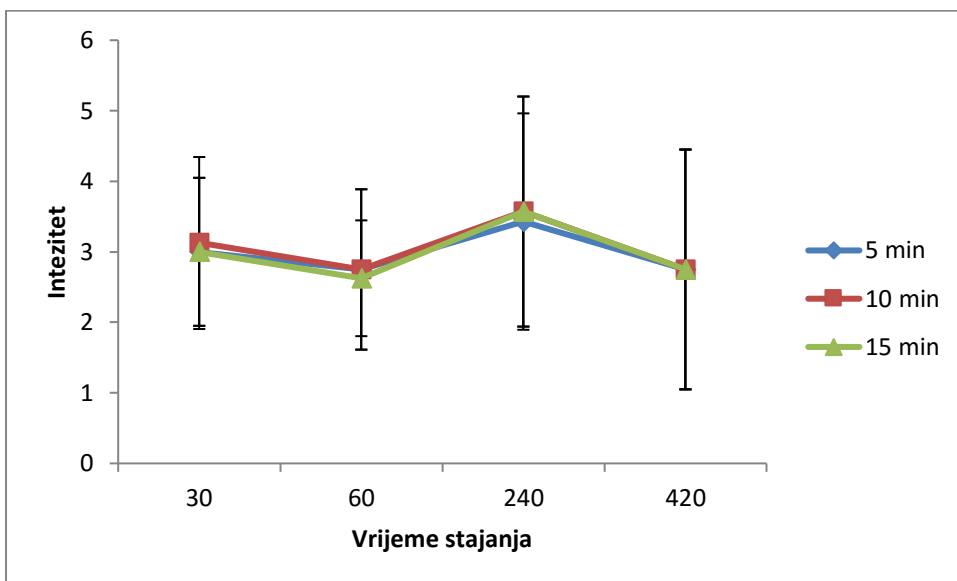
Slika 10. Grafički prikaz promjene jačine trpkog okusa kroz vrijeme



Slika 11. Grafički prikaz promjene jačine gorkog okusa kroz vrijeme



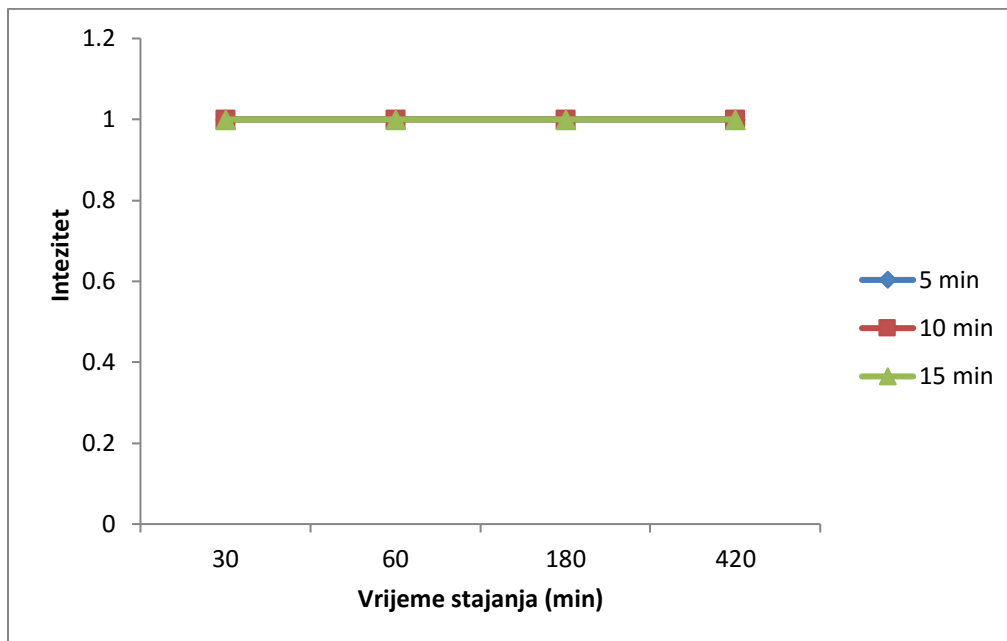
Slika 12. Grafički prikaz promjene jačine okusa po maslinovom listu tijekom vremena stajanja



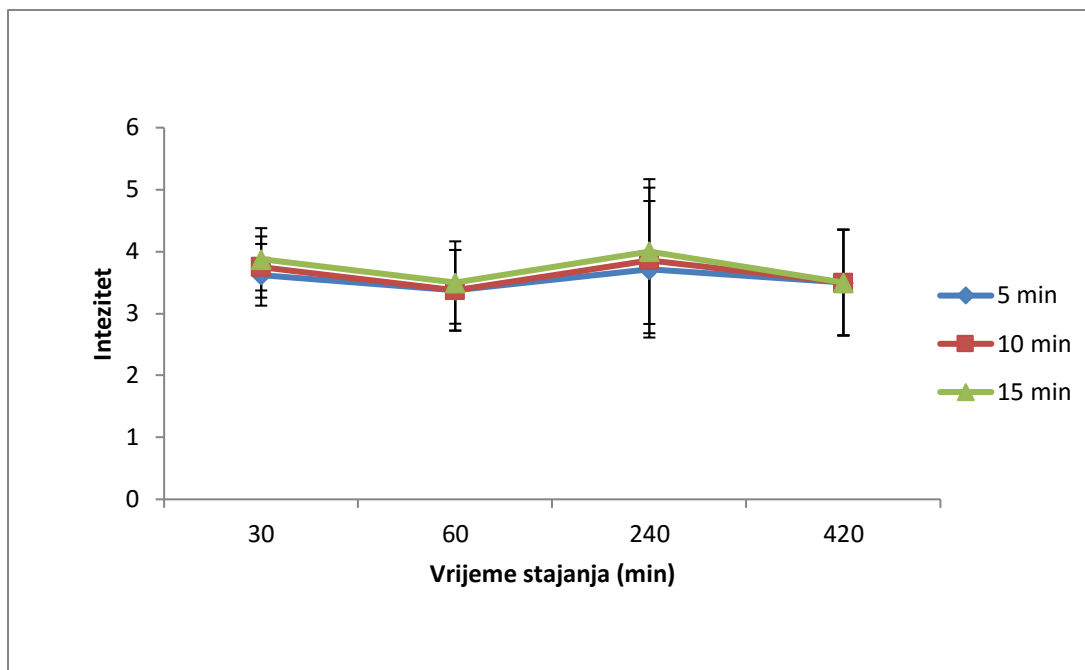
Slika 13. Grafički prikaz promjene jačine harmonijskog okusa tijekom vremena stajanja

AROMA

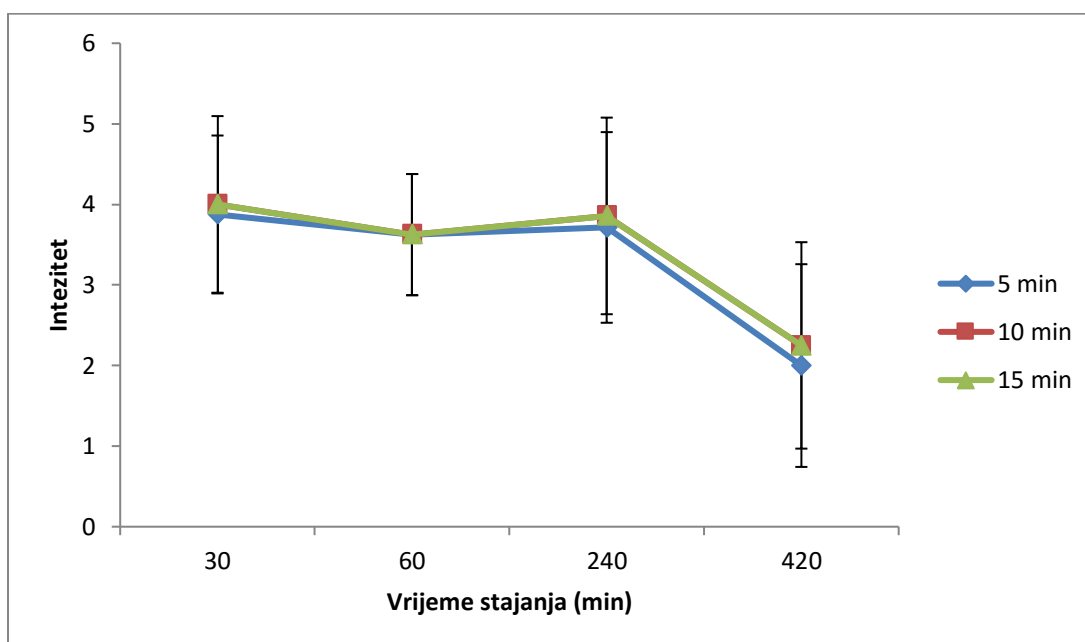
Strana aroma je opet i ovdje ocijenjena najmanjom ocjenom (Slika 14) dok je najviše izražena aroma na maslinu i kao što i rezultati na slici 15 pokazuju njezin intezitet je jednak kroz cijelo vrijeme stajanja. I vrijeme stajanja infuzije, ali i vrijeme kontakta listića i vode prije cijedenja značajno utječu na jačinu (Tablica 3) i samim time ta aroma se najviše osjeti u uzorku 3 kod kojeg je kontakt listića i vode prije cijedenja najdulje trajao. Što se arome na zeleno tiče, najviše je nekako prepoznata na samom početku u prvih sat vremena stajanja infuzije, a daljnim stajanjem njezin intezitet se smanjuje i najmanji je nakon 7h stajanja. Isto se može vidjeti i iz rezultata da je opet najizraženija u uzorku 3 što znači i da vrijeme kontakta ima utjecaj na razinu inteziteta (slika 16).



14. Grafički prikaz promjene inteziteta strane arome tijekom vremena stajanja



Slika 15. Grafički prikaz promjene inteziteta arome na maslinu tijekom vremena stajanja



Slika 16. Grafički prikaz promjene inteziteta aroma na zeleno tijekom vremena stajanja

Tablica 3. Statistički podaci za senzorska svojstva

	ANOVA	F	P vrijednost
Žuta boja	Vrijeme stajanja	5,853597	0,03248
	Vrijeme kontakta	4,943583	0,053866
Smeđa boja	Vrijeme stajanja	25,87263	0,000786
	Vrijeme kontakta	2,53169	0,159511
Miris masline	Vrijeme stajanja	35,44918	0,000326459
	Vrijeme kontakta	0,852289	0,472288321
Trpki okus	Vrijeme stajanja	42,72983	0,000192
	Vrijeme kontakta	1,66826	0,265399
Okus masl. lista	Vrijeme stajanja	60,87436	6,96E-05
	Vrijeme kontakta	76,36294	5,4E-05
Harmoničan okus	Vrijeme stajanja	109,9585404	1,23862E-05
	Vrijeme kontakta	1,450882648	0,306214205
Aroma na maslinu	Vrijeme stajanja	28,20743	0,000619
	Vrijeme kontakta	6,073539	0,036144
Aroma na zeleno	Vrijeme stajanja	586,0195	8,6E-08
	Vrijeme kontakta	6,390087	0,03261

ZAKLJUČCI

1. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je vrijeme kontakta (5, 10, 15 min) parametar koji značajno utječe na antioksidacijsku aktivnost. Vrijeme stajanja napitka od lista masline nema bitan utjecaj na promjenu antioksidacijske aktivnosti, ali njezine vrijednosti variraju kroz vrijeme stajanja .
2. Na senzorske karakteristike (boju, okus, aromu i miris) vrijeme stajanja ima značajijim utjecaj nego vrijeme kontakta listića i vode. Vrijeme kontakta najviše utječe na gorki okus i okus na list masline koji su najveći u uzorku u kojem je kontakt bio 15 minuta.
3. Vrijeme stajanja značajno utječe na smanjenje intenziteta žute boje napitka i povećanja intenziteta smeđe boje.
4. Stajanjem na zraku intezitet mirisa na list masline slabi. Strani miris u napitku lista masline nije prisutan.
5. Aroma na maslinu s vremenom stajanja se malo smanjuje, a aroma na zeleno pokazuje veće smanjenje. Strana aroma nije prisutna.
6. U napitku prevladavaju dva okusa, gorki i okus na list masline. S vremenom stajanja gorki okus i okus na list masline napitka se smanjuje.
7. Stajanjem na zraku trpkost napitka od lista masline je sve izraženija.
8. Temeljem svih rezultata 15 minuta je najpovoljnije vrijeme kontakta listića i vode, a unatoč navedenim promjenama tijekom 7 sati stajanja napitak ipak zadržava senzorske osobine svojstvene napitku od lista masline.

LITERATURA :

Ahmad-Qasem M. H., Ahmad-Qasem B. H., Barraji3n-Catal3n E., Micol, V., C3rcel J. A., Garc3a-P3rez J. V. (2016) Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability. *Industrial Crops and Products* **79**: 232-239.

Al-Azzawie H. F., Alhamdani M. S. S. (2006) Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences* **78(12)**: 1371-1377.

Alexander L., de Beer D., Muller M., van der Rijst M., Joubert E. (2017) Modifying the sensory profile of green honeybush (*Cyclopia maculata*) herbal tea through steam treatment. *LWT- Food Science and Technology* **82**: 49-57.

Arfaoui A., Douik H., Kablouti G., CHAABEN A. B., Handiri N., Zid Z., Bouassida J. (2015) Role of p53 Codon72 SNP in breast cancer risk and anthracycline resistance. *Anticancer Research* **35(3)**: 1763-1769.

Ben Salem M., Affes H., Ksouda K., Sahnoun Z., Zeghal K. M., Hammami S. (2015) Pharmacological activities of *Olea europaea* leaves. *Journal of Food Processing and Preservation* **39(6)**: 3128-3136.

Benavente-Garc3a O., Castillo J., Marin F. R., Ortu3o A., Del R3o J. A. (1997) Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45(12)**: 4505-4515.

Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., G3mez-Caravaca A. M., Segura-Carretero A., Fern3ndez-Guti3rrez A., Lercker G. (2007) Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules* **12(8)**: 1679-1719.

Bianco A., Ramunno A. (2006) The chemistry of *Olea europaea*. *Studies in Natural Products Chemistry* **33**: 859-903.

Boss A., Bishop K. S., Marlow G., Barnett M. P., Ferguson L. R. (2016). Evidence to support the Anti-Cancer effect of olive leaf extract and future Directions. *Nutrients* **8(8)**: 513.

C3rdeno A., S3nchez-Hidalgo M., Rosillo M. A., de la Lastra C. A. (2013) Oleuropein, a secoiridoid derived from olive tree, inhibits the proliferation of human colorectal cancer cell through downregulation of HIF-1 α . *Nutrition and Cancer* **65**: 147-156.

Cerretani L., Salvador M. D., Bendini A., Fregapane G. (2008) Relationship between sensory evaluation performed by Italian and Spanish official panels and volatile and phenolic profiles of virgin olive oils. *Chemosensory Perception* **1(4)**: 258-267.

de Castro M. L., Japón-Luján R. (2006) State-of-the-art and trends in the analysis of oleuropein and derivatives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **25(5)**: 501-510.

Dragović Uzelac V., Interna skripta, prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

El S. N., Karakaya S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition reviews* **67**: 632-638.

Forman H. J., Davies K. J., Ursini F. (2014) How do nutritional antioxidants really work: nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radical Biology and Medicine* **66**: 24-35.

Hamid A. A., Aiyelaagbe O. O., Usman L. A., Ameen O. M., Lawal A. (2010) Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, **4(8)**: 142-151.

Han J., Talorete T. P., Yamada P., Isoda H. (2009). Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology* **59**: 45-53.

Janahmadi Z., Nekoeian A.A., Mozafari M. (2015). Hydroalcoholic extract of *Allium eriophyllum* leaves attenuates cardiac impairment in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension. *Research in Pharmaceutical Sciences* **10(2)**: 125.

Jemai H., El Feki A., Sayadi S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57(19)**: 8798-8804.

Kazazić S.P. (2004) Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* **55**: 279-290.

Karak T., i Bhagat R.M. (2010). Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. *Food Research International* **43(9)**: 2234-2252.

Khayyal M. T. El-Ghazaly M.A., Abdallah D. M., Nassar N.N., Okpanyi S. N., Kreuter M.H. (2002) Blood Pressure Lowering Effect of an Olive Leaf Extract in L-NAME Induced Hypertension in Rats. *Arzneimittelforschung* **52(11)**: 797-802.

Landeka J. I., Interna skripta, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Lee O. H., Lee B.Y.(2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology* **101**: 3751-3754.

Lee S. K., Kader A.A. (2000) Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* **20**: 207-220.

Pereira A.P., Ferreira I.C., Marcelino F., Valentão P., Andrade P. B., Seabra R., Pereira J.A. (2007) Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules* **12**: 1153-1162.

Pereira V.J., Linden K. G., Weinberg H.S. (2007) Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. *Water Research* **41(19)**: 4413-4423.

Poudyal H., Campbell F., Brown L. (2010) Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats. *The Journal of Nutrition* **140(5)**: 946-953.

Prior R. L., Wu X., Schaich K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53(10)**: 4290-4302.

Shortle E. "Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates." *Meat science* **98(4)**: 828-834.

Tangrarasittichai S. (2015) Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes* **6(3)**: 456.

Udruga maslinara „Vela Luka“, <<http://www.velaluka.info/udruga-maslinara/index.htm>>. Pristupljeno 29.06.2017.

Vahčić N., Interna skripta, Prehrambeno biotehnološki fakultet, Zagreb

Večernik N. (2003) Čovjek i maslina, 3.izd., Grafex d.o.o. str. 59-61.

Xie P., Huang L., Zhang C., Zhang Y. (2015) Phenolic composition, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europea* L.) extracts and their structure - activity relationships. *Journal of Functional Foods* **16**: 460-471.

Zadnja stranica završnog rada

Izjava o izvornosti

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

Moravac Libralc

ime i prezime studenta