

Fenoli, flavonoidi i neflavonoidi u divljoj borovnici

Katić, Antonela

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:530485>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2019.

Antonela Katić

1142/ USH

**FENOLI, FLAVONOIDI I
NEFLAVONOIDI U DIVLJOJ
BOROVNICI**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom dr. sc. Nade Vahčić red. prof. u trajnom zvanju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te uz pomoć Valentine Hohnjec i Renate Petrović, ing.

Iskreno se zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Nadi Vahčić na stručnoj pomoći, na svim korisnim savjetima i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Najveće hvala mojim roditeljima, bratu i sestri koji su tijekom cijelog mog obrazovanja bezuvjetno vjerovali u mene i bili mi najveća podrška!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

FENOLI, FLAVONOIDI I NEFLAVONOIDI U DIVLJOJ BOROVNICI

Antonela Katić, 1142/ USH

Sažetak: Istraživanje je provedeno na 35 uzoraka (zamrznute divlje borovnice) ubranih na 7 različitih lokacija u RH. Određivani su ukupni fenoli, neflavonoidi te flavonoidi spektrofotometrijskim metodama. Prosječne vrijednosti kreću se od 5603,845-7039,7322 mg GAE kg⁻¹ jestivnog dijela za ukupne fenole; 4282,6362-5617,5168 mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela za flavonoide, te 1321,2084-1516,9306 mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela za neflavonoide. Prema dobivenim rezultatima uočena je velika antioksidacijska aktivnost u plodovima divlje borovnice.

Ključne riječi: borovnica, fenoli, flavonoidi, neflavonoidi, antioksidativna aktivnost

Rad sadrži: 41 stranica, 11 slika, 14 tablica, 66 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: Prof. dr. sc. Nada Vahčić

Pomoć pri izradi: Valentina Hohnjec, Renata Petrović, ing.

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obradu:

1. Prof. dr. sc. Branka Levaj
2. Prof. dr. sc. Nada Vahčić
3. Doc. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević
4. Prof. dr. sc. Ksenija Marković (zamjena)

Datum obrane: 18. srpnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

PHENOLS, FLAVONOIDS AND NONFLAVONOIDS IN WILD BLUEBERRY

Antonela Katić, 1142/ USH

Abstract: Experiments were conducted on 35 samples (frozen wild blueberry) harvested on 7 different locations in the Republic of Croatia. Total phenolic, flavonoids and nonflavonoids were determined with spectrophotometric methods. The amount of total phenolics, flavonoids and nonflavonoids was in average 5603,845-7039,7322 mg GAE kg⁻¹; 4282,632-5617,5168 mg GAE kg⁻¹; 1321,2084-1516,9360 mg GAE kg⁻¹, respectively. The determined values indicate high antioxidant capacity in samples of wild blueberries.

Keywords: phenolics, flavonoids, nonflavonoids, antioxidative activity, blueberry

Thesis contains: 41 pages, 11 figures, 14 tables, 66 references

Original in: Croatian

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

Mentor: *PhD Nada Vahčić, Full professor*

Technical support and assistance: *Valentina Hohnjec, Renata Petrović, ing.*

Reviewers:

1. PhD Branka Levaj, Full professor
2. PhD Nada Vahčić, Full professor
3. PhD Danijela Bursać Kovačević, Assistant professor
4. PhD Ksenija Marković, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 18 July 2019

SADRŽAJ

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | UVOD | 1 |
| 2. | TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1 | BOROVNICA..... | 2 |
| 2.1.1 | Osnovne karakteristike i morfologija biljke | 2 |
| 2.1.2 | Uzgoj borovnice | 3 |
| 2.1.3 | Sorte borovnice..... | 5 |
| 2.1.4 | Kemijski sastav i nutritivna vrijednost borovnice | 8 |
| 2.2. | FENOLNI SPOJEVI..... | 10 |
| 2.2.1 | Antioksidacijska aktivnost..... | 14 |
| 3. | EKSPERIMENTALNI DIO | 15 |
| 3.1 | MATERIJAL | 15 |
| 3.1.1 | Uzorci | 15 |
| 3.1.2 | Kemikalije | 16 |
| 3.1.3. | Oprema | 17 |
| 3.2. | METODE RADA | 19 |
| 3.2.1 | Priprema ekstrakta | 19 |
| 3.2.2 | Određivanje ukupnih fenola | 19 |
| 3.2.3 | Određivanje neflavonoida | 21 |
| 3.2.4 | Određivanje flavonoida | 23 |
| 4. | REZULTATI I RASPRAVA | 24 |
| 5. | ZAKLJUČCI | 36 |
| 6. | LITERATURA | 37 |

1. UVOD

Borovnica (*Vaccinium* sp.) je bobičasto voće koje uspjeva na planinskim i brdskim područjima. Uzgoj je započeo početkom 20-tog stoljeća na području SAD-a, a danas broji više od 50 sorti.

Plodovi su vrlo kvalitetni pa se danas sve više konzumira u svježem, ali i u obliku različitih prerađevina. Posebice se ističu džemovi i sokovi. Osim što se konzumira u prehrani, znanstveno je dokazano da ima i ljekovita svojstva (jača imunitet, kosti, poboljšava vid i sl.).

U prosjeku borovnica sadrži oko 83 % vode, 15,1 % ugljikohidrata, 0,70 % organskih kiselina, vrlo malo masti i bjelančevina (po 0,6 %), pektina, te dosta vitamina i minerala (Miljković, 1991). No, treba istaknuti da kemijski sastav znatno ovisi o sorti i ekološkim uvjetima uzgoja.

Smatraju je jednom od najbogatijih izvora fenolnih spojeva, a u značajnijim količinama sadrži antocijane, flavonole, klorogensku kiselinu i procijanidine, koji imaju visoku biološku aktivnost.

Cilj ovog rada bio je odrediti udjele ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u zamrznutim uzorcima divlje borovnice sa različitih područja Primorsko-goranske županije koji su ubrani u lipnju i srpnju 2018 godine.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 BOROVNICA

2.1.1 Osnovne karakteristike i morfologija biljke

Borovnica (*Vaccinium* sp.) je višegodišnja drvenasta biljka. Smatra se novijom biljnom vrstom čiji korijeni sežu iz Sjeverne Amerike. Danas su se razvile mnogobrojne vrste, a na našim područjima je najrasprostranjenija obična borovnica (*V. myrtillus* L.) koja raste u borovim, smrekovim i bukovim šumama.

Borovnica se sastoji od vegetativnih (korijen, stablo i list) i generativnih (cvijet, plod i sjeme) organa, koji su zaduženi za održavanje života jedinke, ali i za razmnožavanje i opstanak vrste.

Korijen je vlaknast, prilično tanak i vrlo razgranat. Prostire se na dubini od 10 do 15 cm (Mratinić, 2015). Rast se najsnažnije odvija na temperaturama između 14 i 18°C, a u vremenu suše usporen je njegov razvoj. Sve vrste roda *Vaccinium* L. razvijaju se u obliku grmova, čije se visine kreću od 1-6 metara ovisno o vrsti borovnice. Na stablu se razvijaju prosti listovi, koji su naizmjenično raspoređeni.

Cvjetovi su svijetlorozi, a počinju se razvijati krajem srpnja pa sve do početka rujna. Sorte koje pripadaju viskogrmovitoj borovnici su samooplodne. Za oprašivanje su odgovorni insekti, najviše pčele medarice, ali i bubmari koji prenose pelud.

Plod borovnice je okruglasto-spljoštena mesnata bobica bez drvenastih vlakana. Najčešće je tamnoplave ili ljubičaste boje. Raste i razvija se između 8 i 16 tjedana, ovisno o vremenskim prilikama i sorti. Pri tome plodovi prolaze kroz tri razvojne faze. U prvoj fazi plodovi dobivaju na veličini čemu najviše pridonosi dioba stanica u tkivu ploda. Drugu fazu karakterizira rast ploda, ali više se ne povećava broj stanica. Plodovi poprimaju lagano ljubičastu boju, formiraju se šećeri, a razgrađuju se kiseline. U posljednjoj fazi formira se presvlaka (vosak) koja štiti plod od prevelikog zagrijavanja, većih gubitaka vode kao i od prodiranja mikrobnih uzročnika bolesti. Za našu prehranu i okus vosak ne igra nikakvu ulogu, osim što daje privlačniji izgled plodu borovnice. Svakako važno je za naglasiti da godišnji rast, a time i prinos opada sa starošću biljke.



Slika 1. Borovnica (Črnčec, 2019)

2.1.2 Uzgoj borovnice

Prvi pokušaji kultiviranja divljih vrsta borovnice započeli su 1890. godine u SAD-u, a rezultati su vidljivi 1920. godine kada je uzgojena visokožbunasta borovnica čiji uspravni grmovi daju krupne plave bobice dobrog okusa. Nešto kasnije uvezena je u Europu, čiji se uzgoj sporo širio. Najprije se pojavila u Nizozemskoj, a zatim u Engleskoj, Istočnoj Njemačkoj i Poljskoj. Tada je ustanovljeno da borovnica ima specifične zahtjeve prema vanjskim čimbenicima (klima, reljef), te izboru sustava uzgoja. Drugačiji je pristup uzgoju na malim površinama i u „kućnim“ vrtovima negoli uzgoju u većim komercijalnim voćnjacima koji koriste potpunu mehanizaciju uključujući i strojnu berbu.

Prema Ebertu (2008) nasad borovnice ima životni vijek 50 godina, dok Callor i suradnici (2016) spominju vijek trajanja i do 100 godina. Stoga je važno da se prije samog nasada dobro pripremi tlo, jer kasnije je teško postići veće promjene. S pripremanjima se mora krenuti pravovremeno.

Osnovni uvjeti koje tlo treba zadovoljiti prije sadnje su pH vrijednost 4,5; mogućnost zakorjenjivanja od 45 cm; dobra dreniranost te visok sadržaj organske tvari (Primorac, 2017).

Obično se sadi u jesen tijekom listopada i studenog ili u proljeće (ožujak-travanj). Raste na različitom tlu, ali ako se žele postići dobri urodi preporučuje se kisela i porozna tla. Takve su

pjeskovite ilovače koje sadrže dosta humusa (Stanković, 1982) i štite osjetljivi korijen od iznenadne promjene pH vrijednosti, vlažnosti ili temperature zemljišta (Mratinić, 2015).

Primjena komposta može pružiti mnoge dobrobiti u proizvodnji borovnice. Razlaganjem komposta otpušta se 3 do 10 % ukupnog dušika u mineralnom obliku, nekoliko godina nakon primjene (Larco i sur., 2013). No, velike količine mogu povećati pH, pa stoga treba voditi računa o njegovom dodavanju.

Za rast i rodost potrebno je razdoblje od najmanje 160 dana vegetacije. Ovisno o sorti, od cvatnje do početka dozrijevanja plodova mora proći od 60 do 90 dana (Brala, 2008).

Visokogrmolika borovnica uspješno raste na manjim nadmorskim visinama, iako uspjeva i na višim, do oko 1000 metara. Potrebno je izbjegavati uvale, ravnice i položaje koji su na udaru hladnih, jakih i suhih vjetrova (Žižek, 2009).

Vaccinium vrste, kao i većina bjelogoričnog drveća u umjerenom klimatskom pojasu, imaju potrebu za hladnijim periodom kako bi se mogle odmoriti i u proljeće ponovno procvjetati. Borovnica je osjetljiva na sušu jer njezin korijen nije obrastao korijenovim dlačicama (Stanković, 1982), pa često iz tih razloga dolazi do smanjenog razvoja ploda, preranog otpadanja lišća, sušenja vrhova grana, ali u nekim slučajevima i do uvenuća biljke. S toga je potrebno provoditi navodnjavanje kako bi se osigurala zadovoljavajuća kvaliteta ploda i količina ukupnog prinosa. Svakako i prevelika količina vode u tlu šteti svim grmovima, posebice u fazi intenzivnog rasta.

Uzgojne borovnice za dobar rast i visoku kvalitetu trebaju veliku količinu sunčeve svjetlosti. No, naravno da postoje i iznimke, kao što je slučaj sa sortama *Vaccinium corymbosum* kojima je potrebna tama.

Problemi s kojima se susreću proizvođači su zaštita od biljne bolesti i štetočina koji mogu nanijeti velike ekonomske štete, a u ekstremnim slučajevima i do propadanja nasada. Bolesti se mogu suzbiti uz pomoć raznih preparata kao što su: strobilurin, mankozeb, kaptan i sl.

Prema službenim podacima Agrobiz-a (2019), najveći proizvođači borovnice u Europi su Španjolska i Maroko, a nešto manji broj je zabilježen u Poljskoj čija proizvodnja raste iz dana u dan.

S druge strane Burton (2017) je dao svoje podatke prema kojima je najveći svjetski proizvođač SAD sa godišnjom proizvodnjom od 239, 071 t (75%). Iza SAD-a slijedi Kanada

sa nešto manje od 109, 000 t. U Europi, po Burtonu, na prvom mjestu je Poljska sa 12, 731 t. U Njemačkoj je zabilježena proizvodnja od 10, 277 t, a Francuska broji oko 9,011 t. Ostale države broje znatno manje vrijednosti.

2.1.3 Sorte borovnice

Kultivirane sorte borovnice su nastale selekcijom ili križanjem divljih borovnica u prvoj polovici prošlog stoljeća u SAD-u. Broje preko sto vrsta, od kojih se 20-30 proširilo po svijetu i koriste se kao nasadi. Danas se pri odabiru sorte prvenstveno gleda na svojstva ploda.

Sorte se mogu podijeliti u dvije važne grupe: sorte s velikim plodovima i sorte sa sitnijim plodovima (Miljković, 1991) .

❖ Sorte sa velikim plodovima:

Berkley, Bluecrop, Blueray, Coville, Darow, Earlyblue, Herbert

❖ Sorte sa sitnijim plodovima:

Berlington, Goldtraube, Raconcas, Rubel

- Bluecrop

Grm bujnog rasta, uspravnog položaja grana i dobre rodnosti. Otporan je na vremenske nepogode. Bobice su krupne, okruglastog oblika, svjetloplave boje sa dobrim voštanim omotačem. Kiselkastog su okusa sa slabo izraženom aromom. Cijenjena je vrsta zbog stalne i obilne rodnosti, kvalitete plodova i otpornosti (Stanković, 1982).

- Berkley

Visokog i bujnog grma sa razgranatim granama. Ima veliku rodnost. Bobice su vrlo krupne (1,5 do 1,9g), spljoštene, svijetloplave, čvrste, slabo aromatične, srednje kvalitete (Mratinić, 2015). Dobrog su okusa sa slabom kiselošću (Mratinić, 2015).

- Earlyblue

Grm srednje bujnosti, umjereno razgranat, uspravnog rasta i obilne rodnosti. Grozd je srednje veličine, a bobice su velike, okrugle i lijepe svijetloplave boje. Kiselkastog su okusa sa

umjerenom aromatičnošću. Zbog svojih karakteristika ubraja se među najbolje rane sorte (Stanković, 1982).

- Blueray

Prema genetskoj srodnosti bliska je sorti Bluecrop. Grmovi su im bujnog i uspravnog rasta. Bobice su krupne (1,5-1,8 g), spljoštene, plave boje (Pantelić, 1984). Slatkasto-kiselkastog su okusa sa izraženom aromom. Zbog svoje čvrstoće pogodni su za transport i preporučuju se za uzgoj.

- Coville

Sorta sa dobrom rodnošću i bujnim grmovima. U SAD-u je jedna od vodećih sorti. Dozrijeva dosta kasno. Grozd je srednje velik, a plod je okruglo-sploštena bobica svijetloplave boje. Dosta je čvrsta, sočna, ugodno slatkokiselkasta okusa i vrlo aromatična. Beru se u vremenu potpune zrelosti, jer ranije ubrani plodovi su kiseli i bez arome (Miljković, 1991).

- Herbert

Dozrijeva dosta kasno, ali ima dobru i stabilnu rodnost. Grmovi su im nižeg, bujnog rasta. Bobice su velike, čvrste, tamnoplave boje. Kiselkastog su okusa sa vrlo ugodnom aromom. Osim što se svrstava među bolje sorte u SAD-u, zastupljena je i u Zapadnoj Njemačkoj (Miljković, 1991).

- Goldtraube

Sorta je nastala u Njemačkoj. Ima dobra tehnološka svojstva. Bujnog je grma i dobre rodnosti. Plodovi su sitniji, ali vrlo čvrsti i dobrog su okusa (Mratinić, 2015).

Na području Hrvatske uz gore navedene sorte koriste se još i Duke, Elliott, Collins i Bluetta.

- Duke

Uspravnog je rasta, dugih grana koje se često pod teretom savijaju prema zemlji. Plodovi su srednje do krupne veličine (1,7 g), svijetloplave boje, slatkastog okusa. Čvrste su i održe se svježije duže od ostalih sorata. Ubrajaju je u sortu sa konstantnom rodnošću i prikladna je za mehaničku berbu (Volčević, 2008).

- Elliott

Ubrajamo je u sortu sa najkasnijim dozrijevanjem. Uspravnog je grma, sa visokom i konstantnom rodnošću, te je samooplodna. Bobice su čvrste i srednje krupnoće. Na tržište često dolazi u svježem stanju. Otporna je na sušu, a ugiba na temperaturama nižim od -25 °C (Ebert, 2008).

- Collins

Bujni, uspravni i snažni grmovi. Bobice su čvrste, velike, svijetloplave boje. Slatkog su okusa sa slabom kiselošću i izraženom aromatičnošću. Dobro podnose hladnoću i pogodne su za transport (Miljković, 1991).

- Bluetta

Grm je širok, manje bujan, ali dobre je rodnosti. Sazrijeva dosta rano. Bobice su čvrste, sitne do srednje veličine. Tamnoplave je boje, sa slabo izraženom aromom (Ebert, 2008).

Tablica 1. Dob sazrijevanja različitih sorata borovnice (Baznik, 2019)

| Sorta | Dob sazrijevanja | Vrsta |
|--|--------------------------------------|--------------------|
| Earliblue, Bluetta, Ivanhoe, Spartan, Duke | Od sredine do kraja mjeseca lipnja | Rane sorte |
| Bluecrop, Blueray, Berkeley | Od početka do sredine sedmog mjeseca | Srednje rane sorte |
| Jersey, Coville, Herbert, Elliott | Od sredine sedmog mjeseca pa nadalje | Kasne sorte |

2.1.4 Kemijski sastav i nutritivna vrijednost borovnice

Plodovi borovnice imaju visoku biološku vrijednost. Bogati su najvažnijim kemijskim komponentama koje su neophodne ljudskom organizmu za normalan i pravilan razvoj.

Po Martinović (2019) plodovi divlje borovnice u prosjeku sadrže: 11-15% suhe tvari; 6,39-8,68% šećera; 0,52-1,31% celuloze; 0,63-1,81% proteina; 0,29-0,79% masti te 0,13-0,34% pepela.

Od šećera najviše su sadržane glukoza (48 %) i fruktoza (49 %), a 3 % čini saharoza (Ebert, 2008).

Borovnica sadrži visok postotak vlakana i na taj način pozitivno utječe na kvalitetnu probavu, smanjujući rizik od crijevnih bolesti (Dujmović Purgar i sur., 2007). Zbog količine vlakana može se koristiti i kao dijeta za mršavljenja jer stvara osjećaj sitosti.

Od mineralnih tvari u plodovima borovnice dominiraju: kalij, fosfor, kalcij i magnezij (Mratinić, 2015).

Tablica 2. Sastav mineralnih tvari u borovnici (USDA, 2018)

| Sastav | Mjerna jedinica | Vrijednost na 100g |
|--------------|-----------------|--------------------|
| Kalcij, Ca | mg | 6 |
| Fosfor, P | mg | 12 |
| Kalij, K | mg | 77 |
| Magnezij, Mg | mg | 6 |
| Natrij, Na | mg | 1 |

Također treba istaknuti da su plodovi bogati fenolnim spojevima koji posjeduju visoki antioksidacijski kapacitet, te su zanimljiv sastojak u proizvodnji sokova, alkoholnih pića, džemova, sladoleda ili preljeva za torte i koriste se sve više u razvoju funkcionalne hrane s naglaskom na brigu za zdravlje (Jurković, 2018).

U svojim istraživanjima Prior i suradnici (1998) su ustanovili da plodovi borovnice sadrže veliku količinu antocijana (300-698 mg/100g) u usporedbi sa ostalim jagodastim voćem i *V. angustifolium*, a ta količina se dodatno povećava tijekom dozrijevanja (Jaakola i sur., 2002).

U usporedbi s drugim voćem relativno je siromašna aromatičnim tvarima. Njihov ukupni udio kreće se oko 0,1 mg/100g (Jelovečki, 2014). Hidroksicitronel se smatra najvažnijim za razvoj tipičnog mirisa plavih bobica borovnice (Ebert, 2008).

Uz sve navedeno, plodovi su bogati i vitaminima (Tablica 3), a osobito se ističe vitamin C.

Tablica 3. Sastav vitamina ploda borovnice (USDA, 2018)

| Sastav | Mjerna jedinica | Vrijednost na 100g |
|------------|-----------------|--------------------|
| Vitamin C | mg | 9,7 |
| Vitamin A | µg | 3 |
| Niacin | mg | 0,418 |
| Riboflavin | mg | 0,041 |
| Tiamin | mg | 0,037 |
| Vitamin B6 | mg | 0,052 |

Važnost plodova za zdravlje je i u sposobnosti da vežu štetne radikale u ljudskom tijelu koji najčešće nastaju prilikom izlaganja stresu ili tijekom bolesti. Osim toga borovnica jača imunološki sustav, liječi bolesti grla, usta i pluća, poboljšava cirkulaciju te smanjuje rizik nastanka raka (Primorac, 2017).

Sjeme borovnice je bogato esencijalnim masnim kiselinama, pa tako dobiveno ulje cijedenjem sjemena bobica predstavlja važan proizvod sa nutritivnog gledišta.

Relativno visok je i udio kiselina u uzgojnim borovnicama, među kojima se ističu limunska i jabučna (8:1), dok ih u divljim borovnicama ima nešto manje (3:1).

Kada govorimo o masnim kiselinama, borovnica u 100 g sadrži oko: 28 mg zasićena masna kiselina; 47 mg mononezasićena masna kiselina, te 146 mg polinezasićenih masnih kiselina (Vinčić, 2017).

2.2. FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti prisutni u velikom broju biljaka, većinom vezani za druge molekule. Danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva (Pandey i sur., 2009). U prirodi se mogu nalaziti slobodni ili u obliku glikozida.

Ekološki faktori, temperatura, agrotehničke mjere, svjetlost, uvjeti dozrijevanja, skladištenja te obrade svakako utječu na sastav i koncentraciju fenolnih spojeva u biljkama (Kim u sur., 2001).

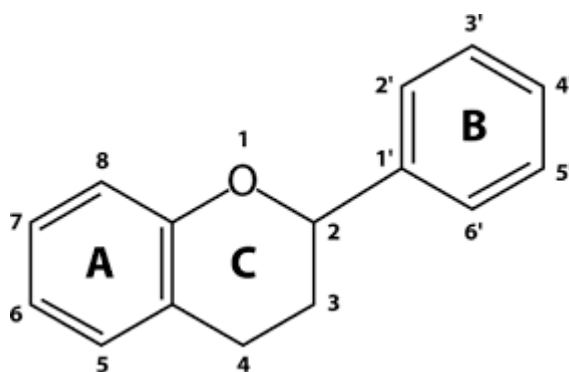
Na kvalitetu voća u velikoj umjeri utječu i fenolni spojevi, jer su odgovorni za regulaciju najvažnijih procesa (rast, biosinteza lignina), otpornost biljnog tkiva na različita oštećenja, nastajanje boje, okusa i arome svojstvene za pojedinu vrstu bobičastog voća te utječu na gorčinu i trpkost (Gabrielska i sur., 1999).

Osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina (Bravo, 1998).

Prema osnovnoj kemijskoj strukturi fenolne spojeve dijelimo na:

- flavonoide
- neflavonoide

Ime „*flavonoidi*“ predložili su Geisman i Hinseinner 1952. godine za detekciju svih biljnih pigmenata koji imaju C6-C3-C6 strukturu, u kojima su dva benzenska prstena povezana preko C-3 jedinice. Predstavljaju veliku grupu sekundarnih metabolita biljaka (Häkkinen i Törrönen, 1999) koja broji oko 4000 vrsta, što ukazuje na činjenicu da su široko rasprostranjena grupa spojeva u prirodi. Topljivi su u vodi, a najčešće se nalaze kao žuti, crveni ili ljubičasti pigmenti. Najviše su prisutni u listovima, sjemenu i cvjetovima. Oni omogućuju biljci zaštitu od ultraljubičastog zračenja, patogena i biljojeda.



Slika 2. Osnovna struktura flavonoida (Pietta, 2000)

Pozitivni učinci flavonoida na zdravlje ljudi, doprinjeli su naglom porastu upotrebe ove vrste voća kao funkcionalne hrane.

Najviše su zastupljeni u jestivim biljkama, zelenom, žutom i crvenom povrću (brokula, rajčica, karfiol, kupus), bobičastom voću (aroniji, crvenom grožđu, crveni i crni ribiz) (Bengoechea i sur., 1997; Lu i Foo, 1997), ali i u čajevima (posebice zelenom) (Hojden, 2000).

Antioksidacijski mehanizmi koji su karakteristični za flavonoide su: hvatanje elektrona slobodnog radikala, kelatno vezanje iona prijelaznih kovina (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), aktiviranje antioksidacijskih enzima i inhibiranje oksidaza (Heim i sur., 2002).

Najvažniji način je kada djeluju kao hvatači slobodnih radikala i tako prekidaju njihovu lančanu reakciju. Slobodni radikali su veoma reaktivni i štetni jer izazivaju oksidaciju lipida u staničnoj membrani, kao i proteina u tkivima (Lukežić, 2015).

Glavne grupe flavonoida koje se nalaze u bobičastom voću su (Oszmiański i Wojdyło, 2005):

- antocijani
- proantocijani
- flavonoli
- katehini

Pored njih, ovoj grupi pripadaju još i strukture kao što su flavonol glikozidi, flavoni, izoflavoni, flavanoni i dihidrochalkoni (Harborne i Baxter, 1999).

- Flavanoli

Poznati su još i kao katehini, a ubrajaju se u najrašireniji skupinu flavonoida. Glavni spojevi ove skupine su: katehin, epikatehin, galokatehin i epigalokatehin.

Flavanoli se razlikuju od većine flavonoida, po tome što su češće prisutni u slobodnom obliku u voću nego li u obliku glikozida. Flavanoli međusobno povezani čine procijanidine (Weinges i Piretti, 1971).

- Antocijani

Od sekundarnih metabolita biljaka pronađenih u borovnicama, najveću pažnju su dobili antocijani (Gao i Mazza, 1994). Oni predstavljaju važnu polifenolnu komponentu voća, posebno bobičastog voća, a javljaju se u obliku glikozida, čijom hidrolizom nastaje antocijanidin i šećerna komponenta. Antocijanidini su slabije obojeni i manje stabilni od antocijana.

Prema podacima Fennema (1985) u prirodi je pronađeno oko dvadeset različitih antocijanidina, a najvažniji su: cijanidin, pelargonidin, delphinidin, peonidin, petunidin i malvidin. Najrašireniji antocijanidin u bobičastom voću je cijanidin.

Antocijani su odgovorni za plavu, ljubičastu, rozu i crvenu boju voća. Prema istraživanjima, 100 g bobica borovnice može sadržavati do 500 mg antocijana (Manach i sur., 2005). Također su odgovorni i za oprašivanje, jer brojne kukce privlače pigmenti u cvjetovima.

Udio antocijana u svježem bobičastom voću iznosi (Szajdek i Borowska, 2008):

- borovnica (*Vaccinium myrtillus*): 299,6 mg/100 g;
- kupina: 134,6- 152,2 mg/100 g;
- crni ribizl: 128-411 mg/100 g;
- brusnica: 19,8-65,6 mg/100 g;
- malina: 38,7 mg/100 g;
- jagoda: 39,08 mg/100 g

Stabilnost antocijana ovisi o mnogobrojnim faktorima kao što su: pH vrijednost, prisutnost kisika, svjetlost, povišena temperatura, šećeri i produkti njihove razgradnje, ioni metala i dr. (Besten, 2011).

- Flavonoli

Glavni predstavnici ove grupe su kvercetin i kemferol, ali su poznati i morin, rutin, miricetin, izoramnetin te fisetin. Flavonoli su prisutni u glikozidnoj formi, povezani sa šećernom jedinicom (glukozom i ramnozom).

Močvarna borovnica (*Vaccinium uliginosum*) sadrži oko 184 mg kg⁻¹ flavonola, dok ih u običnoj borovnici (*Vaccinium myrtillus*) ima od 43-51 mg kg⁻¹. Pored borovnice u velikim količinama su prisutni i u crnom ribizlu (115 mg kg⁻¹) i brusnici (157-263 mg kg⁻¹), (Häkkinen i sur., 1999).

Neflavonoidi su jednostavnije građe od flavonoida i imaju jedan fenolni (benzenski) prsten, za razliku od flavonoida koji imaju dva fenolna prstena međusobno povezana lancem od triju ugljikovih atoma (Marković i Talić, 2013).

Unutar skupine fenola, kod borovnica najvažniji spoj je klorogena kiselina (do 5mg g⁻¹ svježje mase) (Ebert, 2008).

Bobičasto voće predstavlja bogat izvor fenolnih spojeva, kao što su fenolne kiseline, flavonoidi, stilbeni, tanini, katehini. Pored toga, većina fenolnih spojeva je odgovorna za organoleptička svojstva ploda i njihovih prerađevina kao što su boja i ukus bobičastog voća (Cheynier, 2005).

Visoko prisustvo ukupnih polifenolna dokazali su Fredes i suradnici (2014) u plodovima borovnice, maline i kupine, koji su ubrani u istoj fazi vegetacije (dozrijevanja). Uspoređivanjem rezultata uočeno je da najveću količinu ima kupina, a iza nje slijede borovnica i malina. Isti slučaj je zabilježen i sa antocijanima.

2.2.1 Antioksidacijska aktivnost

Antioksidansi su sve one tvari koje u maloj količini u kratkome vremenu neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala i drugih oksidanasa (Parčetić-Kostelac i sur., 2016). Oni nastaju u stanici ili se u organizam unose hranom ili u obliku dodataka. Stoga je danas potreba za prirodnim izvorima antioksidanasa sve veća.

Antioksidacijska aktivnost prvenstveno ovisi o vrsti borovnice, što je i znanstveno dokazano da divlje borovnice imaju ukupno veći antioksidacijski kapacitet od kultiviranih borovnica (Gajdoš-Kljusurić i sur., 2016). Osim toga važnost se prepisuje i sadržaju polifenolnih spojeva (Manganaris i sur., 2014) i vitamina C (askorbinska kiselina).

Tablica 4. Antioksidacijska aktivnost svježeg bobičastog voća (Kulling i Rawel, 2008)

| Vrsta bobičastog voća | $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ svježeg voća |
|--------------------------|--|
| Visokogrmolika borovnica | 60,1 \pm 2,8 |
| Kupina | 55,7 \pm 14,7 |
| Crna ribizla | 56,7 \pm 13,5 |
| Aronija | 160,2 |
| Brusnica | 18,5 |
| Crveno grožđe | 7,4 \pm 0,5 |
| Malina | 21,4 \pm 2,2 |
| Jagoda | 20,6 \pm 2,3 |

Rezultati antioksidacijske aktivnosti u svježem bobičastom voću (Tablica 4), prema Kullingu i Rawelu (2008) dobiveni su ORAC¹ metodom.

¹ eng. *Oxygen Radical Absorbance Capacity* – kapacitet za apsorpciju kisikovih radikala

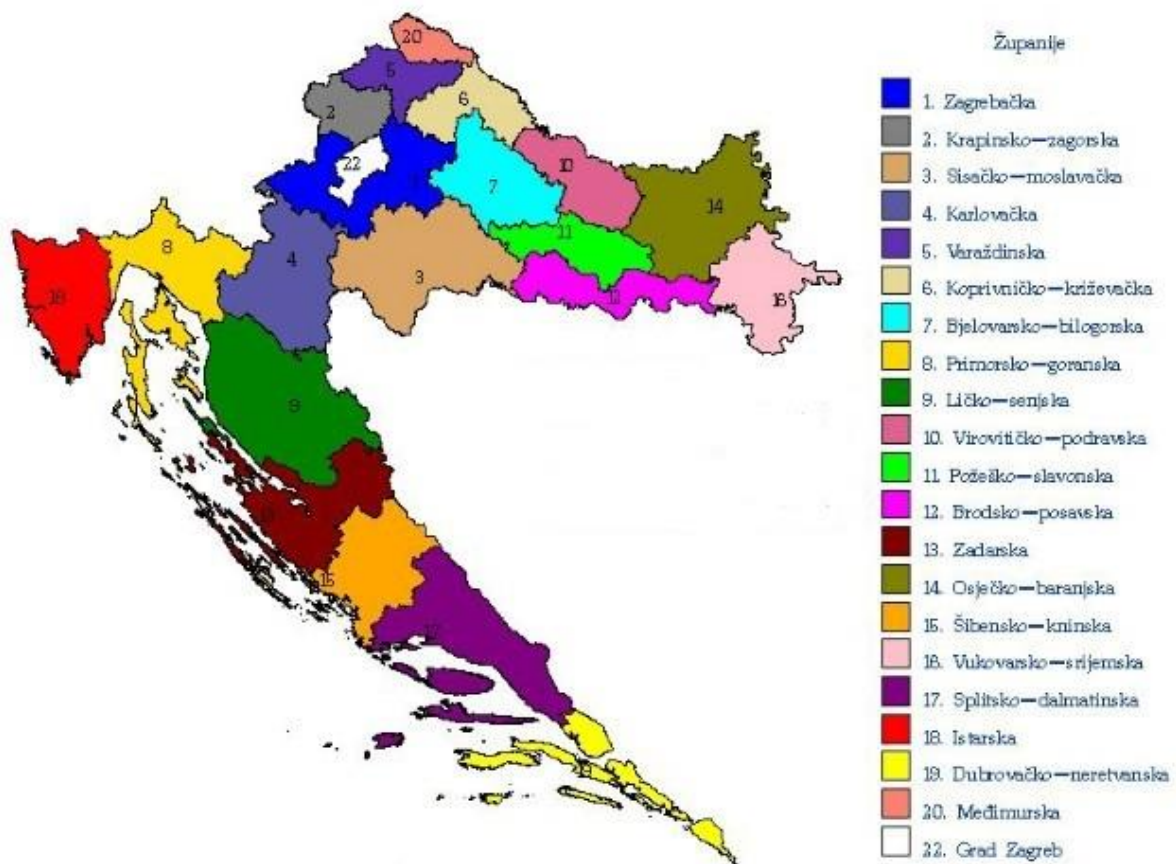
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJAL

3.1.1 Uzorci

Tijekom ovog istraživanja ispitivano je 35 uzoraka zamrznutih borovnica iz Primorsko-goranske županije (Slika 4). Svi uzorci su odmrznuti, homogenizirani i ekstrahirani sa ekstrakcijskim otapalom (2% HCl/MeOH).

Dobiveni ekstrakti korišteni su za spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida.



Slika 3. Prikaz županija u Republici Hrvatskoj (Milovan, 2016)



Slika 4. Lokacije uzoraka divlje borovnice (Božić, 2013)

Na slici 4. prikazane su lokacije šumarija: Vrbovsko (Jelenski jarak, Macan), Skrad (Bukov vrh), Ravna gora (Javorova kosa) i Mrkopalj (Tuk mrkopaljski, Matić poljana, Begovo razdoblje), u kojima su ubrani svi uzorci za eksperimentalni dio ovog rada.

3.1.2 Kemikalije:

- Destilirana voda
- Metanol (HPLC čistoće)
- Klorovodična kiselina (HCl)
 - Koncentrirana HCl se razrijedi s vodom u omjeru 1:4

- U odmjernu tikvicu od 500 mL razrijedi se 27 mL 37% HCl s destiliranom vodom, kako bi se dobila 2% otopina HCl-a
- MeOH/2% HCl
 - 25 mL 2% HCl se razrijedi sa metanolom (HPLC čistoće) u odmjernu tikvicu od 500 mL
- Folin-Ciocalteu reagens (Kemika, Zagreb)
 - 3 mL reagensa se razrijedi sa 6 mL destilirane vode (otopina se priprema svježa na dan analize)
- Zasićena otopina natrijeva karbonata ($y=200 \text{ mg mL}^{-1}$), Na_2CO_3 (Poch S. A., Sowinskigo, Poljska)
 - U odmjernoj tikvici od 50 mL, otopi se 10 g anhidrida natrijeva karbonata sa 40 mL vruće destilirane vode, te nakon što se ohladi nadopuni se sa destiliranom vodom do oznake (otopina se pravi 24 h prije analize)
- Stock otopina galna kiselina; $y=5 \text{ mg mL}^{-1}$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
 - 0,25 g galne kiseline se otopi sa metanolom (HPLC čistoće) u odmjernoj tikvici od 50 mL
- Formaldehid
 - U odmjernu tikvicu od 100 mL razrijedi se 13 mL 37%-tnog formaldehida sa destiliranom vodom

3.1.3. Oprema:

- Laboratorijsko posuđe: odmjerne tikvice od 10, 50, 100, 250, 500 mL; staklene čaše; lijevci; stakleni štapić; epruvete; stalci za epruvete; menzura od 50 mL; žličice; Elenmayerove tikvice od 250 mL
- Kivete
- Pipete
- Propipete od: 20 μL , 1000 μL
- Analitička vaga (tip AX 200, Shimadzu)
- Tehnička vaga (tip ET 1111, Tehnica, Železniki Jugoslavija)
- Büchnerov lijevak
- Filter papir (21/N 80g qm^{-1} , Munktell)

- Mješalica-vortex (tip VV3 S40)
- Spektrofotometar (UV-1280, Shimadzu)
- Štapni mikser (Philips)
- Magnetna mješalica (MI0103002)
- Vodena kupelj (itron 16, INKO)
- Plamenik
- Tronožac
- Azbestna mrežica
- Parafilm (PM- 996, USA)

3.2. METODE RADA

3.2.1 Priprema ekstrakta

Prije početka samog procesa analize, svi uzorci zamrznute borovnice su se djelomično odmrzli i homogenizirali. U Erlenmeyerovu tikvicu je izvagano 6,0000 g ($\pm 0,0500$ g), a zatim je pomoću staklenog lijevka dodano 20 mL otapala za ekstrakciju (MeOH/2% HCl). Svi uzorci su stavljeni na magnetnu mješalicu na 60 min. Nakon miješanja, uzorci su filtrirani pomoću Büchnerovog lijevka. Talog se zajedno sa filter papirom vraća u Erlenmeyerovu tikvicu i dodaje se novih 20 mL i postupak se ponavlja. Dobiveni ekstrakt iz Buchnerovog lijevka se stavlja u odmjernu tikvicu od 50 mL, te se nadopuni sa otapalom za ekstrakciju do oznake.

Svi ekstrakti do provedbe analiza čuvani su na +4°C.



Slika 5. Ekstrakti korišteni za analize

3.2.2 Određivanje ukupnih fenola

Princip metode:

Temelji se na kolorometrijskoj reakciji koja je posljedica djelovanja fenola sa Folin-Ciocalteu reagensom te je primjenom spektrofotometrije mjeren intenzitet nastalog obojenja pri valnoj duljini od 765 nm (Singleton i Rossi, 1965; Waterhouse, 2002).

Priprema uzorka:

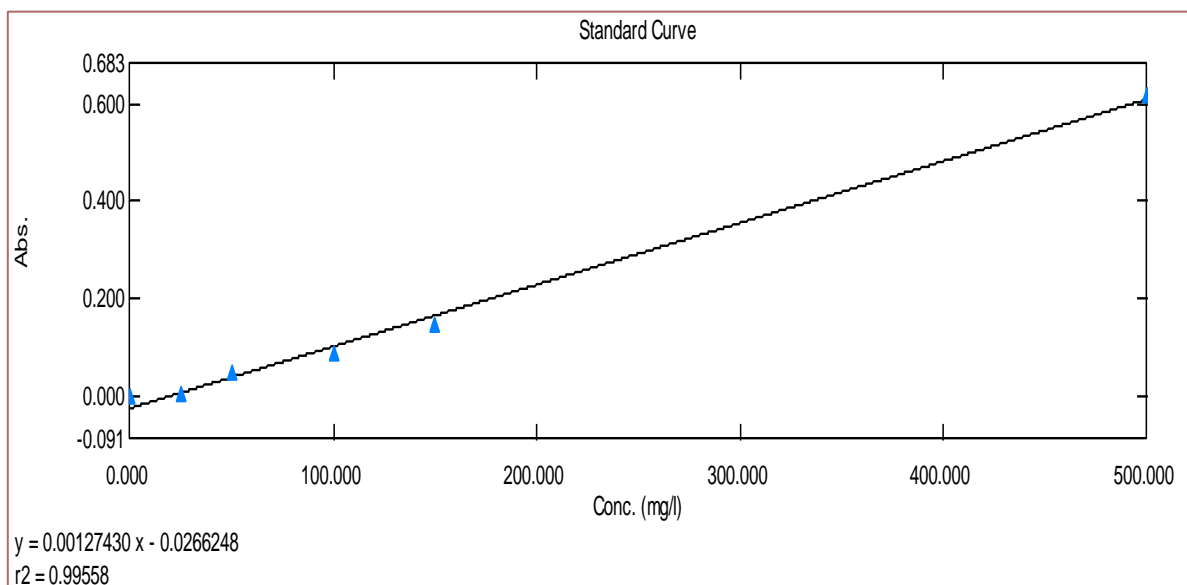
Prije same provedbe metode, uzorci su dodatno razrijeđeni sa otapalom za ekstrakciju (MeOH/2% HCl). U svaku odmjernu tikvicu od 10 mL otpipetirano je 1 mL ekstrakta, te je nadopunjeno sa otapalom za ekstrakciju (MeOH/2% HCl) do oznake.

Izrada baždarnog pravca:

U odmjernim tikvicama od 100 mL, iz pripremljene stock otopine galne kiseline napravila su se razrijeđenja galne kiseline, čije koncentracije iznose: 0, 25, 50, 100, 150, 250, 500 mg/L.

Za pripremu razrijeđenja u svaku odmjernu tikvicu od 100 mL, redom je dodano: 0, 0,5, 1, 2, 3, 5 i 10 mL otopine galne kiseline, a zatim su se tikvice nadopunile sa destiliranom vodom do oznake.

U svaku epruvetu je otpipetirano 40 μ L razrijeđene galne kiseline. Apsorbancija je mjerena pri valnoj duljini od 765nm.



Slika 6. Baždarna krivulja galne kiseline za određivanje ukupnih fenola

Rezultati baždarne krivulje su izraženi kao mg ekvivalenata galne kiseline na kg jestivog dijela uzorka odnosno $\text{mg GAE}^2 \text{ kg}^{-1}$.

² GAE; eng. Gallic Acid Equivalents

Postupak određivanja ukupnih fenola:

U svaku epruvetu je dodano: 40 μL razrijeđenog ekstrakta, 3160 μL destilirane vode i 200 μL Folin-Ciocalteau reagensa. Sadržaj u epruveta je promiješan na vortexu te nakon 3 min dodano je u svaku epruvetu po 600 μL zasićene otopine Na_2CO_3 .

Na istom principu je napravljena *slijepa proba*, samo umjesto ekstrakta dodaje se destilirana voda.

Epruvete se dalje stavljaju na inkubaciju u vodenu kupelj na 40°C , 30min, te nakon isteka vremena mjeri se apsorbancija na 765 nm.

3.2.3 Određivanje neflavonoida

Pricip metode:

Postupak se temelji na taloženju flavonoidnih feolnih spojeva uporabom formaldehida, koji reagira s C6 ili C8 pozicijom na 5,7- dihidroksi flavonoidu stvarajući metiol derivate koji potom reagiraju s drugim flavonoidnim spojem. Nakon toga nastaju kondenzirane molekule koje se uklone filtriranjem (Ough i Amerine, 1998).

Udio flavonoida određuje se tako što od ukupnih fenola oduzmu neflavonoidi.

Priprema uzorka:

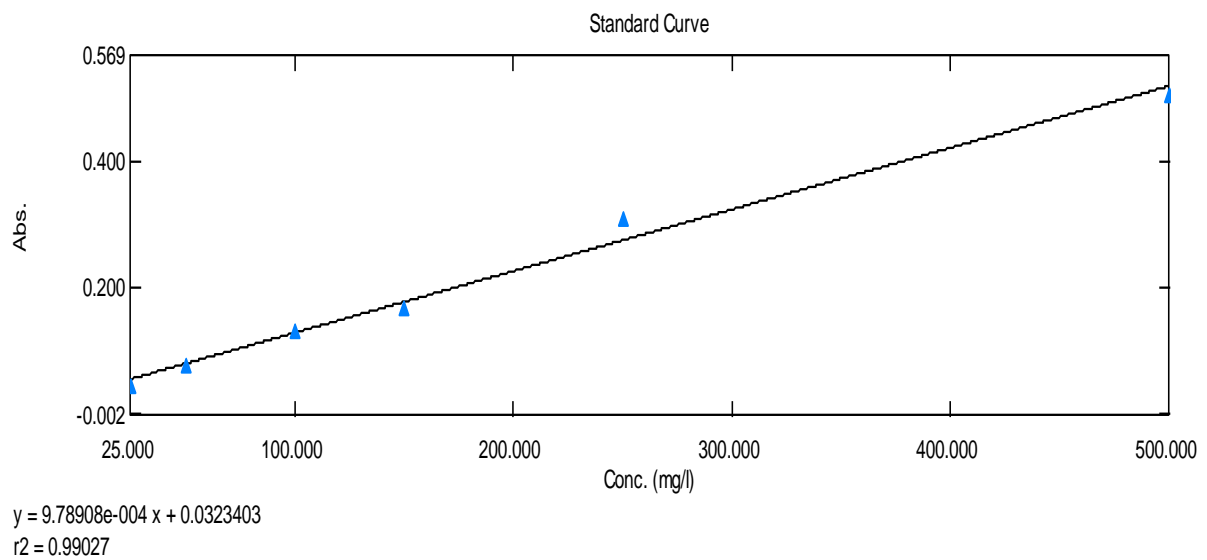
Prije početka svake metode potrebno je razrijedi ekstrakt. U odmjernu tikvicu od 10 mL dodano je 5 mL ekstrakta i 5 mL otopala za ekstrakciju (MeOH/2% HCl).



Slika 7. Priprema uzoraka za određivanje neflavonoida

Izrada baždarnog pravca:

Baždarni pravac je izrađen po istom principu kao i za ukupne fenole.



Slika 8. Baždarna krivulja galne kiseline za određivanje neflavonoida

Postupak određivanja neflavonoida:

U svaku epruvetu dodano je 3 mL razrijeđenog ekstrakta, 1,5 mL otopine HCl te 3 mL formaldehida. Epruvete se izmiješaju na vortexu i začepljene ostaju stajati u mraku 24 h. Sljedeći dan je provedeno mjerenje na valnoj duljini od 765 nm.

Slijepa proba je napravljena na isti način, samo nije dodavan ekstrakt već metanol.

3.2.4 Određivanje flavonoida

Flavonoide smo određivali iz razlike koncentracija ukupnih fenola i neflavonoida, a sve rezultate smo izrazili u mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela (Ough i Amerine, 1998).

Svi rezultati su izračunati pomoću formula:

- Jednadžbe pravca:

$$[1] y = ax + b$$

y- izmjerena apsorbancija otopine uzorka

a- nagib pravca

b- odsječak na osi y

$$[2] \text{ mg GAE/ kg} = \frac{y-b}{a} \times \frac{V}{m} \times \frac{VA}{VB}$$

V- volumen odmjerne tikvice u kojoj je pripreman ekstrakt uzorka

m- masa homogeniziranog uzorka za pripremu ekstrakta

VA- volumen tikvice razrijeđenog uzorka

VB- volumen ekstrakta za pripremu razrijeđenja uzorka

4. REZULTATI I RASPRAVA

Tijekom ovog istraživanja analizirano je 35 uzoraka divlje borovnice s područja Primorsko-goranske županije. Svi uzorci su bili zamrznuti nakon branja. U ovim uzorcima ispitan je udio ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida pomoću spektrofotometrijskih metoda. Analize su provedene kroz tri paralelna mjerenja.

U tablici 5. prikazani su udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u divljoj borovnici s lokacije „Jelenski jarak“ (šumarija Vrbovsko). Svi rezultati su izraženi u mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela. Izračunate su i srednje vrijednosti kao i odsupanja među uzorcima.

Tablica 6. prikazuje udjele ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u divljoj borovnici s lokacije „Macan“ koja također pripada šumariji Vrbovsko. Rezultati su izraženi u mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela.

Prikazani udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida s lokacije „Bukov vrh“ (šumarija Skrad) izraženi su u mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela (Tablica 7).

U tablici 8. su prikazani rezultati (mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela) za ukupne fenole, neflavonoide i flavonoide s lokacije „Javorova kosa“ (šumarija Ravna gora).

Rezultati iz tablice 9. prikazuju udjele ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u divljoj borovnici čiji su uzorci ubrani na lokaciji „Tuk mrkopaljski“ (šumarija Mrkopalj).

Udjeli ukupni fenola, neflavonoida i flavonoida izraženi u mg GAE kg⁻¹ (jestivog dijela) s lokacije „Matić poljana“ (šumarija Mrkopalj) nalaze se u tablici 10.

U tablici 11. prikazani su udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida s lokacije „Begovo razdoblje“ (šumarija Mrkopalj), izraženi u mg GAE kg⁻¹ (jestivog dijela). Također su prikazana i odstupanja među uzorcima kao i srednje vrijednosti.

Slika 9. prikazuje prosječne vrijednosti ukupnih fenola sa sedam različitih lokacija izraženih u mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela.

Na slikama 10 i 11 su prikazane prosječne vrijednosti neflavonoida i flavonoida.

Tablica 5. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Jelenski jarak“ (šumarija Vrbovsko)

| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 1 | 7671,293 | 1738,476 | 5932,817 |
| 2 | 5445,587 | 1162,578 | 4283,007 |
| 3 | 5889,809 | 1026,038 | 4863,770 |
| 4 | 7718,069 | 1923,863 | 5794,206 |
| 5 | 8028,219 | 1733,698 | 6294,520 |
| \bar{x} | 6950,5954 | 1516,9306 | 5433,664 |
| σ | 1063,956 | 354,459 | 744,178 |
| cv | 15,3% | 23,4% | 13,7% |

Tablica 6. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Macan“ (šumarija Vrbovsko)

| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 6 | 7031,791 | 1509,666 | 5522,124 |
| 7 | 7758,324 | 1709,198 | 6049,126 |
| 8 | 6358,232 | 1438,597 | 4919,635 |
| 9 | 6126,602 | 1127,542 | 4999,06 |
| 10 | 7873,387 | 1746,891 | 6126,496 |
| \bar{x} | 7029,6672 | 1506,3788 | 5523,2882 |
| σ | 708,401 | 222,308 | 505,881 |
| cv | 10,1% | 14,8% | 9,2% |

Tablica 7. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Bukov vrh“ (šumarija Skrad)

| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 11 | 6406,441 | 1121,499 | 5284,942 |
| 12 | 6807,988 | 1746,785 | 5061,203 |
| 13 | 6632,634 | 1936,071 | 4696,563 |
| 14 | 6154,873 | 1338,189 | 4816,684 |
| 15 | 6216,508 | 1416,212 | 4800,296 |
| \bar{x} | 6443,6888 | 1511,7512 | 4931,9376 |
| σ | 246,912 | 292,177 | 213,23 |
| cv | 3,8% | 19,3% | 4,3% |

Tablica 8. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Javorova kosa“ (šumarija Ravna gora)

| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 16 | 8109,429 | 1659,063 | 6450,366 |
| 17 | 5638,535 | 968,256 | 4670,278 |
| 18 | 8515,684 | 1543,110 | 6972,573 |
| 19 | 6622,141 | 1437,464 | 5184,677 |
| 20 | 6312,872 | 1503,182 | 4809,690 |
| \bar{x} | 7039,7322 | 1422,215 | 5617,5168 |
| σ | 1094,417 | 238,151 | 923,797 |
| cv | 15,5% | 16,7% | 16,4% |

Tablica 9. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Tuk mrkopaljski“ (šumarija Mrkopalj)

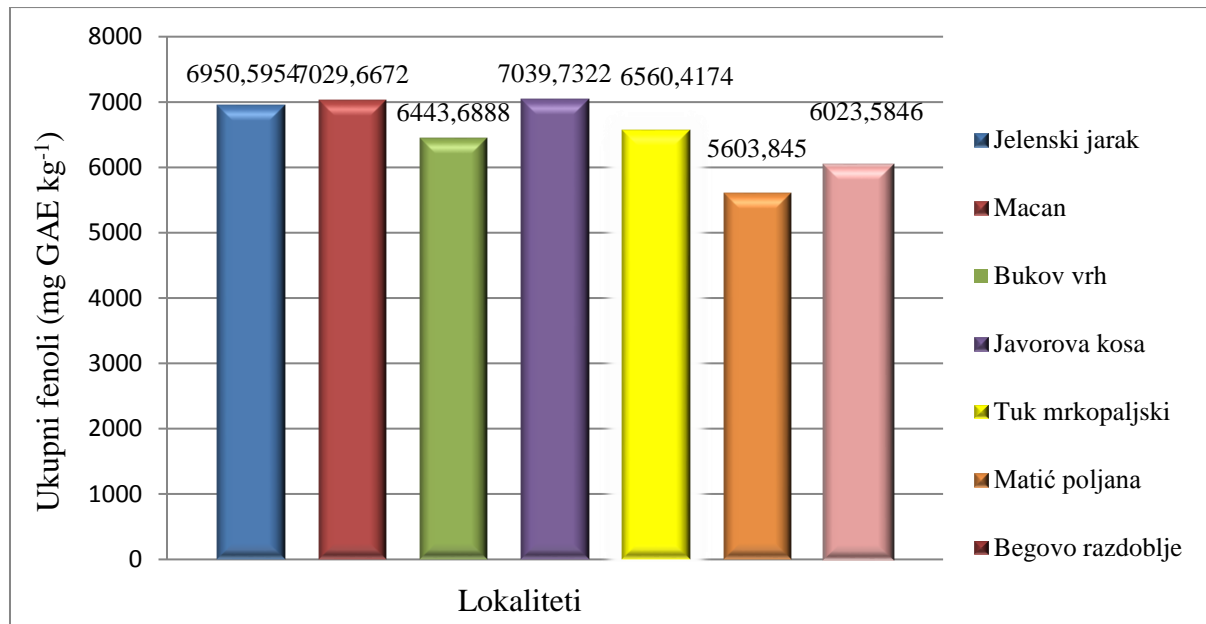
| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 21 | 6314,714 | 1445,241 | 4869,472 |
| 22 | 6530,468 | 1699,333 | 4831,135 |
| 23 | 7170,129 | 1108,428 | 6061,701 |
| 24 | 6914,359 | 1426,759 | 5487,600 |
| 25 | 5872,417 | 1118,409 | 4754,008 |
| \bar{x} | 6560,4174 | 1359,634 | 5200,7832 |
| σ | 454,232 | 222,945 | 503,876 |
| cv | 6,9% | 16,4% | 9,7% |

Tablica 10. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Matić poljana“ (šumarija Mrkopalj)

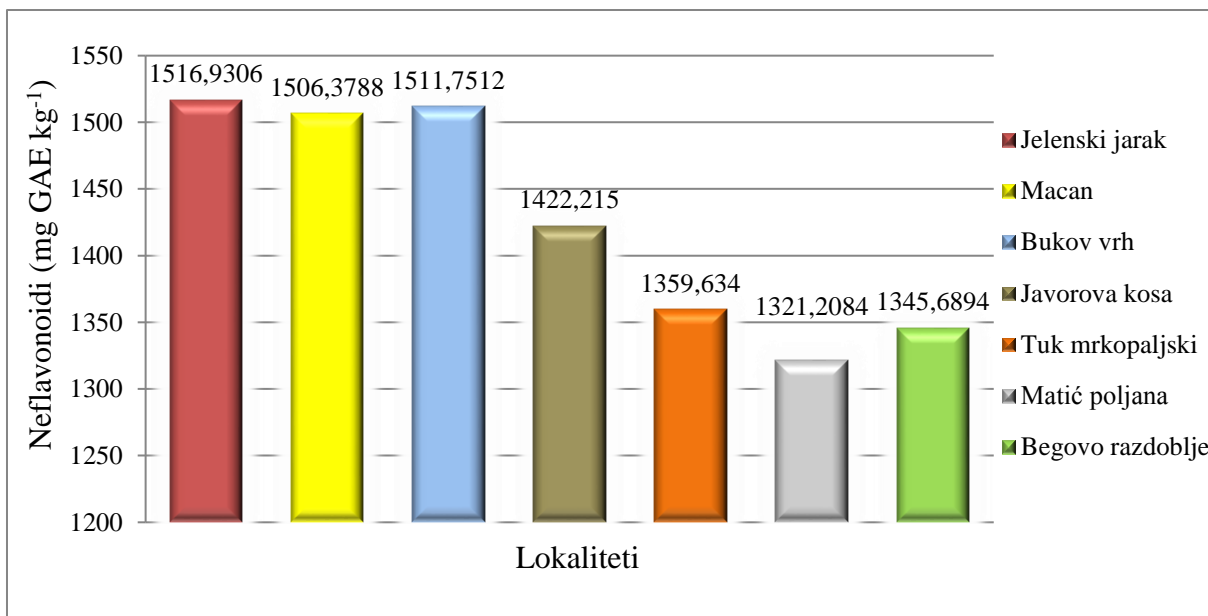
| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 26 | 6363,838 | 1613,072 | 4750,766 |
| 27 | 6009,810 | 1589,739 | 4420,070 |
| 28 | 6401,502 | 1202,252 | 5199,250 |
| 29 | 3801,385 | 990,118 | 2811,267 |
| 30 | 5442,690 | 1210,861 | 4231,828 |
| \bar{x} | 5603,845 | 1321,2084 | 4282,6362 |
| σ | 964,726 | 242,174 | 805,695 |
| cv | 17,2% | 18,3% | 18,8% |

Tablica 11. Udjeli ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u uzorcima divlje borovnice s lokacije „Begovo razdoblje“ (šumarija Mrkopalj)

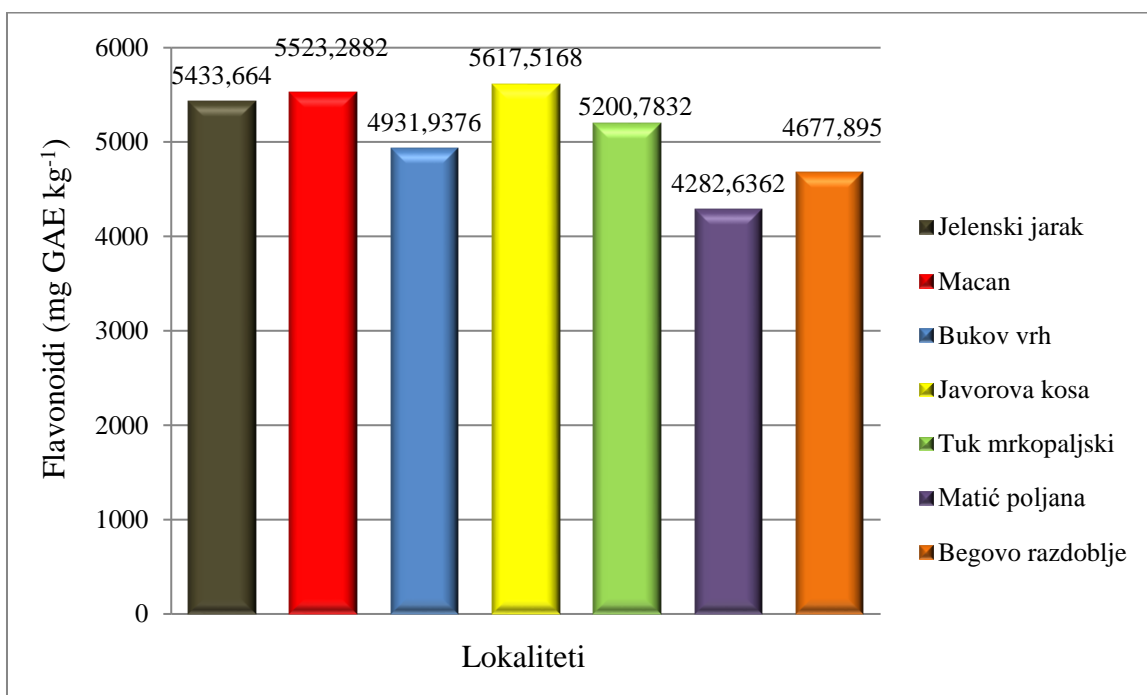
| Uzorci | Ukupni fenoli (mg GAE kg ⁻¹) | Neflavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) | Flavonoidi (mg GAE kg ⁻¹) |
|-----------|---|--|--|
| 31 | 5665,702 | 1329,811 | 4335,891 |
| 32 | 6118,961 | 1453,948 | 4665,012 |
| 33 | 7796,16 | 1506,51 | 6289,649 |
| 34 | 4603,769 | 1472,945 | 3130,825 |
| 35 | 5933,331 | 965,233 | 4968,098 |
| \bar{x} | 6023,5846 | 1345,6894 | 4677,895 |
| σ | 1029,876 | 199,387 | 1019,071 |
| cv | 17,1% | 14,8% | 21,7% |



Slika 9. Usporedbe prosječnih vrijednosti ukupnih fenola (mg GAE kg⁻¹) u divljoj borovnici sa sedam različitih lokacija



Slika 10. Usporedbe prosječnih vrijednosti neflavonoida (mg GAE kg⁻¹) u divljoj borovnici sa sedam različitih lokacija



Slika 11. Usporedbe prosječnih vrijednosti flavonoida (mg GAE kg⁻¹) u divljoj borovnici sa sedam različitih lokacija

Tablica 12. Analiza varijance (ANOVA) za ukupne fenole

| <i>Izvori varijacije</i> | <i>Suma kvadrata odstupanja (SS)</i> | <i>Stupnjevi slobode (df)</i> | <i>Varijanca (MS)</i> | <i>Fischerov kvocijent (F)</i> | <i>P-vrijednost</i> | <i>Granični Fisherov kvocijent (F-crit)</i> |
|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---|
| Uzorci | 4130119,696 | 4 | 1032529,9 | 1,16227 | 0,352074 | 2,776289 |
| Lokacije | 9042504,091 | 6 | 1507084,01 | 1,696453 | 0,165137 | 2,508189 |
| Analitičke pogreške | 21320969,47 | 24 | 888373,73 | | | |
| Ukupno | 34493593,26 | 34 | | | | |

Tablica 13. Analiza varijance (ANOVA) za neflavonoide

| <i>Izvori varijacije</i> | <i>Suma kvadrata odstupanja (SS)</i> | <i>Stupnjevi slobode (df)</i> | <i>Varijanca (MS)</i> | <i>Fischerov kvocijent (F)</i> | <i>P-vrijednost</i> | <i>Granični Fisherov kvocijent (F crit)</i> |
|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---|
| Uzorci | 73120,128 | 4 | 18280,03 | 0,194715 | 0,9387561 | 2,776289 |
| Lokacije | 219658,856 | 6 | 36609,81 | 0,389959 | 0,8781351 | 2,508189 |
| Analitičke pogreške | 2253147,082 | 24 | 93881,13 | | | |
| Ukupno | 2545926,066 | 34 | | | | |

Tablica 14. Analiza varijance (ANOVA) za flavonoide

| <i>Izvori varijacije</i> | <i>Suma kvadrata odstupanja (SS)</i> | <i>Stupnjevi slobode (df)</i> | <i>Varijanca (MS)</i> | <i>Fischerov kvocijent (F)</i> | <i>P-vrijednost</i> | <i>Granični Fisherov kvocijent (F crit)</i> |
|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---|
| Uzorci | 4016866,92 | 4 | 1004216,73 | 1,6932403 | 0,18439119 | 2,776289 |
| Lokacije | 7214188,96 | 6 | 1202364,827 | 2,02734382 | 0,1011582 | 2,508189 |
| Analitičke pogreške | 14233775,06 | 24 | 593073,9609 | | | |
| Ukupno | 25464830,94 | 34 | | | | |

U eksperimentalnom dijelu određivani su udjeli ukupnih fenola, ne flavonoida i flavonoida u divljoj borovnici. Svi rezultati su izraženi u mg GAE·kg⁻¹ jestivog dijela uzorka.

Mjerenje ukupnih fenola je prvi pristup u određivanju ukupnih antioksidanasa, pa podaci o ukupnim fenolima imaju važnu teorijsku primjenu pri analizi antioksidacijskog kapaciteta namirnice (Jakobek i sur., 2007). U tablicama 5-11 prikazani su rezultati ukupni fenola sa sedam različitih lokacija. Prosječne vrijednosti za ukupne fenole kreću se od 5603,845-7039,7322 mg GAE·kg⁻¹ (jestivog dijela). Najveći udio ukupnih fenola (Slika 9) zabilježen je u uzorcima s lokacije „Javorova kosa“ (šumarija Ravna gora), dok najmanji imaju uzorci s lokacije „Matić poljana“ (šumarija Mrkopalj). Koeficijent varijacije najviši je u uzorcima 26-30 s lokacije „Matić poljana“ (Tablica 10), a najmanji u uzorcima 11-15 (Bukov vrh).

Prema rezultatima Dragović-Uzelac i sur. (2010), kultivirana borovnica sadrži oko 2640-5281 mg GAE·kg⁻¹ ukupnih fenola. Ako ove podatke usporedimo sa rezultatima iz tablica 5-11 za ukupne fenole, vidljivo je da je antioksidacijska aktivnost veća u plodovima divlje borovnice u odnosu na kultiviranu.

Ako usporedimo dobivene rezultate ukupnih fenola s rezultatima Connor i sur. (2002) za kultivirane sorte Bluecrop (402 mg/100g svježeg uzorka) i Elliott (515 mg/100g svježeg uzorka) vidljiva je veća razlika u udjelima, što samo potvrđuje već rečeno.

U diplomskom radu Brala (2008), koncentracija ukupnih fenola za kultivirane sorte Duke, Elliot, Sierra i Bluecrop iznosi sljedeće vrijednosti: 2322,91±79,11 (mg/100g s.t); 2904,94±53,73 (mg/100g s. t); 3152,59±395,63 (mg/100g s. t); 2499,74±77,68 (mg/100g s.t). Ove vrijednosti su manje od ukupnih fenola u divljoj borovnici koje su prikazane u tablicama 5-11, kao i na slici 9.

U rezultatima eksperimentalnog dijela rada Jelovečki (2014) koncentracija ukupnih fenola u borovnici iznosi u prosjeku 3198,5 mg GAE·kg⁻¹ što je i dalje manje od vrijednosti dobivenih u ovom diplomskom radu.

Castrejon i suradnici (2008) ispitali su udio ukupnih fenola u kultiviranim sortama borovnice. Sorta Puru nakon prvog branja sadržavala je prosječno 17,3 mg GAE/100 g s. t., dok je u sorti Reka zabilježen nešto veći udio od 52,6 mg GAE·kg⁻¹ s. t.

Kovačević (2007) u svom radu prikazuje rezultate za četiri sorte kultivirane borovnice Duke (305,31±6,41 mg/100 g), Elliot (314,38±6,41 mg/100 g), Sierra (252,19±1,11 mg/100

g) i Bluecrop ($250,62 \pm 1,11$ mg/100 g). Vidljive su razlike u udjelima ukupnih fenola među istim sortama borovnice, kao što je slučaj i sa divljom borovnicom.

Gajdoš-Ključurić i suradnici (2015) ispitivali su udio ukupnih fenola u divljoj borovnici. Prema njihovim rezultatima dobiveno je da divlja borovnica u prosjeku sadrži 473 mg GAE/100 g (jestivog dijela) ukupnih fenola. Ovi rezultati su najbliži rezultatima ovog diplomskog rada.

Giovanelli i Buratti (2009) u svom radu prikazale su rezultate za ukupne fenole u divljoj i kultiviranoj borovnici. Svi uzorci su ubrani u Italiji. Prosječni udio ukupnih fenola u divljoj borovnici iznosi 577-614 mg GAE/100 g, dok je kod kultiviranih sorti Goltraube, Patriot, Bluecrop, Darrow udio nešto manji (251 mg GAE/100 g; 310 mg GAE/100g; 299 mg GAE/100g; 298 mg GAE/100 g). Ako se ovi rezultati usporede međusobno, vidljivo je da ima više ukupnih fenola u divljoj borovnici nego li u kultiviranoj borovnici. Dobiveni ukupnih fenoli u ovom istraživanju (za divlju borovnicu) su približni rezultatima ovog diplomskog rada (Tablice 5-11). Ako pogledamo i sliku 9. možemo zaključiti da su vrijednosti u kultiviranim sortama manje od prosječnih vrijednosti ukupnih fenola u ovom diplomskom radu.

Carvalho i suradnici (2017) u svom radu su uspoređivali rezultate ukupnih fenola za divlje i kultivirane sorte borovnica, koje su prikazali drugi znanstvenici u svojim radovima.

Koca i Karadeniz (2009) u svom znanstvenom radu ispitivali su udio ukupnih fenola u divljoj borovnici. Dobili su da divlja borovnica u prosjeku sadrži 308-542 mg GAE/100 g ukupnih fenola. Ove vrijednosti su nešto manje u usporedbi s rezultatima ovog diplomskog rada (Slika 7).

U eksperimentalnom dijelu rada Rodrigues i suradnici (2011) su u kultiviranim sortama borovnice dobili prosječan udio ukupnih fenola koji iznosi 274 mg GAE/100 g. Ova prosječna vrijednost je znatno manja od vrijednosti ukupnih fenola u ovom radu (Tablice 5-11).

Udjeli neflavonoida u divljoj borovnici prikazani su u tablicama 5-11, kao i na slici 8. Prema ovim rezultatima prosječni udio neflavonoida kreće se od 1321,2084-1516,9306 mg GAE kg⁻¹ jestivog dijela. Najveća koncentracija zabilježena je u uzorcima 1-5 s lokacije „Jelenski jarak“, a najmanja u uzorcima 26-30 (Matić poljana). Izračunati su i koeficijenti varijabilnosti pa je iz tih podataka uočeno da najveću varijabilnost imaju uzorci s lokacije

„Jelenski jarak“ (23,4%), a najmanju uzorci s lokacija „Macan“ i „Begovo razdoblje“ (14,8%). Međutim, ove varijabilnosti nisu statistički značajne.

Prema rezultatima diplomskog rada, Kovačević (2007) navodi da sorta Duke sadrži u prosjeku $288,12 \pm 18,03$ mg/100 g, dok je nešto manji udio zabilježen u sortama Sierra i Bluecrop (oko $238,75$ mg/100 g). Najveći udio neflavonoida ima sorta Elliot ($313,62 \pm 18,03$ mg/100 g). U usporedbi sa prosječnom vrijednošću neflavonoida u divljoj borovnici ($1426,258$ mg GAE·kg⁻¹ jestivog dijela) vidljivo je da su ove vrijednosti nešto veće.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da divlja borovnica sadrži visok udio flavonoida. Vrijednosti se kreću od $4282,6362$ - $5617,5168$ mg GAE·kg⁻¹ jestivog dijela. Najveće koncentracije zabilježene su na lokaciji „Javorova kosa“, dok su najmanje s lokacije „Matić poljana“. Zabilježen je i koeficijent varijabilnosti koji je najviši na lokaciji „Begovo razdoblje“ (21,7%), a najmanji kod „Bukov vrh“.

Brala (2008) u diplomskom radu navodi rezultate za flavonoide iz sorti Duke, Elliot, Sierra, Bluecrop. Najveća koncentracija zabilježena je u uzorcima sorte Sierra ($3127,74 \pm 465,28$ mg/100g s.t), a najmanja u uzorcima sorte Duke ($1785,52 \pm 267,83$ mg/100g s. t). Iz istih sorti Kovačević (2007) je dobila da najveći udio ima sorta Duke ($17,19 \pm 11,62$ mg/100 g), a najmanji sorta Elliot ($0,76 \pm 11,62$ mg/100 g). Prema ovim rezultatima uočena je razlika u udjelima flavonoda među istim sortama, ali i usporedbi sa ovim diplomskim radom čije su vrijednosti dosta veće.

Dragović-Uzelac i suradnici (2010) u znanstvenom radu iznose rezultate flavonoida za sorte Duke, Elliot, Sierra i Bluecrop. Najveći udio zabilježen je kod sorte Sierra ($432,18 \pm 13,94$ mg GAE/100 g) iz sezone berbe 2016. godine, dok najmanji udio ima sorta Duke ($268,97 \pm 21,53$ mg GAE/100 g). Iz sezone berbe 2017. godine udjeli su nešto manji. Sierra sadrži $326,58 \pm 12,55$ mg GAE/100 g flavonoida, dok ih u sorti Duke ima oko $216,97 \pm 13,55$ mg GAE/100 g. Iz ovih podataka može se vidjeti kako vremenske prilike mogu utjecati na sam udio antioksidanasa u bobičastom voću. Vrijednosti su i dalje manje u usporedbi sa flavonoidima divlje borovnice.

Analizom varijance željelo se utvrditi ima li značajnih razlika u udjelima ukupnih fenola, neflavonoida, flavonoida s obzirom na lokaciju i uzorke.

Prema podacima (Tablica 12) za ukupne fenole, vidljivo je da nema značajnih odstupanja među uzorcima, kao ni među lokacijama budući da je izračunati F- kvocijent (1,16 i 1,69)

manji u oba slučaja od vrijednosti graničnog F-kvocijenta (2,77 i 2,5) očitano iz statističke tablice, odnosno dobivene p-vrijednosti veće su od 0,05.

Iz tablice 13. za neflavonoide može se zaključiti da nema odstupanja između uzoraka i lokacija. Ako usporedimo dobivene vrijednosti Fisherova kvocijenta (0,19 i 0,39) i graničnog Fisherovog kvocijenta (2,7 i 2,5), vidljivo je da su vrijednosti manje za F-kvocijent u odnosu na granični F- kvocijent. Drugim riječima, p- vrijednosti su veće od granične.

Kao i kod prethodna dva slučaja kod analize varijance, značajnih odstupanja nema ni kod flavonoida (Tablica 14). F-kvocijent (1,69 za uzorke i 2,03 za lokacije) je manji od graničnog F-kvocijenta (2,77 za uzorke i 2,5 za lokacije), a p- vrijednosti su veće od 0,05.

5. ZAKLJUČCI

Obzirom na prikazane rezultate i navedenu raspravu može se zaključiti sljedeće:

1. Udio ukupnih fenola u divljoj borovnici u prosjeku iznosi 5603,845-7039,7322 mg GAE·kg⁻¹ (jestivog dijela), gdje je vidljiva manja razlika u rezultatima između uzoraka, budući da se radi o sedam različitih lokacija, ali ona nije statistički značajna.
2. Statistički nema značajne razlike u udjelima ukupnih neflavonoida i flavonoida između analiziranih uzoraka, pri čemu prosječan udio za ukupne neflavonoide iznosi 1321,2084-1516,9306 mg GAE·kg⁻¹ (jestivog dijela), te 4282,6362-5617,5168 mg GAE·kg⁻¹(jestivog dijela) za flavonoide.
3. Vrijednosti udjela ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida utvrđene ovim istraživanjem ukazuju na visoku antioksidacijsku aktivnost divlje borovnice.

6. LITERATURA

- Baznik, A. (2019) Američka borovnica. Prvi hrvatski vinogradski portal, Zagreb. <<http://vinogradarstvo.hr/vocarstvo/24-vocarstvo/vocarske-zanimljivosti/rast/62-americka-borovnica>>. Pristupljeno: 18. lipnja 2019.
- Brala, A. (2008) Odeđivanje različitih skupina fenolnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta u borovnicama (*Vaccinium corymbosum L.*). Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Bravo, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* **56**, 317-333.
- Bengoechea, M. L., Sancho, A. I., Bartolome, B. (1997) Phenolic composition of industrially manufactured purees and concentrates from peach and apple fruits. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 4071-4075.
- Besten, V. (2011) *Antocijani: stabilnost i važnost u prehrambenim proizvodima*. Diplomski rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera.
- Božić, B. (2013) Karta PGŽ. Fotosavez Primorsko-goranske županije, Rijeka <<http://fotosavezpgz.hr/clanice/karta-pgz/>>. Pristupljeno: 2. srpnja 2019.
- Carroll, J., Pritts, M., Heidenreich, C. (2016) *Production Guide for Organic Blueberries*. NYS IPM Program, Ithaca, New York.
- Carvalho, M. J., Gouveia, C. S., Vieira, A.C., Pereira, A. C., Carvalho, M. A., Marques, J. C. (2017) Nutritional and phytochemical composition of *Vaccinium padifolium* sm wild berries and radical scavenging activity. *J. Food Sci.* **82**, 11
- Castrejon, A. D. R., Eicholz, I., Rohn, S., Kroh, L. W., Huskens-Keil, S. (2008) Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) during fruit maturation and ripening. *Food Chem.* **109**, 564-572.
- Cheynier, V. (2005) Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 223-229.
- Connor, A. M., Luby, J. J., Tong, C. B. S. (2002) Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* **127**, 238-244.
- Črnčec, R. (2019) Borovnica-*Vaccinium Myrtillus*. Kupinko, Čakovec. <http://www.kupinko.hr/index.php?route=tmdblog/blog&blog_id=32> .Pristupljeno: 15. lipnja 2019.

- Dolibašić, B. (2004) Što su antioksidansi? <<https://nutricionizam.com/sto-su-antioksidansi/>>. Pristupljeno: 20. lipnja 2019.
- Dragović-Uzelac, V., Savić, Z., Brala, A., Levaj, B., Bursać-Kovačević, D., Biško, A. (2010) Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the northwest Croatia. *Food Technol. Biotechnol.* **48**, 214-221.
- Dujmović-Purgar, D., Šindrak, Z., Mihelj, D., Voća, S., Duralija, B. (2007) Rasprostranjenost roda *Vaccinium* u Hrvatskoj. **13**, 219-228.
- Ebert, G. (2008) *Uzgoj borovnica i brusnica*, ITD Gaudeamus d.o.o, Požega.
- Fennema, O. R. (1985) *Food Chem.*, 3. izd., Marcel Dekker, Inc., New York, str. 557-564.
- Fredes, C., Montenegro, G., Zoffoli, J. P., Santander, F., Robert, P. (2014) Comparison of the total phenolic content, total anthocyanin content and antioxidant activity of polyphenol-rich fruits grown in Chile. *Cienc. Invest. Agrar.* **41**, 49-60.
- Freshplaza (2019) Proizvodnja borovnice u Europi raste. Agrobiz/Agrovijesti, <<https://www.agrobiz.hr/agrovijesti/proizvodnja-borovnice-u-europi-raste-u-2017-se-pojelo-160-000-tona-12428>>. Pristupljeno: 17. lipnja 2019.
- Gabrielska, J., Oszmianski, J., Komorowska, M., Langner, M. (1999) Antocyanin extracts with antioxidant and radical scavenging effect. *Z. Naturf.* **54**, 319-324.
- Gajdoš Kljusurić, J., Mihalev, K., Bečić, I., Polović, I., Georgieva, M., Djaković, S., Kurtanjek, Ž. (2016) Near-infrared spectroscopic analysis of total phenolic content and antioxidant activity of berry fruits. *Food Technol. Biotechnol.* **54**, 236-242.
- Gao, L., Mazza, G. (1994) Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.* **59**, 1057-1059.
- Giovanelli, G., Buratti, S. (2009) Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chem.* **112**, 903-908.
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., Törrönen, A. R. (1999) Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Agric. Food Chem.* **47** (6), 2274-9.
- Häkkinen, S. H., Törrönen, A. R. (2000) Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res. Int.* **33**, 517-524.

- Harborne, J. B., Baxter, H. (1999) *The Handbook of Natural Flavonoids*. Wiley, Chichester.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002) Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure- activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* **13**, 572-584.
- Hojden, B. (2000) Herbata zielona i jej wlasciwosci lecznicze. *Wiadomosci Zielarskie.* **9**, 14-15.
- Jakobek, L., Drenjančević, M., Jukić, V., Šeruga, M. (2012) Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of „Nero“, „Viking“, „Galicianka“ and wild chokeberries. *Sci. Hortic.-Amsterdam.* **147**, 56-63.
- Jaakola, L., Maatta, K., Pirttila, A., Torroen, R., Karenlampi, S., Hohtola, A. (2002) Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to antocyanin, proanthocyanidin and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiol.* **130**, 729-739.
- Jelovečki, M. (2014) *Funkcionalna svojstva bobičastog voća*. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Jurković, K (2018) *Vino od borovnice*. Završni rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Kim, Y. C., Koh, K. S, Koh, J. S. (2001) Changes of flavonoids in the peel od Jeju native citrus fruits during maturation. *Food. Sci. Biotech.* **10**, 483-487.
- Koca, I., Karadeniz, B. (2009) Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black sea region of Turkey. *Sci. Hortic.* **121**, 447-50.
- Kovačević, I. (2007) *Polifenolni spojevi te antioksidacijski kapacitet borovnice (Vaccinium corymbosum L.) tijekom berbe*. Diplosmki rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Kulling, S. E., Rawel, H. M. (2008) Chokeberry (*Aronia melanocarpa*)- A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med.* **74**, 1625-1634.
- Larco, H., Strik, B. C., Bryla, D. R., Sullivan, D. M. (2013) Mulch and fertilizer management practices for organic production of highbush blueberry. U: Plant, Growth and allocation of biomass during establishment, *HortScience.* **48**, 1250-1261.
- Lu, Y., Foo, Y. (1997) Identification and qualitifcation of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem.* **2**, 187-194.
- Lukežić, M. (2015) *Sadržaj flavonoida i antioksidativni učinak in vitro vrsta roda Globularia*. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu

- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C. (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 230-242.
- Manganaris, G. A., Goulas, V., Vicente, A. R., Terry, L. A. (2014) Berry antioxidants: small fruits providing large benefits. *J. Sci. Food Agric.* **94**, 825-833.
- Marković, M., Talić, S. (2013) Antioksidacijska aktivnost odabranih hercegovačkih vina. *Kem. Ind.* **62**, 7-12.
- Martinović, A. (2019) *Kemijski sastav borovnice*. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Milovan, A. (2016) Prikaz županija u Republici Hrvatskoj. Jutarnji list, Zagreb <<https://www.labin.com/vijesti/tag/zupanije>>. Pristupljeno: 2. srpnja 2019.
- Miljković, I. (1991) *Suvremeno voćarstvo*, Nakladni zavod znanje, Zagreb.
- Mratinić, E. (2015) *Borovnica i brusnica*, Partenon, Beograd.
- Oszmiański, J., Wojdyło, A. (2005) Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* **221**, 809-813.
- Ough, C. S., Amerine, M. A. (1998) *Methods for analysis of musts and wines*. John Wiley and Sons Inc, Hoboken, USA.
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I. (2009) Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell. Longevity.* **2**, 270-278.
- Pantelić, M. (1984) *Ribizla, ogrozd, kupina, borovnica*. NOLIT, Beograd.
- Parčetić-Kostelac, I., Bešlo, D., Šperanda, M., Kopačin, T., Jozinović, A., Jović, T., Đidara, M. (2016) Oksidacijski stres u uvjetima intezivnog fizičkog napora u ljudi i životinja. *Stočarstvo.* **70**, 71-92.
- Petz, B., Kolesarić, V., Ivanec, D. (2012) *Petzova statistika: osnove statističke metode za nematematičare*. Naklada Slap, Jastrebarsko.
- Pietta, P. G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* **63**, 1035-1042.
- Primorac, V. (2017) *Sorte borovnica za ekološki uzgoj*. Završni rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu.
- Prior, R. L., Cao, G. H., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainlan, C. M. (1998) Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of Vaccinium species. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2686-2693.

- Rodrigues, E., Poerner, N., Rockenbach II, Gonzaga IV., Mendes, C. R., Fett, R. (2011) Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. *F. Sci. Technol.* **31**, 911-7.
- Shabanaj, K. (2014) *Određivanje parametara kvalitete, udjela ukupnih fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti sokova od aronije*. Diplomski rad. Zagreb: Prehrambeno-biotehnološki fakultet.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144-58.
- Stanković, D. (1982) *Ribizla, ogrozd, borovnica i kupina*, Nolit, Beograd.
- Szajdek, A., Borowska, E. J. (2008) Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits. *Plant Foods and Human Nutrition.* **63**, 147-156.
- USDA (2018) National nutrient database for standard reference legacy release. United States Department of agriculture, USA. < <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>>. Pristupljeno: 25. lipnja 2019.
- Vinčić, M. (2017) *Antioksidativna, antiproliferativna i antimikrobna aktivnost odabranih ekstrakata tropova bobičastog voća*. Doktorska disertacija. Novi Sad: Sveučilište u Novom Sadu.
- Volčević, B. (2008) *Jagodičasto voće*, Neron d.o.o, Bjelovar.
- Waterhouse, A. L. (2002) Determination of total phenolics. U: Current protocols in food analytical chemistry, (Wrolstad, R. E., ured.). John Wiley and Sons Inc., New York, USA, str. I 1.1.1- I 1.1.8.
- Weinges, K., Piretti, M. V. (1971) Isolation of procyanidin B1 from grapes. *Justus. Liebig Ann. Chem.* **748**, 218-224.
- Žižek, I. (2009) Uzgoj borovnice. *Glasnik zaštite bilja.* **6**, 30-37.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Ime i prezime studenta