

# Obogaćivanje prirodnih sokova jabuke i naranče proteinima izoliranim iz industrijske konoplje

---

Prusac, Mirta

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-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:486199>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-08**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2019

Mirta Prusac

1049/N

**OBOGAĆIVANJE PRIRODNIH  
SOKOVA JABUKE I NARANČE  
PROTEINIMA IZOLIRANIM IZ  
INDUSTRIJSKE KONOPLJE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju Zavoda za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr.sc. Davora Valingera.

Ovim putem želim se zahvaliti svome mentoru doc. dr. sc. Davoru Valingeru i čitavom Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na velikoj pomoći, stručnim savjetima i prijateljskom pristupu tijekom izrade ovog diplomskog rada te kolegici Tamari Vulić za suradnju tijekom provedbe eksperimentalnog dijela. Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na bezgraničnoj podršci i povjerenju tijekom svih godina studiranja.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Laboratorij za mjerenja, regulaciju i automatizaciju  
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam

### OBOGAĆIVANJE PRIRODNIH SOKOVA JABUKE I NARANČE PROTEINIMA IZOLIRANIM IZ INDUSTRIJSKE KONOPLJE

*Mirta Prusac, 1049/N*

**Sažetak:** Industrijska konoplja, *Cannabis sativa L.*, jedna je od prvih kultiviranih biljnih vrsta koja se već tisućljećima koristi kao visoko vrijedna sirovina u tekstilnoj industriji. S vremenom se fokus prebacio na nutritivno bogatstvo konoplje pa se tako ona počela sve više koristiti u medicinske, prehrambene i farmaceutske svrhe. Cilj ovog rada bio je obogatiti prirodno cjeđene sokove jabuke i naranče proteinima izoliranim iz industrijske konoplje kako bi se na taj način povećala njihova nutritivna vrijednost. U radu su se izravnim metodama pratile promjene električne vodljivosti, ukupno otopljenih čvrstih tvari, pH i boje u ovisnosti o volumnom udjelu pojedinog soka te o količini dodanih proteina. Istraživanja su se provodila na uzorcima filtriranih i nefiltriranih sokova. Osim izravnog mjerenje navedenih fizikalnih svojstava, korištena je i blisko-infracrvena (NIR) spektroskopija. Za obradu podataka dobivenih NIR spektroskopijom, korištena je analiza glavnih komponenti (PCA analiza). Na temelju PCA analize, upotrebom umjetnih neuronskih mreža predviđao se volumni udio sokova, količina dodanih proteina te spomenuta fizikalna svojstva u uzorcima. Rezultati dobiveni korištenjem PCA analize i umjetnih neuronskih mreža, pokazali su se pouzdaniji od ranije spomenutih izravnih metoda kod svih uzoraka. Na svim uzorcima provedena je i senzorska analiza kojom su ispitivana organoleptička svojstva sokova. Kao najprihvaćeniji uzorak pokazao se onaj bez dodatka proteina konoplje u kojemu je izmješanost sokova naranča:jabuka bio 75:25.

**Ključne riječi:** prirodni sokovi, industrijska konoplja, blisko-infracrvena spektroskopija, analiza glavnih komponenti, umjetne neuronske mreže,

**Rad sadrži:** 54 stranice, 24 slike, 13 tablica, 88 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** doc. dr. sc. Davor Valinger

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

- 1) Prof.dr.sc Jasenka Gajdoš Kljusurić (predsjednik)
- 2) Doc.dr.sc Davor Valinger (mentor)
- 3) Doc.dr.sc. Maja Benković (član)
- 4) Doc.dr.sc. Danijela Bursać Kovačević (zamjena)

**Datum obrane:**

17. 07. 2019.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Process Engineering Laboratory for Measurements, Regulation and Automatization

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

### ENRICHING NATURAL APPLE AND ORANGE JUICE INDUSTRIAL HEMP PREOTEIN ISOLATE

*Mirta Prusac, 1049/N*

**Abstract:** Industrial hemp, *Cannabis sativa L.*, is one of the first cultivated plant species that has been used for many centuries as a high-value raw material in textile industry. Over time, the focus shifted to the nutritional richness of hemp so it became increasingly used for medical, nutritional and pharmaceutical purposes. The aim of this paper was to enrich the naturally squeezed apple and orange juice with proteins isolated from industrial hemp in order to increase their nutritional value. Depending on the volume of the individual juice and the amount of added protein, changes in electrical conductivity, total dissolved solids, pH and color were monitored directly. Studies were carried out on samples of filtered and unfiltered juices. Except direct measurement of those physical properties, near-infrared (NIR) spectroscopy was also used. The main component analysis (PCA analysis) was used for processing data obtained by NIR spectroscopy. Based on the PCA analysis, artificial neural networks were used to predicted the volume of juices, the amount of added protein and the physical properties mentioned in the samples. Results obtained using PCA analysis and artificial neural networks have been shown to be more reliable than mentioned direct method in all samples. Sensory analysis of organoleptic properties of juices was also performed on all samples. The most preferred sample was the one without the addition of hemp proteins in which orange:apple ratio was 75:25.

**Keywords:** natural juices, hemp, near infrared spectroscopy, principal component analysis, artificial neural networks,

**Thesis contains:** 54 pages, 24 figures, 13 tables, 88 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited:** In the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** PhD. Davor Valinger, Assistant professor

**Reviewers:**

- 1) Prof.dr.sc Jasenka Gajdoš Kljusurić (president)
- 2) Doc.dr.sc Davor Valinger (mentor)
- 3) Doc.dr.sc. Maja Benković (member)
- 4) Doc.dr.sc. Danijela Bursać Kovačević (substitute)

**Thesis defended:**

July, 2019

## SADRŽAJ

<b>1.UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. Jabuka ( <i>Malus domestica</i> ).....	2
2.1.1. Osnovne značajke jabuke .....	2
2.1.2. Kemijski sastav jabuke .....	3
2.1.3. Osnovne značajke sorte „Granny Smith“ .....	4
2.2. Naranča ( <i>Citrus sinensis L.</i> ).....	5
2.2.1. Osnovne značajke naranče.....	5
2.2.2. Kemijski sastav naranče .....	6
2.2.3. Osnovne značajke “Navel” naranče .....	7
2.3. Konoplja ( <i>Cannabis sativa L.</i> ) .....	8
2.3.1. Osnovne značajke konoplje .....	8
2.3.2. Zdrastvene koristi kanabionida .....	10
2.3.3. Proteini konoplje .....	11
2.4. Mjerne metode i analize .....	12
2.4.1. pH vrijednost.....	12
2.4.2. Električna vodljivost i TDS .....	13
2.4.3. NIR spektroskopija.....	13
2.4.4. Kolorimetrijsko mjerenje.....	14
2.4.5. Kemometrija-Analiza glavnih komponenata.....	15
2.4.6. Umjetne neuronske mreže (ANN - artificial neural networks).....	15
2.4.7. Senzorska procjena.....	16
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	17
3.1. Materijali .....	17
3.1.1. Uzorci .....	17
3.1.2. Laboratorijski pribor.....	17
3.1.3. Uređaji i software .....	17
3.1.4. Priprema uzoraka.....	18
3.2. Metode .....	19
3.2.1. Određivanje fizikalnih svojstava.....	19
3.2.2. NIR-spektroskopija .....	20



3.2.3. Kemometrija – Analiza glavnih komponenti.....	20
3.2.4. Umjetne neuronske mreže .....	20
3.2.5. Kolorimetrijsko mjerenje.....	21
3.2.6. Senzorska procjena.....	21
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>22</b>
4.1. Fizikalna svojstva- električna vodljivost, TDS i pH.....	22
4.2. Kolorimetrijska analiza .....	28
4.3. Umjetne neuronske mreže.....	32
4.4. Senzorska analiza.....	36
<b>4. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>45</b>
<b>5. LITERATURA .....</b>	<b>46</b>



## 1. UVOD

Globalna pomama za zdravijim načinom života izazvana velikim brojem pretilih, oboljelih pa i umrlih osoba diljem svijeta, izazvala je sve veće zanimanje za dodatno obogaćivanje hrane koja je, nažalost, s vremenom postala poprilično nekvalitetna i siromašna.

Obogaćivanje hrane regularan je i legitiman način na koji hrani možemo povećati nutritivnu vrijednost nakon čega takva hrana može nositi naziv funkcionalna hrana. Hrani se mogu dodavati tvari koje su u njoj prirodno prisutne, ali su se tijekom prerade izgubile, ili tvari koje se prirodno ne nalaze u određenoj namirnici. Dodatak tih tvari može imati višestruke pozitivne utjecaje na cjeloukupnu populaciju.

Prirodni, cijedjeni sokovi već godinama zauzimaju vrlo visoko mjesto na popisu najčešće konzumiranih napitaka, ne samo zahvaljujući ukusnim aromama, nego i bogatim nutritivnim sastavom (visok sadržaj vitamina, antioksidansa, vlakana...). Zbog toga su cijedjeni sokovi prepoznati kao odlično sredstvo putem kojeg organizam možemo namiriti i drugim tvarima kojima je standardna prehrana inače siromašna.

Konoplja je biljka koja se već stoljećima koristi u industrijske, medicinske, farmaceutske i prehrambene svrhe, a u posljednjih nekoliko desetljeća njena upotreba ponovno je doživjela svoj procvat. Konoplja se sve više počela prerađivati i upotrebljavati u mnogim oblicima (brašno, ekstrakt, ulje, proteini) te je globalno porasla svjesnost o njenim dobrobitima za ljudski organizam. Proteini konoplje visoko su kvalitetni, lako se probavljaju i sadrže nutritivno značajne količine svih esencijalnih aminokiselina. Navedene karakteristike navele su mnoge znanstvenike na ideju inkorporacije ovih visokovrijednih proteina u druge proizvode kako bi se na taj način povećao unos esencijalnih aminokiselina koje nedostaju u našoj prehrani, a to je bio cilj i ovoga rada.

U ovom radu prećene su fizikalne promjene (električna vodljivost, TDS, pH) i boju obogaćenih sokova jabuke i naranče u ovisnosti o volumnom udjelu pojedinog soka te o količini dodanih proteina konoplja. Osim toga, koristeći blisko-infracrvenu spektroskopiju i umjetne neuronske mreže, ispitane su mogućnosti predviđanja navedenih svojstava i udjela. Na samom kraju istraživanja provedena je i senzorska analiza svih uzoraka u svrhu određivanja opće prihvaćenosti pojedinog uzorka kod krajnjeg konzumenta.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. JABUKA (*Malus domestica*)

#### 2.1.1. Osnovne značajke jabuke

Jabuka (*Malus domestica*) naziv je za višegodišnju biljku iz roda *Malus*, porodice *Rosaceas*, čiji su plodovi od velike važnosti za ljudsku prehranu. Stablo pripada skupni listopadnog drveća, a može narasti i do 12 metara visine (slika 1) (Parker, 2018). Uzgoj jabuka započeo je tijekom antičkog doba u Europi i Aziji, dok u današnje vrijeme voćnjake možemo susresti diljem cijeloga svijeta (Janick, 1974). Razlog tome leži u genetskoj varijabilosti koja je omogućila odabir prilagođenih tipova za različita okruženja. Boja kore jabuke može varirati od žute ili zelene („Granny Smith“ i „Zlatni Delišeš“) do crvene („Crveni Delišeš“), dok su mnoge vrste i višebojne („Gala“, „Braeburn“, „McIntosh“) (Xiaobo i sur., 2007). Osim po boji kore, razlike među vrstama očituju se i u slatkoći tj. kiselosti, sočnosti, hrskavosti, teksturi te obliku ploda (Vaughan i Geissler, 2009). Također, jabuke razlikujemo i po vremenu sazrijevanja pa ih tako dijelimo na rane ili ljetne jabuke, srednje rane ili jesenske jabuke te kasne ili zimske jabuke (Parker, 2008).



**Slika 1.** Stablo jabuke s plodovima (Anonymous, 1)

### 1.1.2. Kemijski sastav jabuke

Jabuke sadrže oko 85 % vode, 12-14 % ugljikohidrata, oko 0,2 % proteina, manje od 0,10 % lipida, minerala i vitamini (tablica 1) (USDA, 2019). Varijacije ovih vrijednosti moguće su zbog razlike u vrsti ploda, područjima uzgoja, zrelosti te agronomskim i okolišnim uvjetima.

**Tablica 1.** Kemijski sastav ploda jabuke, izraženo na 100 g (USDA, 2019)

	<b>JABUKA (100 g)</b>
<b>ENERGIJA (kcal)</b>	52
<b>VODA (%)</b>	85,56
<b>UGLJIKOHIDRATI (%)</b>	13,8
<b>PROTEINI (%)</b>	0,26
<b>MASTI (%)</b>	0,17
<b>VLAKNA (%)</b>	2,4

Oko 80 % ugljikohidrata prisutnih u jabukama otpada na topljive šećere, saharoza (oko 2 %), glukoza (2,4 %) i fruktoza (6,0 %), dok je ukupni sadržaj prehrambenih vlakana oko 2 % (Sinha i sur., 2012). Dobro je poznato da prehrambena vlakna imaju važnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima kao i u prevenciji različitih bolesti. Bolesti uzrokovane nedostatkom prehrambenih vlakana u svakodnevnoj prehrani su: zatvor, hemoroidi, upala slijepog crijeva, divertikuloza, rak debelog crijeva, gojaznost, dijabetes, bolesti srca visoki krvni tlak (Capita, 2003; Dukas, 2003; Eglash, 2006; Whelton, 2005) te karijes.

Jabuke su odličan izvor prirodnih flavonoida koji imaju antioksidativna svojstva tj. štite lipide, proteine, DNA i druge biomolekule u našem tijelu od oksidativnog stresa. U prosjeku, 46 % polifenolnih spojeva koncentrirano je u kori jabuke (Vrhovsek i sur., 2004).

Također, prisutne su i druge fitokemikalije kao što su hidroksicinamične kiseline, dihidrokalkoni, katehini i oligomerni procijanidini, triterpenoidi (u kori jabuke) i antocijanini (u crvenim jabukama). Pokazalo se da ovi sekundarni biljni metaboliti svojim antioksidacijskim svojstvima smanjuju rizik od pojave degenerativnih i kroničnih bolesti koje su inducirane slobodnim radikalima (Sinha i sur., 2012). Gerhauser (2008) je u svome radu istraživao djelovanje jabuke na prevenciju karcinoma te je dokazao da redovita konzumacija jedne ili više jabuka dnevno može umanjiti rizik od pojave raka pluća i debelog crijeva.

### 1.1.3 Osnovne značajake sorte „Granny Smith“

„Granny Smith“ sorta slučajno je otkrivena 1868. godine u Australiji, a danas je svakako jedna od najprepoznatljivijih sorti (Anonymous, 2). Takav status ponajviše možemo prepisati njenoj višenamjenskoj upotrebi što znači da su jabuke ove sorte jednako dobre za kuhanje i preradu kao i za konzumaciju u svježem stanju. Najčešće se koriste za dobivanje svježih ili koncentriranih sokova te u pripremi raznih slastica.

Smatra se da je stablo hibrid *Malus sylvestris*, europske divlje jabuke, i Sjevernoameričke jabuke *Malus pumila* (Anonymous, 2). Svrstavamo ju u kasne ili zimske sorte što znači da dozrijeva od druge polovice mjeseca listopada do početka studenog (Sinha i sur., 2012).

Karakteristike ove sorte su glatka kora izrazito zelene boje, izražena hrskavost, tvrdoća i sočnost mesa, naglašena kiselost i oštar okus te pravilan, okrugli oblik (slika 2) (Abbot i sur., 2004). Skladištenjem boja prelazi u svjetlije zelenu do žute, a okus poprima slađu notu (Schrool i Holt, 1977).



**Slika 2.** Prikaz vanjskog izgleda i presjeka jabuke „Granny Smith“ (Anonymous, 2)

Jednako kao i ostalim sortama jabuka, i sorti „Granny Smith“ se pripisuje velika antioksidativna aktivnost koja potiče od visoke koncentracije polifenolnih spojeva, a od drugih sorti je izdvaja visoka otpornost prema oksidaciji tj. duže zadržavanje boje nakon rezanja ploda (Wolfe i sur., 2003).

## 2.2. NARANČA (*Citrus sinensis* L.)

### 2.2.1. Osnovne značajke naranče

Naranča je zimzeleno stablo iz porodice rutvica (*Rutaceae*) koja obuhvaća različite vrste roda *Citrus*. Iako rod *Citrus* obuhvaća nekoliko vrsti naranče - kisele naranče (*Citrus aurantium*), bergamot naranče (*Citrus bergamia* Risso), gorke naranče (*Citrus trifoliata*) i mnoge druge, naziv naranča uglavnom se odnosi na slatku naranču (*Citrus sinensis*) (Peterson i sur., 2006). *Citrus sinensis* sastoji se od 4 podvrste naranči: *Common*, *Navel*, *Valencia* i *Blood*. Vjeruje se da citrusi potiču iz jugoistočne Azije, a uzgoj ove voćne kulture započeo je prije najmanje 4000 godina. Genetsko podrijetlo slatke naranče nije jasno definirano, iako postoje spekulacije da bi slatka naranča mogla biti dobivena križanjem primitivnih vrsta citrusa (mandarine i grejpa) (Xu i sur., 2013).

Europa je slatku naranču upoznala tek u 15. stoljeću kada su ju trgovci donjeli brodovima u Italiju, Španjolsku, Portugal i Francusku (Anonymous, 3).

Stablo naranče može narasti između 9 i 10 m, ali postoje i određene vrste koje mogu narasti i do 15 m. Listovi su zeleni, veličine 4-10 cm, a cvjetovi su bijele boje i zvjezdastog oblika (slika 3) (Biggs i sur., 2005).



**Slika 3.** Stablo naranče s plodovima (Anonymous, 4

### 2.2.2. Kemijski sastav naranče

Prema podacima Ministarstva poljoprivrede SAD-a 100 g naranče sadržava približno 86 % vode, 12,54 % ugljikohidrata, 0,91 % proteina, 0,15 % masti te 2,2 % prehrambenih vlakana (tablica 2.) (USDA, 2019). S obzirom na to da 100 g očišćene naranče našem tijelu osigurava samo 56 kcal, naranča se često konzumira u procesu gubitka nepoželjnih kilograma.

**Tablica 2.** Kemijski sastav ploda naranče, izraženo na 100 g (USDA, 2019)

	<b>NARANČA (100 g)</b>
<b>ENERGIJA (kcal)</b>	56
<b>VODA (%)</b>	85,97
<b>UGLJIKOHIDRATI (%)</b>	12,54
<b>PROTEINI (%)</b>	0,91
<b>MASTI (%)</b>	0,15
<b>VLAKNA (%)</b>	2,2

Važnost naranče u ljudskoj prehrani leži u visokom sadržaju biološki aktivnih komponenata koje možemo detektirati u zrelim plodovima. Pokazalo se da fenolni spojevi, osobito flavonoidi, posjeduju važnu antioksidacijsku aktivnost (Bors i sur., 1990). Glavni flavonoidi pronađeni u citrusnim vrstama su hesperidin, narirutin, naringin i eriocitrin (Mouly i sur., 1994; Schieber i sur., 2001).

Osim antioksidacijskog, flavonoidi se odlikuju i velikim brojem drugih bioloških učinaka poput antibakterijskog, protuupalnog, antialergijskog i antitrombotičnog djelovanja (Cotelle i sur., 1996; Elangovan i sur., 1994; Stavric, 1993). Epidemiološka istraživanja upućuju i na njihovu potencijalnu ulogu u prevenciji koronarnih oboljenja i nastanka tumora (Di Majo i sur., 2005). Neki od flavonoida imaju protuupalno i antihistaminsko djelovanje. To znači da spriječavaju otpuštanje histamina i na taj način pomažu u redukciji alergijskih odgovora (Tripoli i sur., 2007). Zbog svog antioksidacijskog djelovanja pridonose zaštiti kardiovaskularnog sustava i ostalih tkiva (Toh i sur., 2013).



### 2.2.3. Osnovne značajke “Navel” naranče

“Navel“ naranče svoje su ime dobile prema prepoznatljivom donjem dijelu ploda koji nalikuje na ljudski pupak. Naranče ove sorte sazrijevaju najranije od drugih sorti, a plodovi su sferičnog oblika i bez sjemena. Kora je tamno narančaste boje, a okus je bogat, sladak i ugodan. Kultivari “navel“ sorte predstavljaju značajan udio u proizvodnja citrusa u Australiji, Argentini, Kaliforniji, Maroku, Španjolskoj, Južnoj Africi, Turskoj i Urugvaju (Agusti i sur., 2014).

“Navel” naranče prvenstveno se uzgajaju za svježiu upotrebu budući da je njihova uporaba u industriji ograničena (dobivaju se manje količine soka te se u soku razvija gorki okus zbog spoja limonina) (Zhang i sur., 2018).

Najvažnije vrste ove sorte su:

**Navelina:** izvorno je iz Kalifornije, a u Španjolsku je stigla tek 1933. godine, kada ga je Sveučilište Kalifornije dostavilo Valencianskom institutu za agrarna istraživanja, IVIA, gdje je dobio ime "Navelina" (slika 4).

**Washington Navel:** podrijetlo je nepoznato, iako se smatra da je nastala u Brazilu mutacijama.

**Newhall:** mutacija "Washington navel", izvorno iz Kalifornije. Karakteristike stabla i plodova jednake su onima vrste "Navelina". Razlika je jedino u razdoblju sazrijevanja koje se kod “Newhall“ vrste događa malo ranije.

**Navelate:** izvorno iz Španjolske, mutacija "Washingtona".

**Lane late:** izvorno iz Australije, porijeklo je mutacija sorte Washington Navel (Agusti i sur., 2014).



**Slika 4.** Prikaz vanjskog izgleda i presjeka naranče “Navelina” (Anonymous, 5)

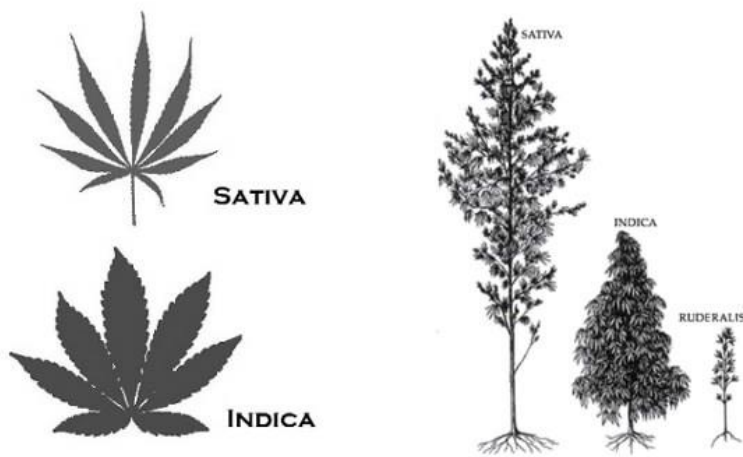
## 2.3. KONOPLJA (*Cannabis sativa* L.)

### 2.3.1. Osnovne značajke konoplje

Jedna od prvih uzgajanih biljnih vrsta, *Cannabis sativa* L. (marihuana, konoplja,) tisućljećima se koristi u prehrani (kao izvor vlakana, ulja, visokovrijednih proteina), u medicini (sadrži mnoge biološki aktivne komponente) te u tekstilnoj industriji (proizvodnju tkanine, konopa...) (Russo i sur., 2008; Skoglund i sur., 2013).

Konopljna vlakna korištena su za proizvodnju tekstila u Kini više od 6000 godina pr. Kr. (Li, 1973). Arheološki dokazi o ljekovitoj ili šamanskoj uporabi kanabisa pronađeni su u 2700 godina staroj grobnici u sjeverozapadnoj Kini te u judejskoj grobnici iz 1700. godine pr. Kr. (Russo, 2008; Zias, 1993). Ovi dokazi upućuju na to da konoplja potječe iz Središnje Azije odakle se uzgoj proširio na ostale dijelove Azije, Europu pa i cijeli svijet (Schultes i sur., 1974). Osim u medicinske, tehnološke, farmaceutske i prehrambene svrhe, konoplja se svrstava i među lake droge zbog svojih psihoaktivnih svojstava pa su tako trenutno kanabis i njegovi derivati poput hašiša najčešće konzumirane droge na svijetu (UNODC, 2018).

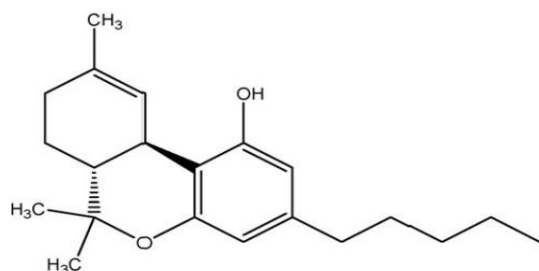
Konoplja je jednogodišnja, dvodomna i zeljasta biljka iako postoje jednodomne vrste. Divlji i kultivirani oblici konoplje morfološki su varijabilni, što rezultira konfuzijom i kontroverzama oko taksonomske organizacije roda (Hilling, 2005). Neki autori su predložili monotipski rod *C. sativa*, drugi su tvrdili da se kanabis sastoji od dvije vrste, *Cannabis sativa* i *Cannabis indica*, a neki su u rod uključivali i treću vrstu, *Cannabis ruderalis*. U svjetlu taksonomske nesigurnosti danas koristimo *Cannabis sativa* za naziv jedine vrste roda *Cannabis* koja se sastoji od tri podvrste *Cannabis sativa. sativa*, *Cannabis sativa subsp. indica* (Lam.) E. Small & A. Cronquist i *Cannabis sativa var. ruderalis* (Janisch.) S.Z. Liou (Andre i sur., 2016) (slika 5).



**Slika 5.** Prikaz podvrsti *Cannabis sativa* L.: *C. sativa sativa*, *C. sativa indica* i *C. sativa ruderalis* (Anonymous, 6)

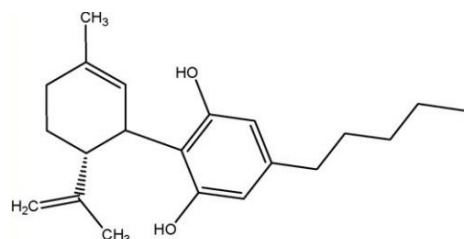
Jedinstvena farmakološka svojstva konoplje posljedica su prisutnosti kanabinoida, skupine koja sadrži više od 100 prirodnih spojeva koji se akumuliraju uglavnom u ženskim cvjetovima (Elsohly, 2005; Mehmetić i sur., 2010).  $\Delta$ 9-tetrahidrokanabinol (THC) (slika 6) glavni je psihoaktivni kanabinoid tj. spoj koji je odgovoran za analgetičko, antiemetičko te apetit-stimulirajuće djelovanje kanabisa (Gaoni, 1964). Osim psihoaktivnih kanabinoida, u različitim sortama možemo pronaći i različite koncentracije nepsihoaktivnih kanabinoida kao što su kanabidiol (CBD) (slika 7), kanabikromen (CBC) (slika 8) i  $\Delta$ 9-tetrahidrokanabivarin (THCV), koji posjeduju različite farmakološke aktivnosti (Van Bakel, 2011). Generalno možemo reći da koncentracija ovih spojeva ovisi o tipu tkiva, dobi, raznolikosti, uvjetima rasta (prehrana, vlažnost, razina svjetlosti), vremenu žetve te uvjetima skladištenja (Khan i sur., 2014). Sadržaj i sastav kanabinoida vrlo je različit među biljkama kanabisa. One biljke u kojima je omjer THC/CBD veći od 1 nazivaju se marihuana i koriste se u medicinske svrhe, dok one u kojima je omjer THC/CBD manji od 1 nazivaju se konoplja i koriste se u ostale svrhe. Ovakvu podjelu kemotipova prvi su razlučili Fetterman i suradnici (1971). Postoje velike razlike u malim promjenama koncentracije kanabinoida unutar tih osnovnih kemotipova.

Uzgoj kanabisa za upotrebu u medicinske svrhe, kao i poboljšane prakse uzgoja, dovelo je do povećane potentnosti u posljednjih nekoliko desetljeća s prosječnim razinama THC u suhim ženskim cvjetovima od cca. 11 % suhe težine; razine u nekim biljkama premašuju i 23 % (Mehmedić, 2008; Potter, 2008).



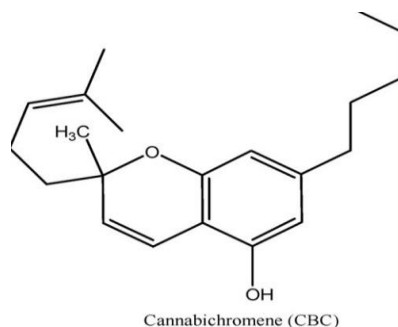
$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC)

**Slika 6.** Strukturni prikaz spoja  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol (Izzo i sur., 2009)



Cannabidiol (CBD)

**Slika 7.** Strukturni prikaz spoja kanabidiol (Izzo i sur., 2009)



Cannabichromene (CBC)

**Slika 8.** Strukturni prikaz spoja kanabikromen (Izzo i sur., 2009)

### 2.3.2. Zdravstvene koristi kanabionida

Većina bioloških svojstava povezanih s kanabinoidima posljedica su njihove interakcije s endokanabinoidnim sustavom u ljudi. Endokanabinoidni sustav uključuje dva kanabinoidna receptora s G proteinom, CB1 i CB2, kao i dva endogena liganda, anandamid i 2-arahidonilglicerol. Smatra se da endokanabinoidi moduliraju ili igraju važnu ulogu u regulaciji različitih fizioloških procesa, uključujući apetit, osjet boli, raspoloženje, pamćenje, upale, osjetljivost na inzulin te metabolizam masnoća i energije (De Petrocellis i sur., 2011; Di Marzo i Piscitelli, 2015). THC je djelomični agonist i CB1 i CB2 receptora, ali ima veći afinitet za CB1 receptor koji posreduje u njegovim psihoaktivnim svojstvima. Osim što su prisutni u središnjem

živčanom sustavu i cijelom mozgu, CB1 receptori također su pronađeni u tkivu imunoloških, gastrointestinalnih, reproduktivnih, nadbubrežnih, srčanih i plućnih stanica gdje također mogu vršiti svoje aktivnosti. Smatra se da CB2 receptori imaju imunomodulatorne učinke te da reguliraju aktivnost citokina. Osim na CB1 i CB2 receptore, THC-u se pripisuje i snažno protuupalno, antikancerogeno i analgetsko djelovanje. Također, djeluje i na opuštanje mišića te ima antioksidativni potencijal (De Petrocellis i sur., 2011). Međutim, prekomjerna izloženost THC-u može rezultirati pojavom niza nuspojava poput anksioznosti, kolinergičkog deficita te imunosupresije (Russo, 2011).

Drugi najzastupljeniji kanabinoid u kanabisu je CBD čije je djelovanje dugi niz godina bilo umanjeno, no 2015. Burstein je dokazao suprotno. CBD djeluje kao važan spoj koji može umanjiti nuspojave THC-a (Englund i sur., 2012), a time i povećati sigurnost ekstrakta na bazi kanabisa. Sam CBD u *in vitro* istraživanjima i studijama na životinjama pokazao je i antipsihotična, protuupalna i imunomodulatorna svojstva te pozitivno djelovanje na smanjenje anksioznosti i mučnine (Burstein, 2015). CBD je vrlo perspektivan kanabinoid jer je pokazao potencijal kao terapijsko sredstvo i u predkliničkim modelima bolesti središnjeg živčanog sustava kao što su epilepsija, neurodegenerativne bolesti, shizofrenija, multipla skleroza, afektivni poremećaji i središnja modulacija hranidbenog ponašanja (Hill i sur., 2012). Zanimljivo je da CBD ima i jaka antifungalna i antibakterijska svojstva, a još zanimljivije je djelovanje protiv *Staphylococcus aureus* otpornog na meticilin (MRSA) (Appendino i sur., 2008).

Nakon THC-a i CBD-a, CBC je treći najzastupljeniji kanabinoid. CBC ima izrazito protuupalno, antibakterijsko i antifungalno djelovanje te djeluje kao sedativ i analgetik (Eisohly i sur., 1982; Delong i sur., 2010).

### 2.3.3. Proteini konoplje

Sjeme konoplje, nusproizvod dobiven tijekom komercijalne upotrebe biljnih vlakana, sadrži preko 30 % ulja i 25 % visokokvalitetnih proteina (Callaway, 2004). Poznato je da brojni čimbenici utječu na prehrambenu kvalitetu biljnih proteina, koja je određena aminokiselinskim sastavom i probavljivošću proteina (Tang i sur., 2009). Na aminokiselinski sastav mogu utjecati sorta tj. genetika, agronomski uvjeti, kao što je plodnost tla, te obrada nakon berbe koja može biti uzrok promjena u omjeru komponenti sjemena. Probavljivost proteina može biti uvjetovana proteinskim

strukturama, prisutnosti antinutritivnih spojeva ili visokom temperaturom (Guo i sur., 2009). Albumin (globularni protein) i edestin (legumin) dva su glavna proteina u konoplji. Oba visoko kvalitetna proteina lako se probavljaju i sadrže nutritivno značajne količine svih esencijalnih aminokiselina. Izravna usporedba aminokiselinskog sastava proteina konoplje i proteina soje pokazuje da su proteini konoplje usporedivi s drugim visokokvalitetnim proteinima (Callaway, 2004). Proteini konoplje imaju visoke količine aminokiselina koje sadrže sumpor, metionin i cistin (Odani & Odani, 1998), uz vrlo visoke razine arginina i glutamina (tablica 3).

**Tablica 3.** Aminokiselinski sastav pojedinih namirnica (Callaway, 2014)

\*prosječni udio proteina u pojedinim namirnicama prikazan je ispod naziva namirnice

AMINOKISELINA	KRUMPIR (2 %)	PŠENICA (14 %)	RIŽA (9 %)	SOJA (32 %)	KONOPLJA (25 %)	BJELANJAK (13 %)	WHEY PROTEINI (13 %)
ALANIN	0,09	0,50	0,56	1,39	1,28	0,83	0,61
ARGININ	0,10	0,61	0,62	2,14	3,10	0,68	0,39
ASPARAGINSKA KISELINA	0,34	0,69	0,86	3,62	2,78	1,23	1,49
CISTEIN	0,02	0,28	0,10	0,54	0,41	0,29	0,17
FENILALANIN	0,08	0,63	0,43	1,78	1,17	0,76	0,49
GLUTAMINSKA KISELINA	0,37	4,00	1,68	5,89	4,57	1,67	2,40
GLICIN	0,10	0,71	0,47	1,29	1,14	0,50	0,29
HISTIDIN	0,03	0,27	0,19	0,76	0,71	0,28	0,29
IZOLEUCIN	0,08	0,53	0,35	1,62	0,98	0,74	0,85
LEUCIN	0,11	0,90	0,71	2,58	1,72	1,08	1,40
LIZIN	0,10	0,37	0,31	1,73	1,03	0,74	1,15
METIONIN	0,02	0,22	0,17	0,53	0,58	0,47	0,23
PROLIN	0,09	1,73	0,40	1,65	1,15	0,50	0,43
SERIN	0,08	0,70	0,48	1,54	1,27	0,92	0,64
TREONIN	0,07	0,42	0,34	1,35	0,88	0,58	1,02
TRIPTOFAN	0,02	0,51	0,09	0,41	0,20	0,20	0,25
TIROZIN	0,06	0,40	0,33	1,14	0,86	0,46	0,47
VALIN	0,10	0,61	0,51	1,60	1,28	0,98	0,91

## 2.4. Mjerne metode i analize

### 2.4.1. pH vrijednost

Kiselost i lužnatost vodenih medija, u kojim se događa većina reakcija u prirodi, ovise (prema Arreniusovoj definiciji kiselina i baza) o koncentraciji oksonijevih ( $H_3O^+$ ) i hidroksilnih ( $OH^-$ ) iona. Čista voda pri 25 °C ima pH vrijednost vrlo blizu 7. Prema tome, vrijednost pH=7 definira neutralni medij, medij s pH<7 su okarakterizirani kao kiseli, dok su oni s pH>7 alkalni (Karastogianni i sur., 2016).

pH je mjerljivi parametar, a elektronski uređaj koji se koristi za mjerenje pH tekućine (ili u posebnim slučajevima polučvrstih spojeva) naziva se pH metar. Najvažnija komponenta tipičnog pH metra njegova je posebna mjerna sonda (staklena elektroda ili, za posebne primjene, ionsko-selektivni tranzistor s efektom polja (ISFET)), koji je spojen na elektronski mjerač koji mjeri i prikazuje pH vrijednosti. Svi pH metri kalibrirani su prema pufernim otopinama poznate aktivnosti vodikovih iona. IUPAC je predložio uporabu skupa pufernih otopina (operativni standardi pH). Gruba procjena pH vrijednosti u laboratorijima može se provesti i pomoću pH indikatora, a ponekad i holografskim pH sensorima, koji omogućuju kolorimetrijsko mjerenje (Karastogianni i sur., 2016). Mjerenje pH sastavni je dio mnogih proces u medicini, biotehnologiji, kemiji, fizici, biologiji, građevinarstvu, šumarstvu te mnogim drugim poljima.

#### 2.4.2 Električna vodljivost i TDS

Vodljivost ili električna vodljivost (EC) i ukupne otopljene krute tvari (TDS-total dissolved solids) često su korišteni parametri kakvoće vode, posebno u obalnom području. Ta dva parametra pokazatelji su razine slanosti (Moujabber, 2006; Stigter, 2006). Koncentracija TDS-a opisuje prisutnost anorganskih soli i male količine organske tvari u vodi, a EC je mjera kapaciteta vode za provođenje električne struje i ovisi o koncentraciji otopljenih iona, ionskoj snazi i temperaturi mjerenja. Budući da je temperaturna ovisnost EC kritična (oko 2 % po 1 °C), mora se ili navesti točna temperatura mjerenja ili se, češće, EC rezultat korigira na standardnu termodinamičku referentnu temperaturu od 25 °C (Walton, 1989). Koncentracija otopljenih iona obično se mjeri kao TDS (Kumar i sur., 2015; Marandi i sur., 2013). Budući da se ukupne otopljene krute tvari (TDS) ne mogu lako izmjeriti, osim u kontroliranim uvjetima u opremljenim laboratorijima, uobičajena alternativna metoda je korištenje jednostavnog očitavanja električne vodljivosti (EC) pomnoženog sa standardnim korekcijskim faktorom (obično 0,7) kako bi dobili traženi TDS rezultat.

#### 2.4.3. NIR spektroskopija

Glavni cilj NIR spektroskopije je ispitati uzorak kako bi dobili kvalitativne i/ili kvantitativne informacije koje nastaju kao posljedica interakcije elektromagnetskih valova u blizini infracrvenog spektra s njegovim sastavnicama. Blisko-infracrvena - NIR (eng. Near infrared) spektroskopija vrsta je vibracijske spektroskopije koja koristi energiju fotona ( $h\nu$ ) u raspon energije od

$2,65 \times 10^{-19}$  do  $7,96 \times 10^{-20}$  J, što odgovara rasponu valnih duljina od 750 do 2500 nm tj. NIR spektar potječe od energije zračenja koja se prenosi na mehaničku energiju povezanu s gibanjem atoma koji se drže zajedno kemijskim vezama u molekuli (Pasquini, 2003). Uspješna primjena NIR tehnologije u analitičkom području ovisi o nizu jednako relevantnih čimbenika. Većina prednosti NIR spektroskopije proizlazi iz mogućnosti korištenja minimalno pripremljenih uzoraka koji su postavljeni izravno na instrument bez prethodne obrade. Također, NIR spektroskopija je gotovo univerzalna (bilo koja molekula koja sadrži CH, NH, SH ili OH veze), brza (manje od jedne minute po uzorku), nedestruktivna, neinvazivna metoda prikladna za linijsku upotrebu, čije zračenje prodire duboko u uzorak. Zbog svega navedenog, nije iznenađujuća činjenica da je NIR spektroskopija pronašla svoje mjesto u mnogim granama industrije, medicini, farmaciji i agronomiji. (Pasquini, 2003).

#### 2.4.4. Kolorimetrijsko mjerenje

Kolorimetrija je znanost o mjerenju boja. To uključuje zamjenu subjektivnih odgovora, kao što su "svijetlo plava", "tamno ljubičasta", "svijetlo zelena", s objektivnim numeričkim sustavom. Znanost se počela formalizirati 1931. godine kada je Međunarodna komisija za zaštitu okoliša (CIE) preporučila sustav specifikacije boja na temelju tri vrijednosti X, Y i Z (Gilchrist i Nobbs). Uređaj koji mjeri tri stimulusne vrijednosti boja na način sličan ljudskom doživljaju boja u pravilu podešenom prema krivulji standardnog promatrača naziva se kolorimetar (Strgar Kurečić, 2014). CIE je 1976. definirala dva psihometrijska nazvana CIELAB (najrašireniji sustav u industriji) i CIELUV (zastario u praksi). CIELAB kolorimetrijski sustav raspoređen je koordinatama  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  gdje  $L^*$  predstavlja akromatsku os koja se pruža vertikalno od vrha do dna. Raspon vrijednosti za  $L^*$  proteže se od 0 (što predstavlja crno) do 100 (što predstavlja bijelo). Kromatske osi  $a^*$  i  $b^*$  nemaju ograničenu brojčanu vrijednost (iako se vrijednosti uglavnom nalaze između +127 do -128), već je pozitivno  $a^*$  predstavlja crveno, a negativno zeleno. Pozitivno  $b^*$  predstavlja žuto, a negativno plavo. U ovom sustavu mogu se mjeriti još dvije veličine  $c^*$  i  $H^*$ .  $C^*$  je intenzitet boje, a  $H^*$  je kut nijanse. Vrijednost  $c^*$  je 0 u središtu za akromatsku boju (sivu) i povećava se prema udaljenosti od centra do 100 za vrlo zasićenu boju. Kut nijansiranja definiran je kao početak od  $+a^*$  osi i izražen je u stupnjevima kako se osvjetljavanje osi rotira u smjeru suprotnom od kazaljke na satu, od  $0^\circ$  (crveno) do  $90^\circ$  (žuto),  $180^\circ$  (zeleno),  $270^\circ$  (plavo) i natrag do  $0^\circ$  (HunterLab, 2008).



#### 2.4.5. Kemometrija-Analiza glavnih komponenata

Kemometrija je kombinacija matematičkih, statističkih i drugih logičkih pristupa koja se koristi za učinkovito upravljanje i tumačenje izvedenih podataka (Haswell, 1992). Analiza glavnih komponenti (PCA) popularna je metoda multivarijatnog modeliranja i analize koja se obično koristi u kemometričkim studijama. PCA daje smanjeni broj varijabli u velikom skupu podataka i definira ograničen broj glavnih komponenti koje opisuju nezavisne strukture varijacija u podacima. Vizualizacija podataka pomoću različitih sustava za ucrtavanje moguća je kada je izmjereno više od tri varijable (Kamal-Eldin, 1997). Stoga, PCA pokazuje odnose među skupinama varijabli u skupu podataka te odnose koji postoje između objekata, a cilj ovog postupka je odrediti nekoliko linearnih kombinacija izvornih varijabli koje se mogu koristiti za sumiranje skupa podataka bez gubitka mnogo informacija (Meglen, 1992). Analiza glavnih komponenti kvantificira interakcije varijabli izračunavanjem matrice korelacija za cijelu bazu podataka. Matrica korelacija se razlaže (faktorizira) u dvije matrice pomoću matematičkog alata za vlastitu analizu. Matrica rezultata i matrica opterećenja osiguravaju način na koji se mogu izvući najbolje, međusobno neovisne osi (dimenzije) koje opisuju skup podataka. Ove osi su tzv. glavne komponente. To su linearne kombinacije izvornih varijabli koje proizlaze iz prirodnih asocijacija među varijablama. Oni ne zahtijevaju od analitičara da iznese bilo kakvu pretpostavku o strukturi podataka/varijabli. Korisnost konstruiranja novog skupa osi za opisivanje podataka jest da se većina ukupne varijance (informacije) u skupu podataka može koncentrirati u nekoliko izvedenih varijabli. To znači da umjesto da prikazujemo podatke o desecima bivarijatnih ploha pripremljenih iz izvornih mjerenja uzorka, možemo izračunati lokaciju ili glavnu sastavnicu svakog od opažanja u novom prostoru podataka (Meglen, 1992).

#### 2.4.6. Umjetne neuronske mreže (ANN - artificial neural networks)

Umjetne neuronske mreže (ANN) su adaptivni, nelinearni sustavi obrade informacija koji kombiniraju brojne procesne jedinice s nizom značajki kao što su samoprilagođavanje, samoorganiziranje i učenje u stvarnom vremenu. ANN se može definirati i kao mreža visoko međusobno povezanih elemenata za obradu (neuroni) koji djeluju paralelno. Ovi elementi su inspirirani biološkim živčanim sustavima (Huang i sur, 2007). Kao i u prirodi, veze između elemenata uvelike određuju mrežnu funkciju. Podgrupa elementa obrade naziva se sloj u mreži.

Prvi sloj je *input*, a posljednji sloj je *output*. Između *input-a* i *output-a* može postojati dodatni sloj/evi koji se nazivaju skriveni sloj/evi. Neuronska mreža može se trenirati za izvršavanje određene funkcije podešavanjem vrijednosti veza (težine) između elemenata. Na temelju načina na koji uče, sve umjetne neuronske mreže mogu biti podjeljene u dvije kategorije: učenje pod nadzorom ili učenje bez nadzora. U nadziranom učenju mreža je obučena tako da dobiva *input-e* i *output-e*. Tijekom ove faze, neuronska mreža može prilagoditi težinu veze tako da se njen *output* podudara sa stvarnim *outputom* u iterativnom procesu dok se ne postigne željeni rezultat. Kod učenja bez nadzora, neuronska mreža je osigurana samo s *input-ima*, bez poznatih odgovora (Amato i sur., 2013). Mreža mora razviti vlastitu reprezentaciju ulaznih podražaja izračunavanjem prihvatljivih težina veze. To je samoorganizacija grupiranjem ulaznih podataka i pronalaženjem obilježja svojstvenih problema.

Prednosti ANN-a uglavnom su predstavljene mrežnom arhitekturom i algoritmima. Cilj algoritma je usvajanje pravila učenja koje određuje pravilo ažuriranja težine (Ding i sur., 2011).

#### 2.4.7. Senzorska procjena

Senzorska procjena definira se kao znanstvena disciplina koja obuhvaća sve metode izazivanja i mjerenja te analizu i tumačenje ljudskih odgovora na svojstva hrane i materijala koja se percipiraju preko svih pet osjetila: okus, miris, dodir, vid i sluh. Specifična osjetila povećanog interesa su okus i miris, posebice njihov odnos s ingestivnim ponašanjem. Tehnike senzorske procjene koriste se umnogim industrijama i pokazale su se ključne u razvoju, proizvodnji i kvaliteti prehrambenih proizvoda, proizvoda za osobnu njegu, predmeta za kućanstvo, tekstila, farmaceutskih proizvoda... (Civillei Oftedal, 2012). Senzorska procjena bavi se ljudskim odgovorom na fizičke podražaje. Senzorski proces može se pojednostaviti na sljedeći način: poticaj (npr. hrana) dolazi u kontakt s osjetilnim organom pri čemu se stvaraju živčani signali koji se šalju u mozak (Danilova i sur., 1999; Diamant i sur., 1965). Mozak tada obrađuje informacije: organizira, analizira i interpretira podržaje (Diamond i sur., 2005) Nakon što je stimulus prepoznat, mozak formulira odgovor. Odgovor može biti objektivna identifikacija percepcije ili subjektivna reakcija na podražaje: prihvatanje ili odbacivanje. Senzorna procjena uzima u obzir sve nevedene vrste odgovora. Fokusira se na objektivno mjerenje senzorskih svojstava proizvoda, na subjektivne odgovore pojedinaca na te na tumačenje odgovora potrošača kroz razumijevanje odgovora na proizvod (Meilgaard i sur. 2007).

## **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Materijali**

#### 3.1.1. Uzorci

- svježe jabuke sorte „Granny Smith“ kupljene u nespecijaliziranoj prodavaonici (KONZUM plus d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- svježe naranče sorte „Navel“ kupljene u nespecijaliziranoj prodavaonici (KONZUM plus d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Eko konopljin proteinski prah kupljen u specijaliziranoj prodavaonici zdrave hrane (NUTRI OIL d.o.o., Velika Gorica, Hrvatska)

#### 3.1.2. Laboratorijski pribor

- Staklene čaše volumena: 200, 600, 800, 1500 ml
- Staklene pipete volumena 1, 5 i 10 ml
- Stakleni lijevak
- Stakleni štapić
- odmjerne tikvice volumena 25, 50 i 100 ml
- Menzure volumena: 10 ml, 1000 ml, 2000 ml
- Celulozni filter papir (LLG Labware, Njemačka)
- Falkonice volumena 50 ml
- Plastične kivete volumena 3 ml za spektroskopiju

#### 3.1.3 Uređaji i software

- Analitička vaga (Sartorius TE214-S0CE, Njemačka)
- Konduktometar (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska)
- Vorteks (BiosanVortex V1 Pus, Latvija)

- NIR-128-1.7-USB/6,25/50 $\mu$ m skenirajući monokromator (Control Development, SAD) s pripadajućim softwareom Spec32 (Control Development, SAD)
- Kolorimetar (PCE-CSM 3, Engleska)
- pH metar (Jenco 601A, SAD)
- Sokovnik (Slow juicer Vivax SJ 150, Hrvatska)
- Statistica 10 (StatSoft, SAD)

#### 3.1.4. Priprema uzoraka

Plodovi jabuke, kupljeni u trgovačkom lancu i doneseni na fakultet, narezani su na krupnije komade pri čemu su uklonjeni nepotrebni dijelovi (peteljka, endokarp i koštice). Tako pripremljeni komadi jabuka obrađivani su u sokovniku (Slow juicer Vivax SJ 150, Hrvatska).

Plodovi naranče, su jednako kao i plodovi jabuke kupljeni u trgovačkom lancu i doneseni na fakultet. Plodovi su ručno oguljeni, narezani na krupnije komade te obrađeni pomoću istog sokovnika.

U staklene čaše od 200 ml pripremljeno je po 100 ml uzorka različitih omjera (tablica 4) soka jabuke i naranče koristeći menzure od 100 ml.

**Tablica 4.** Prikaz volumnog udjela pojedinog soka u pripremljenim uzorcima

UZORAK	UDIO SOKA NARANČE (%)	UDIO SOKA JABUKE (%)
1	100	0
2	75	25
3	50	50
4	25	75
5	0	100

Uzorci s nefiltriranim sokovima odmjeravani su direktno iz pripadajuće posude sokovnika, a filtrirani sokovi su najprije procjeđeni kroz fino sito, a potom su profiltrirani.

Pripremljene su dvije serije po 7 uzoraka. Prva serija uzoraka bili su nefiltrirani sokovi navedne izmještanosti uz dodatak 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 i 3 g proteina konoplje, a drugu seriju činili su uzorci pripremljeni od filtriranih sokova uz dodatak jednakih količina proteina konoplje.

Iz staklenih čaša od 100 ml, staklenom pipetom odmjeravano je po 10 ml uzorka sokova (filtriranih i nefiltriranih) u Falkonice volumena 50 ml. Odvage proteina od 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 3 g rađene su u papirnatij lađici na analitičkoj vagi (Sartorius TE214S0CE, Njemačka). Odvagane količine proteina kvantitativno su prebačene u pripremljene falkonice idućim redom (tablica 5)

**Tablica 5.** Prikaz odvagane mase proteina konoplje u pojedinom uzorku

UZORAK BROJ	1	2	3	4	5	6	7
MASA PROTEINA KONOPLJE/ g	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3

### 3.2. Metode

#### 3.2.1. Određivanje fizikalnih svojstava

Svi uzorci su prije svakog mjerenja homogenizirani upotrebom vorteksa (BiosanVortex V1 Pus, Latvija).

Za svaki uzorak mjerila se električna vodljivost i udio otopljenih čvrstih tvari pomoću konduktometra (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska). Svaki uzorak se mjerio dva puta, a između svakog mjerenja uzorci su ponovno homogenizirani upotrebom vorteksa (BiosanVortex V1 Pus, Latvija). Iz dobivenih podataka izračunavala se srednja vrijednost i standardna devijacija.

Za određivanje pH vrijednosti uzoraka korištena je staklena elektroda spojena na pH metar (Jenco 601A, SAD), koji je prethodno kalibriran koristeći standarde s vrijednostima pH=4 i pH=7.

### 3.2.2. NIR-spektroskopija

Za snimanje uzoraka u rasponu valnih duljina od 904 do 1699 nm korišten je NIR-128-1.7USB/6,25/50 $\mu$ m skenirajući monokromator (Control Development, SAD) s instaliranim pripadajućim softwareom Spec32 (Control Development, SAD). Svaki uzorak je prethodno dobro homogeniziran te je sniman u plastičnoj kiveti od 3 mL. Pripremljene kivete postavljane su na postolje s poklopcem u svrhu sprječavanja utjecaja vanjskog izvora svjetla. Svaki uzorak snimljen je po 5 puta. Podaci su pohranjeni kao .xls datoteke u softveru Microsoft Office Excel te kasnije korišteni za obradu podataka PCA metodom.

### 3.2.3. Kemometrija – Analiza glavnih komponenti

Za obradu podataka sakupljenih upotrebom NIR spektara korištena je kemometrijska metoda analize glavnih komponenti (PCA). Analiza glavnih komponenti koristi se kako bi se iz velikog skupa varijali izdvojile specifične informacije tj. kako bi se veliki skup varijabli smanjio na mali skup koji još uvijek sadrži većinu informacija velikog skupa. Takvo izdvajanje olakšava nam uočavanje sličnosti i razlike među podacima na temelju njihovog međusobnog razdvajanja i grupiranja. Najznačajnije informacije, koje su dobivene kao rezultat mjerenja apsorbancije (u raspona valnih duljina 904-1699 nm), pretvorene su u skup novih ortogonalnih varijabli koje zovemo glavne komponente ili faktori (Abdi i Williams, 2010). Za analizu podataka NIR spektra PCA metodom korišten je software Statistica 10,0 (StatSoft, SAD).

### 3.2.4. Umjetne neuronske mreže

Umjetne neuronske mreže korištene su kako bi se na temelju podataka iz NIR spektra predvidjele vrijednosti vodljivosti, TDS-a, boje, pH, volumnih udjela izmještanosti sokova te koncentracije konoplje u izmješanim sokovima (izlazne varijable). Razvijene su višeslojne perceptronske mreže u softveru Statistica v.10,0 (StatSoft, Tulsa, USA) koje su sadržavale 4–11 neurona u skrivenom sloju. Na temelju PCA analize odabrano je prvih 10 faktora koji su korišteni kao ulazne varijable i koji su bili odgovorni za 76,03 % varijabilnosti u podacima. Vježba umjetne neuronske mreže (ANN) provedena je s odvajanjem podataka u trening, test i validaciju u 4 različita omjera (60:20:20, 50:30:20, 70:20:10 i 70:15:15) od kojih se omjer 70:15:15 pokazao kao najprikladniji.

Izvedba modela ocjenjena je na temelju vrijednosti  $R^2$  i srednjih kvadratnih pogrešaka (RMSE) za treniranje, testiranje i validaciju.

### 3.2.5. Kolorimetrijsko mjerenje

Za kolorimetrijsko mjerenje korišten je kolorimetar PCE-CSM 3, Engleska. Mjerenje se provodilo tako da se dio uzorka prelio u kivetu od 3 ml koja se stavljala u tamnu komoricu, a točno iznad nje se namještao kolorimetar. Svjetlo odgovarajuće valne duljine prolazi kroz uzorak, gdje ga obojeni proizvod djelomično apsorbira, pri čemu je stupanj apsorpcije razmjern koncentraciji izvorne vrste. Uređaj se normalno kalibrira mjerenjem apsorpcije bijele pločice za kalibraciju. Snimanjem dobivamo rezultate koji predstavljaju vrijednost  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  i  $H^*$ . Svaki uzorak se snimao dva puta, a dobiveni rezultati su se bilježili u Microsoft Excel program. Iz njih se kasnije izračunavala srednja vrijednost kao konačni rezultat te standardna devijacija.

### 3.2.6. Senzorska procjena

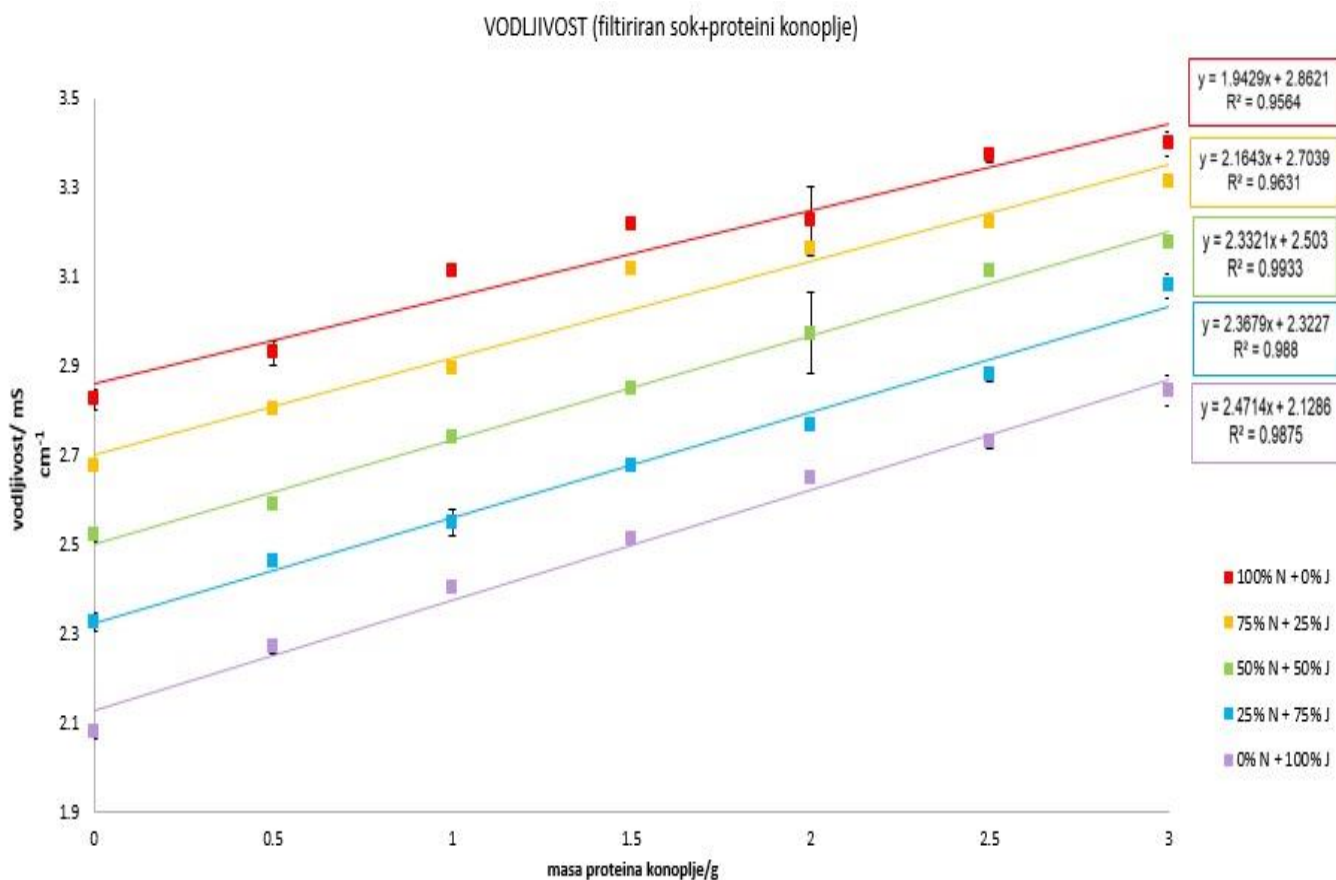
U svrhu određivanja prihvaćenosti pojedinog uzorka kod konzumenta provedeno je i senzorsko ispitivanje. Ispitivanje se provodilo u suradnji s određenim brojem analitičara koji su ocjenjivali svojstva svakog uzorka. Pripremljeno je dvije serije po pet uzoraka. Svaki uzorak je raspodjeljen na još sedam uzoraka u koje su dodavane različite mase proteina konoplje (0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 i 3 g). Prilikom ispitivanja u obzir su se uzimala sljedeća svojstva: boja, miris, okus, gorčina, kiselost i naknadni okus, a za ocjenjivanje se koristila hedonistička skala. Hedonistička skala podrazumijevala je 5 ponuđenih opcija (vrlo poželjno, poželjno, neutralno, nepoželjno, vrlo nepoželjno) među kojima su ispitanici morali izabrati onu koja najbolje opisuje njihov doživljaj uzorka.

Ukupna senzorska ocjena uzorka izračunava se kao srednja vrijednost pojedinih senzorskih svojstava.

## 4. Rezultati i rasprava

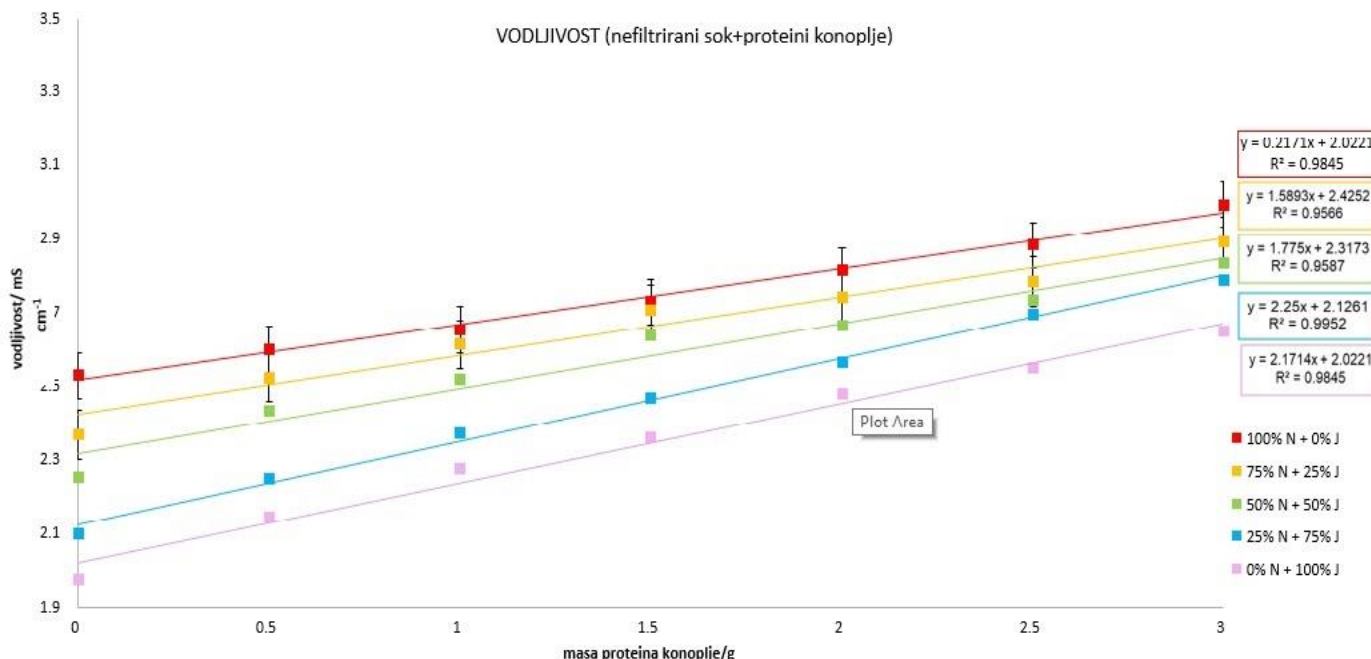
### 4.1. Fizikalna svojstva- električna vodljivost, TDS i pH

Na slikama 9-14 prikazani su rezultati mjerenja električne vodljivosti, koncentracije ukupnih otopljenih čvrstih tvari (TDS) i pH. Mjerenja su provedena na uzorcima filtriranih i nefiltriranih sokova koji su se razlikovali po volumnim udjelima sokova jabuke i naranče te po koncentraciji dodanih proteina konoplje. Volumni udjeli sokova te mase odvađanih proteina konoplje prikazani su u tablicama 4 i 5 u poglavlju 3.1.4 Priprema uzoraka.



Slika 9. Prikaz rezultata mjerenja električne vodljivosti u uzorcima filtriranih sokova





**Slika 10.** Prikaz rezultata mjerenja električne vodljivosti u uzorcima nefiltriranih sokova

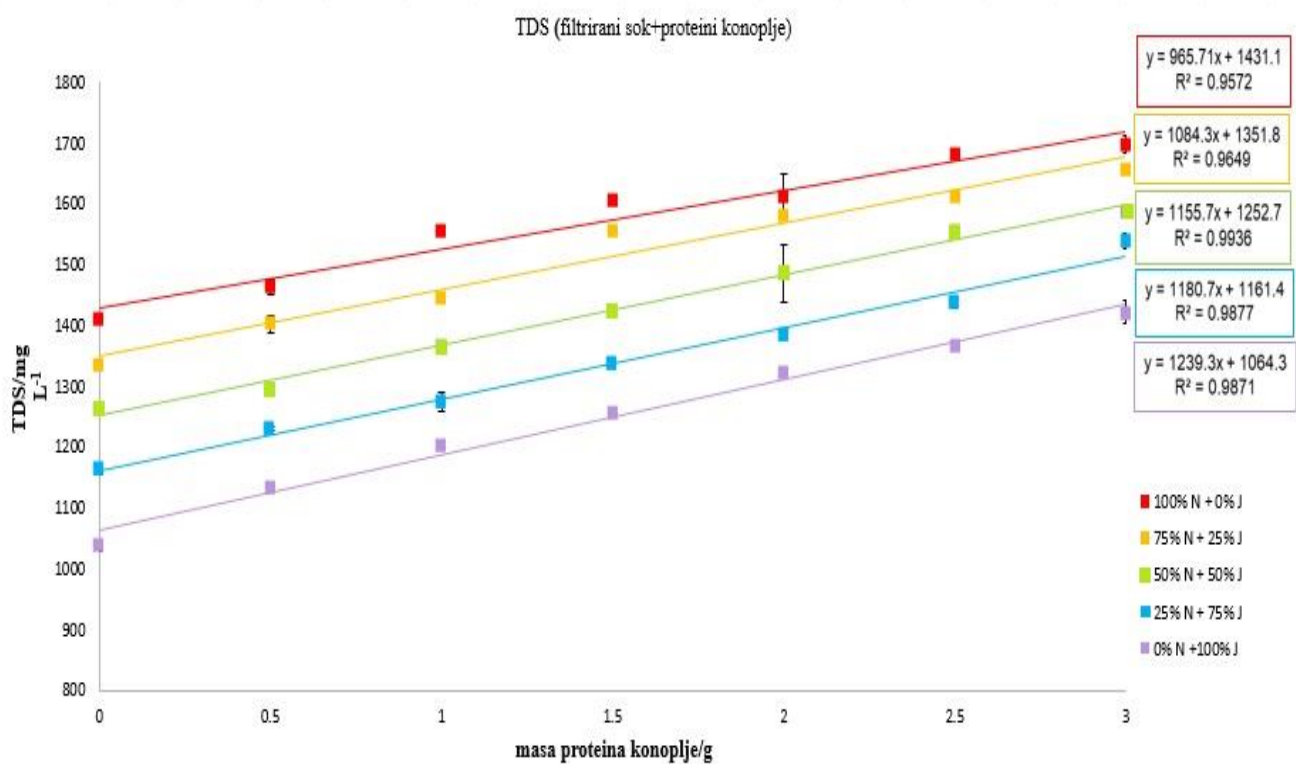
Na slikama 9 i 10 prikazane su izmjerene promjene električne vodljivosti koje su nastupile kao posljedica promjene volumnih udjela sokova jabuke i naranče te različite mase proteina konoplje koje su dodane u pojedine uzroke. Iz priloženih grafova vidljivo je da i filtrirani i nefiltrirani sokovi imaju lineran rastući trend tj. povećanjem udjela soka naranče i količine dodanih proteina konoplje, raste i električna vodljivost. Također, vidljivo je i da nefiltrirani sokovi (slika 10) generalno imaju niže vrijednosti električne vodljivosti od filtriranih (slika 9). Sukladno tome, izmjerena vodljivost bila je najviša u uzorku 100 %-tnog filtriranog soka od naranče u koji je bilo dodano 3 g proteina konoplje ( $3,4 \text{ mS cm}^{-1}$ ). S druge strane, najniža električna vodljivost ( $1,975 \text{ mS cm}^{-1}$ ) izmjerena je u 100 %-tnog nefiltriranog soka od jabuke u koji nisu dodani proteini konoplje.

Prema Ruhlmanu i suradnicima, pri  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  električna vodljivost za kupovni sok od jabuke iznosi  $1,9 \text{ ms cm}^{-1}$ , a za sok od naranče  $3,4 \text{ ms cm}^{-1}$ . Prema tome, možemo zaključiti da se dobiveni rezultati poklapaju s otprije poznatim rezultatima. Do manjih odstupanja moglo je doći zbog različite temperature mjerenja, upotrebe različitih uređaja te zbog samih uzoraka koji ne potječu iz istog geografskog područja.

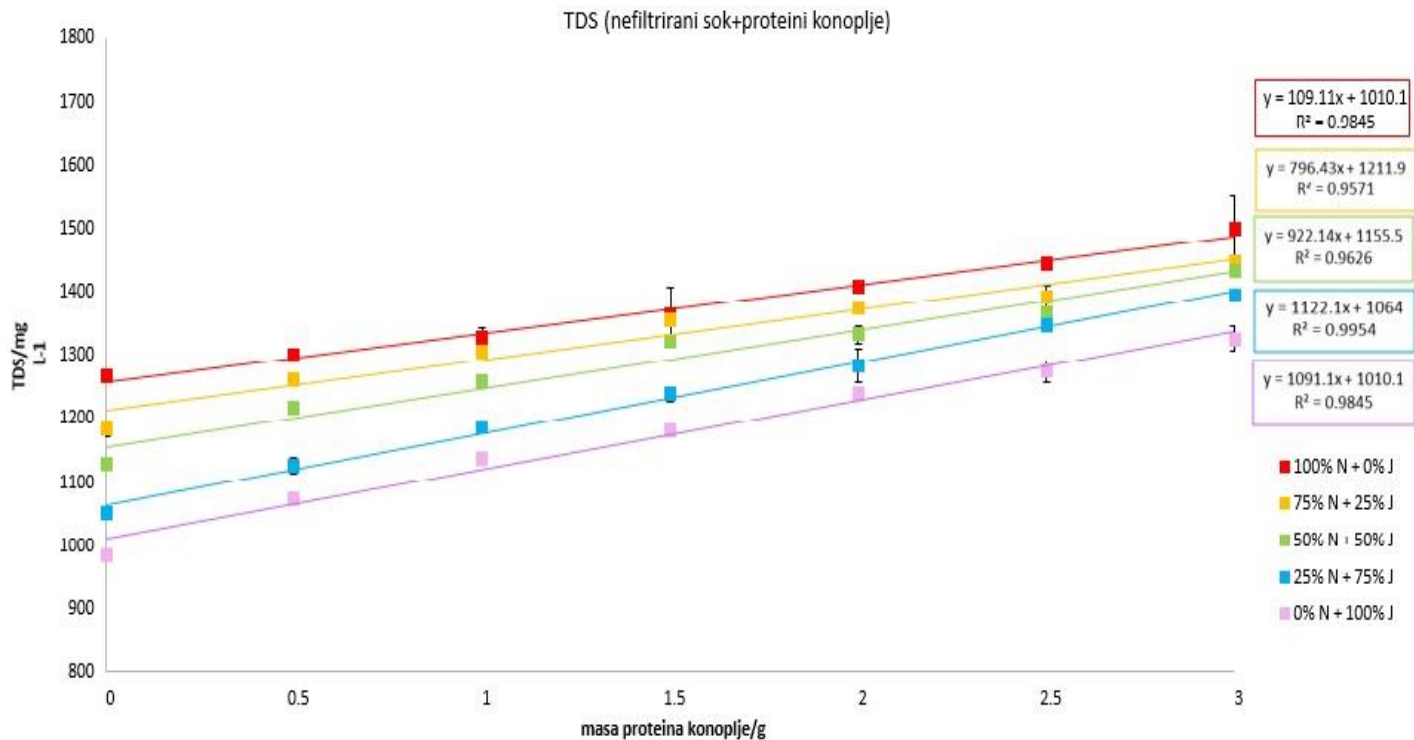
Vrijednosti  $R^2$  trebale su biti što je moguće bliže 1. Dakle, dobar model ili kvantitativni model bi trebao imati vrijednosti  $R^2$  iznad 0,90. Kvantitativni modeli su kompaktni prikazi gdje jedna diferencijala ili diferencijalna jednadžba može opisati performance sustava za veliki skup ulaznih

funkcija i početnih stanja (Lunze, 1998). Vrijednosti između 0,70 i 0,90 ukazuju na to da se modeli mogu smatrati prilično preciznima, a vrijednosti ispod 0,70 ukazuju da se model može kvalitativno razlikovati samo bez mogućnosti korištenja u kvantitativnom predviđanju.

Vrijednosti koeficijenta determinacije ( $R^2$ ) poprilično su visoki u svim izmjerenim uzorcima pa možemo zaključiti da električna vodljivost vrlo dobro prati promjenu volumnog udjela sokova te količinu dodanih proteina konoplje.



**Slika 11.** Prikaz rezultata mjerenja TDS-a u uzorcima filtriranih sokova

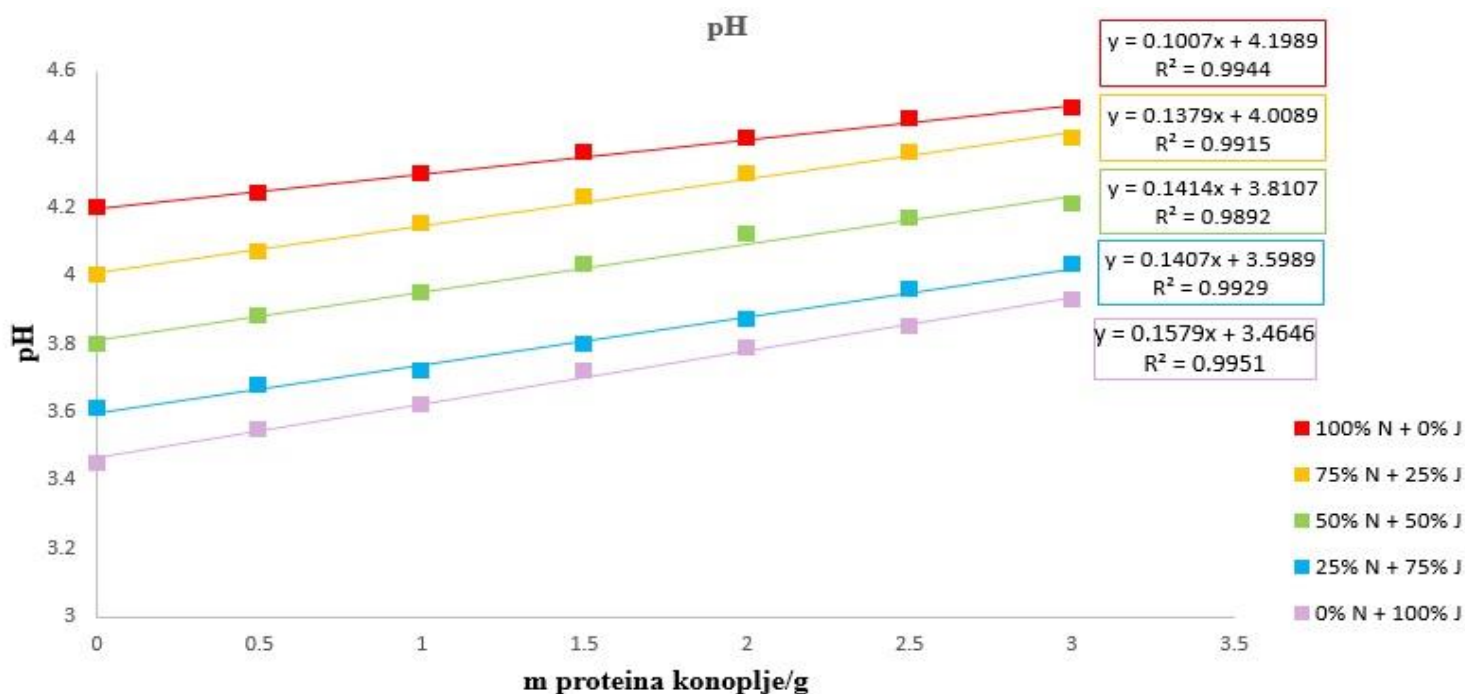


**Slika 12.** Prikaz rezultata mjerenja TDS-a u uzorcima filtriranih sokova

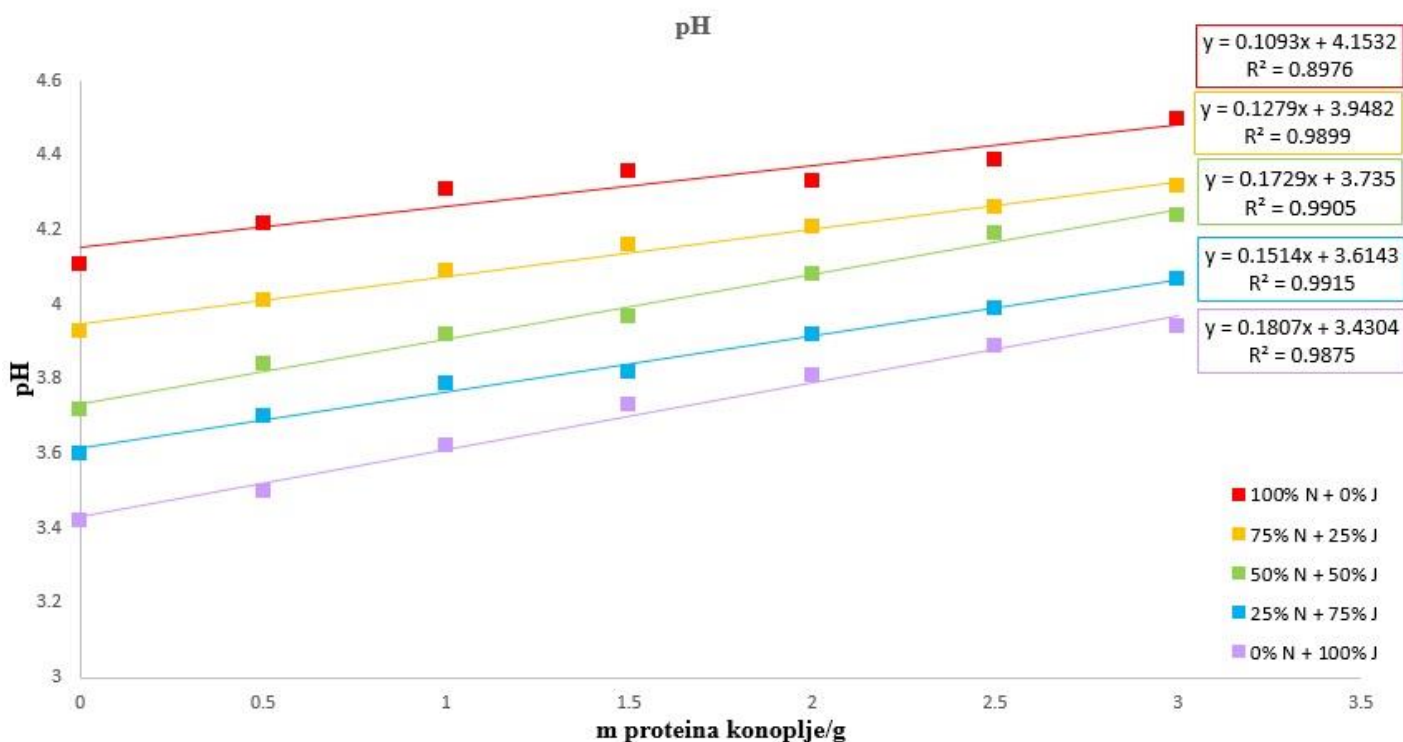
Slično kao i kod vodljivosti, u izmjerenim vrijednostima koncentracije ukupne količine otopljenih tvari možemo primjetiti rastući linearani trend. Nefiltrirani sokovi (slika 12) ponovno imaju niže vrijednosti TDS-a od filtriranih sokova (slika 11). Također, ponovno se ponavlja ista situacija kao i kod električne vodljivosti pa je tako najviša izmjerena vrijednost ( $1698,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) TDS-a zabilježena za 100 %-tni filtrirani sok od naranče u koji je dodana najveća količina proteina konoplje. Očekivano, najniža vrijednost TDS-a ( $986 \text{ mg L}^{-1}$ ) izmjerena je u 100 %-tnom nefiltriranom soku od jabuke u koji nisu dodavani proteini.

Koeficijenti determinacije su ponovno visoki što ukazuje na to da se i izmjerene vrijednosti TDS-a podudaraju s promjenama volumnog udjela sokova te količinom dodanih proteina konoplje.

Kao što je ranije spomenuto, postoji međusobna zavisnost između TDS-a i vodljivosti, a prikazani grafovi to i potvrđuju.



Slika 13. Prikaz rezultata izmjerenih pH vrijednosti u uzorcima filtriranih sokova



Slika 14. Prikaz rezultata izmjerenih pH vrijednosti u uzorcima nefiltriranih sokova

Izmjerene vrijednosti pH, jednako kao i izmjerene vrijednosti vodljivosti i TDS-a, ne odstupaju od rastućeg linearnog trenda (slika 13, slika 14). Vrijednosti 100 %-tnih sokova jabuke iznosile su 3,42 za nefiltrirane i 3,45 za filtrirane sokove. pH 100 %-tnog nefiltriranog soka od naranče iznosio je 4,11, a filtriranog 4,2. Dobiveni podaci su u skladu s literaturnim podacima prema kojima pH vrijednost za ovu vrstu proizvoda iznosi između 3–4,5 (Mayer i sur., 1979) za sok od jabuke te 3,3-4,2 za sok od naranče (Abdela I sur., 2011). Vidljivo je da dodatkom proteina konoplje vrijednost pH raste, pa je tako najviši pH (4,49) imao uzorak 100 %-tnog filtriranog soka od naranče s dodanih 3 g proteina konoplje, a najniži pH (3,42) je pripao uzorku 100 %-tnog nefiltriranog soka bez dodatka konoplje.

Svi koeficijenti determinacije ( $R^2$ ) kod filtriranih sokova su izrazito visoki (preko 0,99), dok su kod nefiltriranih sokova također vrlo visoki uz jedno manje odstupanje (100 %-tni nefiltrirani sok od naranče,  $R^2=0,8976$ ). Takvi rezultati potvrđuju da se i vrijednosti pH podudaraju s promjenama volumnog udjela sokova te količinom dodanih proteina konoplje.

## **4.2. Kolorimetrijska analiza**

U tablicama 6 i 7 prikazane su vrijednosti kolorimetrijskog mjerenja ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  i  $h^*$ ) očitane s kolorimetra PCE-CSM 3, Engleska. Analiza se provodila na filtriranim i nefiltriranim sokovima koji su se razlikovali prema volumnim udjelima soka jabuke i naranče te prema masi dodanih proteina konoplje u pojedne uzorke.

**Tablica 6.** Prikaz izmjerenih vrijednosti kolorimetrijskog mjerenja (L\*, a\*, b\*, c\* i h\*) za filtrirane sokove

	UZORAK BR.	KONC	L AVERAGE	ST. DEV. L	A AVERAGE	ST. DEV. A	B AVERAGE	ST. DEV. B	C AVERAGE	ST. DEV. C	H AVERAGE	ST. DEV. H
<b>100 % NARANČA</b>	1.00	0.00	48,19	0,19	1,39	0,01	10,54	0,10	10,64	0,09	82,50	0,10
	2.00	0,50	47,31	0,08	1,30	0,02	9,53	0,06	9,62	0,06	82,27	0,13
	3.00	1,00	47,48	0,05	1,18	0,00	9,23	0,03	9,31	0,03	82,69	0,03
	4.00	1,50	47,15	0,29	1,18	0,01	8,51	0,62	8,90	0,17	82,40	0,24
	5.00	2,00	46,98	0,04	1,20	0,00	8,72	0,06	8,80	0,06	82,16	0,04
	6.00	2,50	47,19	0,01	1,22	0,00	8,73	0,00	8,82	0,00	82,06	0,01
	7.00	3,00	47,17	0,13	1,31	0,01	8,57	0,08	8,67	0,08	81,34	0,08
<b>75 % NARANČA + 25 % JABUKA</b>	1.00	0,00	47,68	0,07	1,04	0,01	9,59	0,05	9,64	0,05	83,82	0,11
	2.00	0,50	47,37	0,01	0,96	0,01	8,86	0,01	8,91	0,01	83,84	0,07
	3.00	1,00	46,74	0,00	0,93	0,01	8,20	0,01	8,25	0,01	83,51	0,08
	4.00	1,50	46,63	0,00	0,95	0,01	7,98	0,02	8,04	0,02	83,15	0,02
	5.00	2,00	47,30	0,20	0,93	0,01	8,36	0,11	8,40	0,11	83,67	0,05
	6.00	2,50	47,09	0,01	1,04	0,01	8,15	0,00	8,22	0,01	82,73	0,13
	7.00	3,00	46,83	0,39	1,16	0,01	7,87	0,25	7,95	0,25	81,68	0,23
<b>50 % NARANČA + 50 % JABUKA</b>	1.00	0,00	47,27	0,04	0,53	0,01	8,18	0,01	8,20	0,01	86,31	0,05
	2.00	0,50	47,04	0,01	0,57	0,01	7,88	0,02	7,90	0,02	85,92	0,07
	3.00	1,00	46,18	0,06	0,67	0,03	7,24	0,04	7,27	0,04	84,69	0,23
	4.00	1,50	46,13	0,04	0,77	0,01	7,25	0,05	7,29	0,05	83,92	0,11
	5.00	2,00	46,45	0,03	0,79	0,00	7,29	0,04	7,33	0,04	83,81	0,01
	6.00	2,50	45,46	0,13	0,90	0,02	7,26	0,05	7,31	0,05	82,97	0,16
	7.00	3,00	38,56	0,09	0,95	0,00	9,16	0,02	9,21	0,02	84,08	0,01
<b>25 % NARANČA + 75 % JABUKA</b>	1.00	0,00	44,42	0,00	1,29	0,01	5,43	0,01	5,58	0,01	76,66	0,02
	2.00	0,50	44,98	0,01	0,91	0,01	5,60	0,01	5,67	0,00	80,78	0,11
	3.00	1,00	45,07	0,01	0,90	0,00	5,71	0,00	5,78	0,00	81,04	0,01
	4.00	1,50	45,11	0,01	0,94	0,01	5,78	0,01	5,85	0,00	80,72	0,16
	5.00	2,00	45,17	0,01	0,88	0,01	5,68	0,01	7,25	2,14	81,16	0,11
	6.00	2,50	45,34	0,02	0,98	0,03	6,07	0,02	6,15	0,02	80,85	0,21
	7.00	3,00	45,24	0,01	1,03	0,01	6,10	0,01	6,19	0,01	80,38	0,16
<b>100 % JABUKA</b>	1.00	0,00	43,62	0,00	1,33	0,01	4,06	0,00	4,27	0,00	71,93	0,09
	2.00	0,50	41,65	0,13	1,44	0,02	4,69	0,05	4,90	0,05	72,97	0,08
	3.00	1,00	44,05	0,05	1,26	0,01	4,62	0,01	4,79	0,01	74,76	0,06
	4.00	1,50	44,24	0,01	1,25	0,00	4,86	0,03	5,02	0,03	75,55	0,08
	5.00	2,00	44,42	0,04	1,24	0,01	4,98	0,04	5,13	0,04	76,03	0,04
	6.00	2,50	44,50	0,05	1,26	0,01	5,17	0,04	5,32	0,04	76,32	0,01
	7.00	3,00	41,37	0,04	1,30	0,02	5,83	0,08	5,97	0,08	77,46	0,04

**Tablica 7.** Prikaz izmjerenih vrijednosti kolorimetrijskog mjerenja ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  I  $h^*$ ) za nefiltrirane sokove

	UZORAK BR	KONC	L AVERAGE	ST.DEV L	A AVERAGE	ST.DEV A	B AVERAGE	ST.DEV B	C AVERAGE	ST.DEV C	H AVERAGE	ST.DEV H
<b>100 % NARANČA</b>	1,00	0,00	49,81	0,01	1,81	0,01	12,78	0,00	12,91	0,00	81,94	0,05
	2,00	0,50	48,54	0,01	1,43	0,01	11,85	0,01	11,93	0,01	83,15	0,05
	3,00	1,00	49,14	0,00	1,45	0,01	11,13	0,00	11,23	0,00	82,62	0,05
	4,00	1,50	48,91	0,01	1,43	0,00	10,33	0,01	10,43	0,01	82,12	0,01
	5,00	2,00	48,86	0,01	1,44	0,01	10,19	0,01	10,29	0,01	81,96	0,05
	6,00	2,50	48,10	0,00	1,46	0,00	10,56	0,02	10,66	0,02	82,11	0,01
	7,00	3,00	46,01	0,01	1,44	0,01	10,83	0,02	10,92	0,02	82,44	0,08
<b>75 % NARANČA + 25 % JABUKA</b>	1,00	0,00	49,03	0,01	0,87	0,01	11,05	0,02	11,09	0,02	85,52	0,01
	2,00	0,50	48,78	0,02	0,85	0,01	10,47	0,01	10,50	0,01	85,39	0,01
	3,00	1,00	48,46	0,00	0,86	0,01	9,53	0,01	9,56	0,00	84,87	0,03
	4,00	1,50	48,18	0,00	0,95	0,00	9,60	0,01	9,65	0,01	84,35	0,03
	5,00	2,00	48,08	0,02	1,13	0,01	9,54	0,04	9,61	0,04	83,27	0,11
	6,00	2,50	48,13	0,01	1,18	0,01	9,46	0,02	9,53	0,02	82,89	0,04
	7,00	3,00	47,72	0,00	1,24	0,01	9,08	0,00	9,16	0,00	82,25	0,06
<b>50 % NARANČA + 50 % JABUKA</b>	1,00	0,00	48,06	0,00	0,30	0,01	9,16	0,01	9,16	0,00	88,16	0,08
	2,00	0,50	46,73	0,03	0,32	0,01	8,73	0,01	8,74	0,02	87,94	0,02
	3,00	1,00	47,78	0,02	0,47	0,01	8,49	0,03	8,50	0,03	86,88	0,05
	4,00	1,50	47,66	0,03	0,70	0,01	8,30	0,04	8,33	0,04	85,21	0,06
	5,00	2,00	47,56	0,01	0,81	0,03	8,38	0,03	8,42	0,02	84,56	0,13
	6,00	2,50	47,38	0,01	0,76	0,01	8,06	0,04	8,09	0,03	84,67	0,01
	7,00	3,00	47,30	0,07	1,10	0,00	8,42	0,01	8,49	0,01	82,57	0,03
<b>25 % NARANČA + 75 % JABUKA</b>	1,00	0,00	46,33	0,00	0,60	0,01	6,64	0,01	6,67	0,01	84,91	0,05
	2,00	0,50	45,82	0,01	0,79	0,01	5,98	0,01	6,03	0,01	82,45	0,16
	3,00	1,00	46,34	0,00	0,70	0,00	6,35	0,01	6,39	0,01	83,72	0,01
	4,00	1,50	46,44	0,01	0,76	0,01	6,46	0,01	6,50	0,01	83,28	0,13
	5,00	2,00	46,72	0,01	0,86	0,01	6,87	0,01	6,92	0,01	82,84	0,13
	6,00	2,50	46,46	0,01	0,88	0,01	6,79	0,01	6,84	0,02	82,65	0,01
	7,00	3,00	46,64	0,01	1,00	0,01	7,01	0,01	7,0	0,01	81,93	0,07
<b>100 % JABUKA</b>	1,00	0,00	43,89	0,01	1,23	0,01	4,19	0,01	4,37	0,01	73,64	0,06
	2,00	0,50	44,37	0,01	1,28	0,00	4,64	0,03	4,82	0,03	74,59	0,04
	3,00	1,00	44,68	0,00	1,24	0,01	5,00	0,01	5,15	0,01	76,04	0,08
	4,00	1,50	44,84	0,00	1,28	0,01	5,40	0,01	5,46	0,15	76,66	0,12
	5,00	2,00	45,11	0,01	1,30	0,02	4,93	0,67	5,58	0,04	76,59	0,12
	6,00	2,50	45,42	0,01	1,33	0,01	5,55	0,01	5,71	0,01	76,56	0,06
	7,00	3,00	45,53	0,02	1,49	0,01	5,93	0,04	6,11	0,04	75,92	0,01



Primjenom CIELAB kolometrijskog sustava dobivene su brojčane vrijednosti koje opisuju položaj određene boje u navedenom sustavu.  $L^*$  vrijednost opisuje samo svjetlinu pojedinog piksela, a izražava se brojčanim vrijednostima od 0 (crno, potpuno tamno) do 100 (bijelo, potpuno svjetlo). Izmjerene vrijednosti u uzorcima varirale su između 49,81 do 38,56 što ukazuje na to da bi se uzorci mogli svrstati među tamnije.  $a^*$  vrijednost opisuje poziciju uzorka na osi koja se proteže između zelene i crvene boje, a  $b^*$  između plave i žute. Ove osi nemaju brojčano ograničenje, ali se opisuju upotrebom negativog odnosno pozitivnog predznaka. Dakle, ukoliko vrijednost  $a^*$  ima negativan predznak boja više naginje ka zelenoj, dok u slučaju  $b^*$  boja naginje ka plavoj. Ukoliko vrijednosti nemaju negativan predznak,  $a^*$  će naginjati ka crvenoj, a  $b^*$  ka žutoj boji.

Prema  $a^*$  vrijednostima, koje iznose od 1,81 do 0,30 za filtrirane sokove i od 1,39 do 0,53 za nefiltrirane, zaključujemo da su svi uzorci bili unutar sive zone na  $a$  koordinati. Prema očitanim  $b^*$  vrijednostima vidljivo je da prevladavajuća boja i u filtriranim i u nefiltriranim uzorcima bila žuta.

S obzirom da pomoću  $c^*$  vrijednosti izražavamo zasićenje boje (0 za neutralnu, sivu boju do 100 i više za vrlo zasićenu boju), jasno je da je boja u ispitivanim uzorcima bila gotovo potpuno ne zasićena (izmjerene vrijednosti variraju između 12,91 i 4,37 za filtrirane sokove te između 10,64 i 4,27 za nefiltrirane sokove).

$H^*$  vrijednosti iznose između 88,16 i 73,64 za filtrirane sokove dok su kod nefiltriranih sokova te vrijednosti malo niže i iznose između 86,31 i 71,93. Prema navedenoj literaturi, žuta boja opisana je kutom od  $90^\circ$  (HunterLab, 2008) pa je prema tome jasno da i po ovom parametru naše uzorke možemo opisati kao žute.

### 4.3. Umjetne neuronske mreže

Uzroke koji su se koristili za ispitivanje električne vodljivosti, TDS-a, pH i boje, također su bili snimani i s NIR instrumentom. Na temelju prvih 10 faktora PCA analize ispitivane su umjetne neuronske mreže kako bi se vidjelo može li se NIR uspješno koristiti za predviđanje vrijednosti promatranih parametara u usporedbi s onima direktno mjerenima (slike 9-14). Odabrano je po pet neuronskih mreža koje su imale najviše koeficijente determinacije za učenje, testiranje i validaciju s najmanjim pogreškama za filtrirane i pet neuronskih mreža za nefiltrirane uzorke (tablica 8).

**Tablica 8.** Karakteristike modela odabranih umjetnih neuronskih mreža (ANN) razvijenih za predviđanje električne vodljivosti, TDS-a, pH, boje i volumnih udjela izmještanosti sokova

NAZIV MREŽE	PRECIZNOST UČENJA	POGREŠKA UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	POGREŠKA TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE	POGREŠKA VALIDACIJE	SKRIVENA AKTIVAC. FUNKCIJA	IZLAZNA AKTIVAC. FUNKCIJA
<b>FILTRIRANI SOKOVI – 70:15:15</b>								
10-4-9	0,871	0,065	0,877	0,080	0,845	0,083	Logistic	Logistic
10-11-9	0,903	0,051	0,879	0,083	0,837	0,086	Tanh	Tanh
10-8-9	0,897	0,052	0,885	0,073	0,846	0,085	Tanh	Exponential
10-7-9	0,894	0,054	0,888	0,071	0,869	0,072	Tanh	Exponential
10-9-9	0,903	0,050	0,894	0,072	0,866	0,073	Tanh	Logistic
<b>NEFILTRIRANI SOKOVI – 70:15:15</b>								
10-11-9	0,926	0,040	0,885	0,056	0,871	0,082	Logistic	Logistic
10-7-9	0,921	0,043	0,898	0,050	0,871	0,084	Tanh	Logistic
10-5-9	0,932	0,036	0,885	0,052	0,861	0,090	Logistic	Exponential
10-9-9	0,930	0,037	0,908	0,050	0,886	0,076	Logistic	Logistic
10-8-9	0,939	0,034	0,907	0,049	0,888	0,074	Logistic	Tanh

Podaci su bili raspodjeljeni na učenje, testiranje i validaciju prema omjeru 70:15:15 koji se pokazao kao najbolji između 4 isprobana (60:20:20, 50:30:20, 70:20:10 i 70:15:15). Broj neurona u skrivenom sloju bio je postavljen na raspon od 4 do 11.  $R^2$  vrijednosti kod filtriranih sokova za učenje, testiranje i validaciju iznose između 0,837 do 0,903 što ove modele svrstava u precizne modele. Kod nefiltriranih sokova situacija je još bolja i u ovom slučaju  $R^2$  vrijednosti iznose između 0,871 do 0,939. Pogreške su u svim slučajevima bile poprilično male. Varirale su od 0,051 do 0,085 kod filtriranih te od 0,034 do 0,09 kod nefiltriranih sokova. Najbolja neuronska mreža je izabrana na osnovu  $R^2$  vrijednosti i najmanje pogreške. Za filtrirane sokove odabrana je neuronska mreža 10-9-9 s devet neurona u skrivenom sloju koja iako ima  $R^2$  neznatno manji od neuronske mreže 10-7-9 za validaciju, što se tiče učenja i validacije ima više  $R^2$  vrijednosti. Za nefiltrirane sokove odabrana je neuronska mreža 10-8-9 s osam neurona u skrivenom sloju koja je za učenje, trening i validaciju imala najviše  $R^2$  vrijednosti od svih pet odabranih. Ove dvije odabrane mreže koristili smo za daljnje analize predviđanja električne vodljivosti, TDS-a, boje, pH i volumnih udjela izmještanosti sokova (tablica 9).

**Tablica 9.** Rezultati predviđanja električne vodljivosti, TDS-a, boje, pH i volumnih udjela izmještanosti sokova na temelju odabranih ANN modela iz tablice 8

VARIJABLA	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
<b>FILTRIRANI SOKOVI</b>			
<b>El. vodljivost</b>	0,981	0,987	0,979
<b>TDS</b>	0,981	0,989	0,979
<b>L*</b>	0,745	0,367	0,797
<b>a*</b>	0,921	0,596	0,896
<b>b*</b>	0,896	0,955	0,917
<b>c*</b>	0,903	0,951	0,902
<b>H*</b>	0,846	0,928	0,776
<b>pH</b>	0,968	0,978	0,970
<b>volumni udio</b>	0,929	0,917	0,925

	NEFILTRIRANI SOKOVI		
<b>El. vodljivost</b>	0,975	0,973	0,966
<b>TDS</b>	0,975	0,974	0,969
<b>L*</b>	0,948	0,783	0,856
<b>a*</b>	0,809	0,871	0,738
<b>b*</b>	0,955	0,893	0,876
<b>c*</b>	0,953	0,894	0,878
<b>H*</b>	0,914	0,913	0,811
<b>pH</b>	0,967	0,960	0,958
<b>volumni udio</b>	0,951	0,903	0,921

Iz prikazane tablice vidljivo je da su koeficijenti determinacije najveći u slučajevima izmjerenih vrijednosti TDS-a u uzrocima filtriranih sokova. Oni su iznosili 0,981 za učenje, 0,989 za testiranje i 0,979 za validaciju. Vrijednosti koeficijenta determinacije za TDS-a kod nefiltriranih sokova nisu značajno niže od onih za filtrirane (0,975 za učenje, 0,974 za testiranje i 0,969 za validaciju). Vrijednosti  $R^2$  neuronskih mreža za električnu vodljivost vrlo su slične onima za TDS u obje vrste sokova. Do značajnijeg pada koeficijenta determinacije dolazi kod izmjerenih vrijednosti za boju, pogotovo za  $L^*$  u filtriranim sokovima gdje je  $R^2$  za učenje iznosio 0,745, za testiranje 0,367 i za validaciju 0,797 što zapravo predstavlja najmanju uspješnost modela. I ostali koeficijenti determinacije za parametre dobivene kolorimetrijskom analizom generalno su bili niži kod filtriranih nego kod nefiltriranih sokova osim u slučaju  $R^2$  za parametar  $a^*$  koji je iznosio 0,809 za učenje, 0,871 za test i 0,738 za validaciju kod nefiltriranih, a 0,921 za učenje, 0,871 za testiranje i 0,738 za validaciju kod filtriranih sokova.

Koeficijenti determinacije za pH viši su u slučaju filtriranog soka (0,968 za učenje, 0,978 za testiranje i 0,970 za validaciju) nego u slučaju nefiltriranog soka (0,967 za učenje, 0,960 za testiranje i 0,958 za validaciju), no nisu uočene značajne razlike. Kod predviđanja volumnog udjela, situacija je podjeljena. Koeficijent determinacije za učenje veći je kod nefiltriranih sokova i on iznosi 0,951 (0,929 kod filtriranih). Kod testa i validacije situacija je obrnuta tj. koeficijenti determinacije već su kod filtriranih sokova (0,917 za test i 0,925 za validaciju) nego kod nefiltriranih sokova (0,903 za test i 0,921 za validaciju).

Uspoređujući koeficijente determinacije dobivene primjenom ANN modela i onih dobivenih direktnim mjerenjem (slike 9-14) možemo zaključiti da se pomoću NIR spektroskopije primjenom neuronskih mreža vrlo precizno mogu odrediti određena svojstva poput električne vodljivosti, TDS-a i pH vrijednosti izmješanih sokova s dodatkom proteina konoplje.

Kako bi se vidjelo može li se s NIR spektroskopijom odrediti udio proteina konoplje u ispitivanim uzorcima korištene su odabrane neuronske mreže iz tablice 8.

**Tablica 10.** Rezultati predviđanja koncentracije konoplje u izmješanosti sokova na temelju odabranog ANN modela iz tablice 8

IZMJESANOST SOKOVA	PRECIZNOST UČENJA	PRECIZNOST TESTIRANJA	PRECIZNOST VALIDACIJE
<b>FILTRIRANI SOKOVI</b>			
100 % N	0,998	0,995	0,998
75 % N + 25 % J	0,989	0,989	0,987
50 % N + 50 % J	0,995	0,995	0,994
25 % N + 75 % J	0,996	0,994	0,991
100 % J	0,999	0,993	0,997
<b>NEFILTRIRANI SOKOVI</b>			
100 % N	0,989	0,977	0,976
75 % N + 25 % J	0,998	0,999	0,994
50 % N + 50 % J	0,998	0,999	0,990
25 % N + 75 % J	0,989	0,986	0,987
100 % J	0,994	0,993	0,992

Tablica 10 prikazuje rezultate predviđanja koncentracije dodanih proteina konoplje (0-3 g) u filtriranim i nefiltriranim sokovima različite izmješanosti. Vidljivo je da su svi koeficijenti determinacije vrlo visoki kako za učenje i testiranje tako i za validaciju i svi su u rasponu od 0,976 – 0,998. Visoki koeficijenti determinacije dokaz su da se pomoću NIR spektroskopije može vrlo točno odrediti koncentracija proteina konoplje u filtriranim i nefiltriranim sokovima bilo koje izmješanosti. Ovakve rezultate potvrđuju i mnogi drugi autori koji su u svojim istraživanjima koristili NIR spektroskopiju i ANN za predviđanje funkcionalnih, reoloških, fizikalnih, kemijskih i osjetilnih svojstava različitih prehrambenih proizvoda (Huang i sur., 2007).

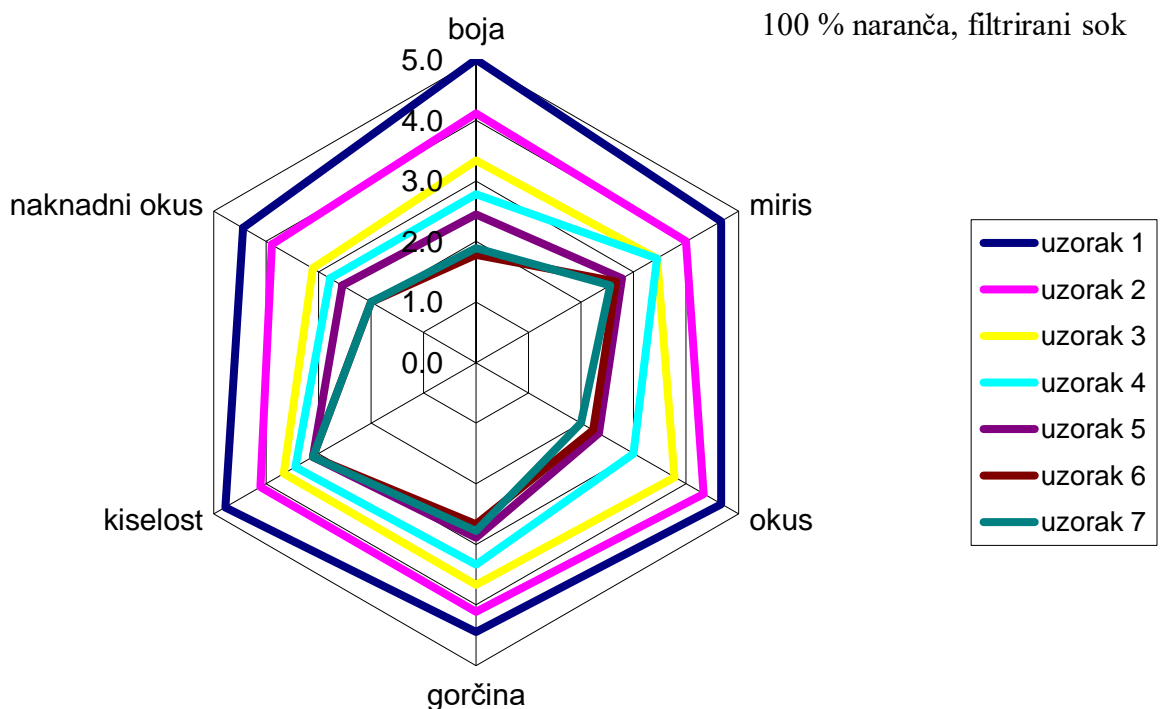
#### 4.4. Senzorska analiza

Na uzorku od 10 ispitanika proučavala se prihvaćenost određenog uzroka s obzirom na boju, miris, okus, gorčinu, kiselost i naknadni okus. Ispitali su se uzorci različite izmješanosti filtriranih i nefiltriranih sokova jabuke i naranče u koji su dodavane različite količine proteina konoplje (tablica 11). Prilikom ocjenjivanja koristila se hedonistička skala u kojoj je pojedinoj razini prihvaćanja pripisana brojana vrijednost od 1 do 5 tj. vrlo poželjno (5); poželjno (4); neutralno (3); nepoželjno (2) i vrlo nepoželjno (1).

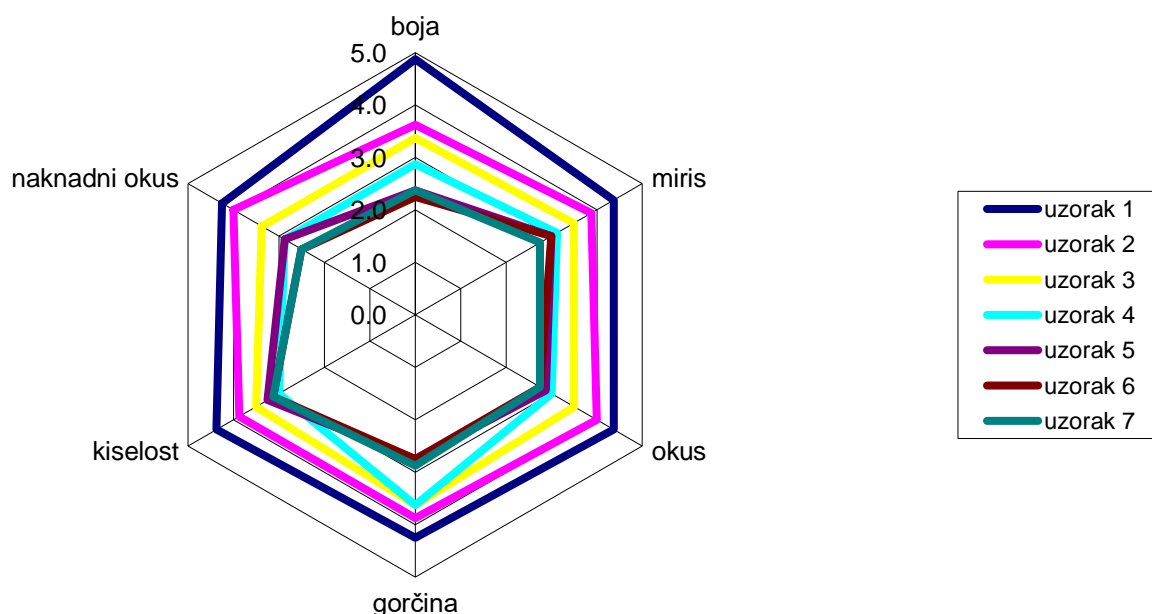
**Tablica 11.** Prikaz odvagane mase proteina konoplje u pojedinom uzorku

UZORAK BROJ	1	2	3	4	5	6	7
MASA PROTEINA KONOPLJE/ g	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3

Na slikama 15-26 grafički su prikazani rezultati senzorske analize šest različitih svojstava pojedinih uzoraka.



**Slika 15.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize 100 %-tnog filtiranog soka od naranče

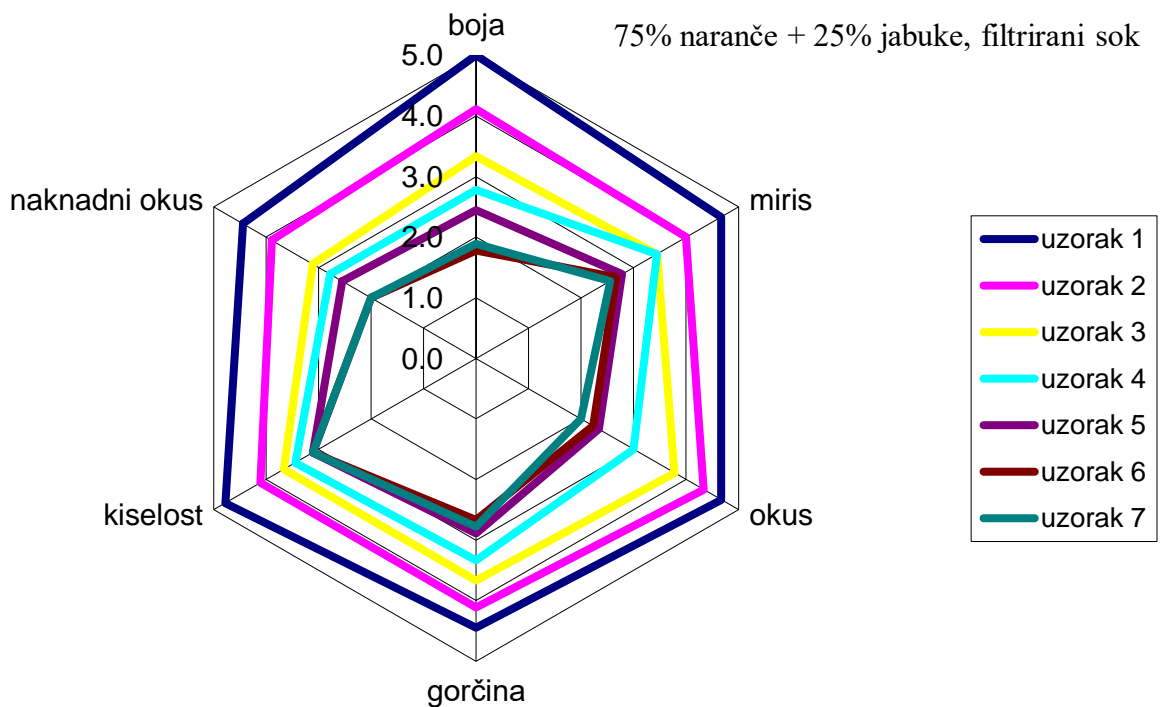


**Slika 16.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize 100 %-tnog nefiltriranog soka od naranče

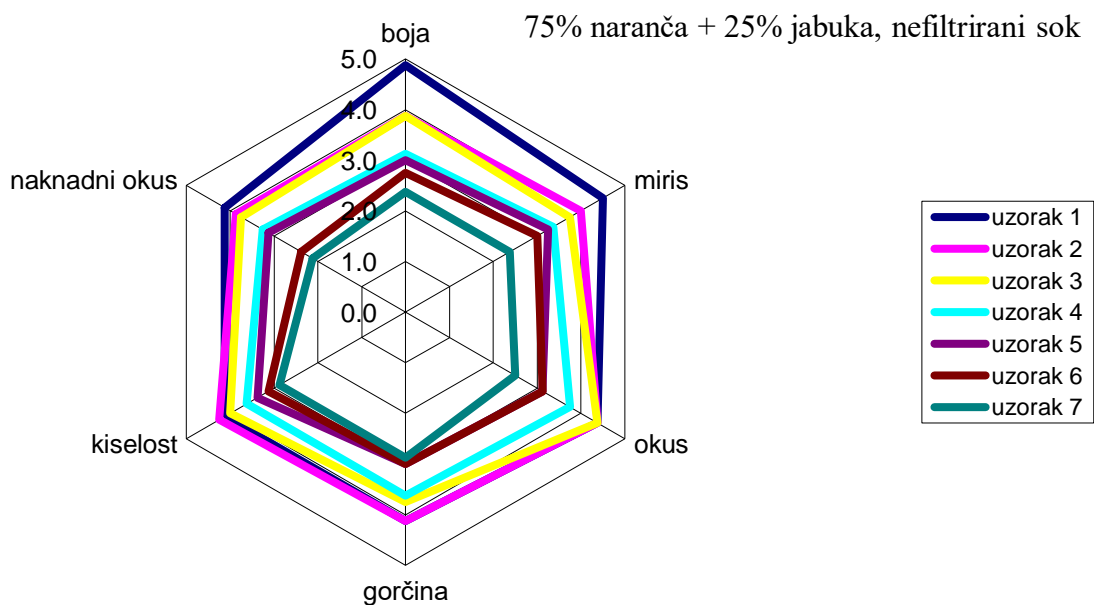
U 100 %-tnom filtriranom narančinom soku najbolje je bio ocjenjen uzorak broj 1 koji je u svim ispitivanim parametrima imao ocjenu višu od ostalih uzoraka (slika 1). Ovaj uzorak je za parametar boje osvojio najvišu moguću ocjenu (5,0), dok su naknadni okus i gorčina bili ocjenjeni s najnižom ocjenom (4,4). Najlošije je bio ocjenjen uzorak broj 7 koji je najslabiju ocjenu dobio upravo za boju (1,9), a najveću za kiselost (3,1).

Kod 100 %-tnog nefiltriranog soka od naranče situacija je vrlo slična (slika 16). Najbolje prihvaćen uzorak je uzorak broj 1 u kojemu je boja ocjenjena kao najbolji parametar (4,9). Najslabije ocjenjeni parametri bili su, ponovno, naknadni okus i gorčina koji su u ovom slučaju imali nešto nižu ocjenu (4,3). Naslabije ocjenjeni uzorci bili su uzorak 6 i uzorak 7 koji su najslabiju ocjenu dobili za boju (2,3 odnosno 2,4), a najbolju za kiselost (3,1).

Iz grafičkih prikaza možemo primijetiti da su uzorci filtriranih generalno bili nešto bolje ocjenjeni od onih nefiltriranih.



**Slika 17.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 75 % filtriranog narančinog soka i 25 % filtriranog soka od jabuke



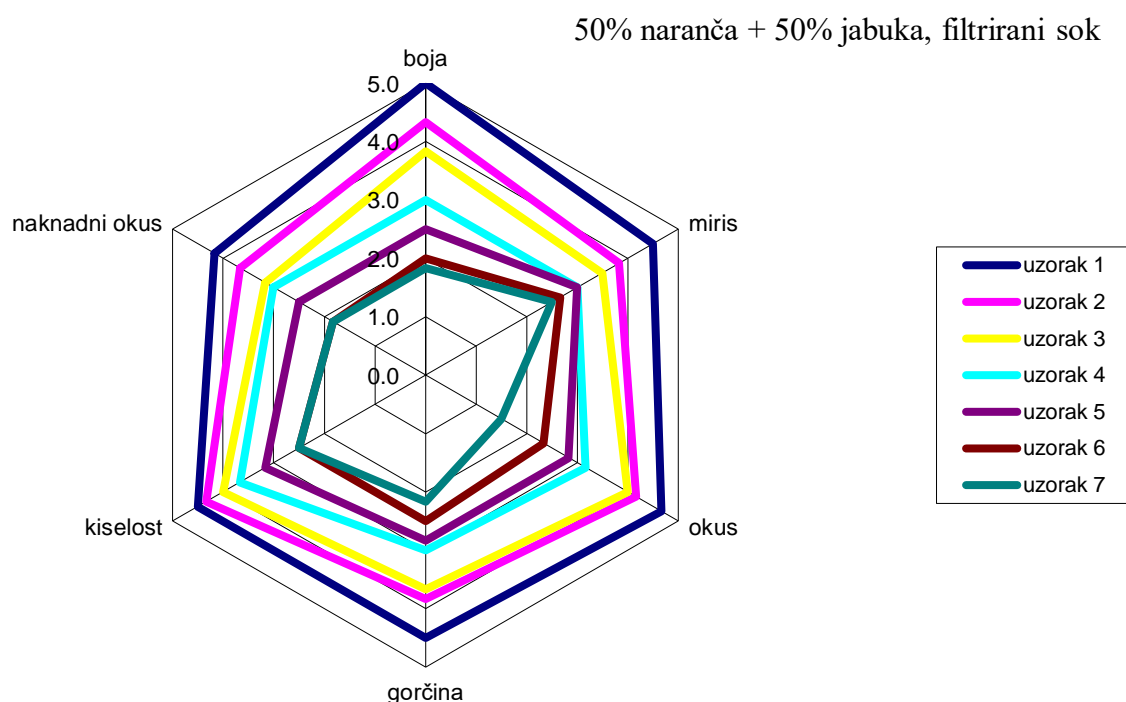
**Slika 18.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 75 % nefiltriranog narančinog soka i 25 % nefiltriranog soka od jabuke



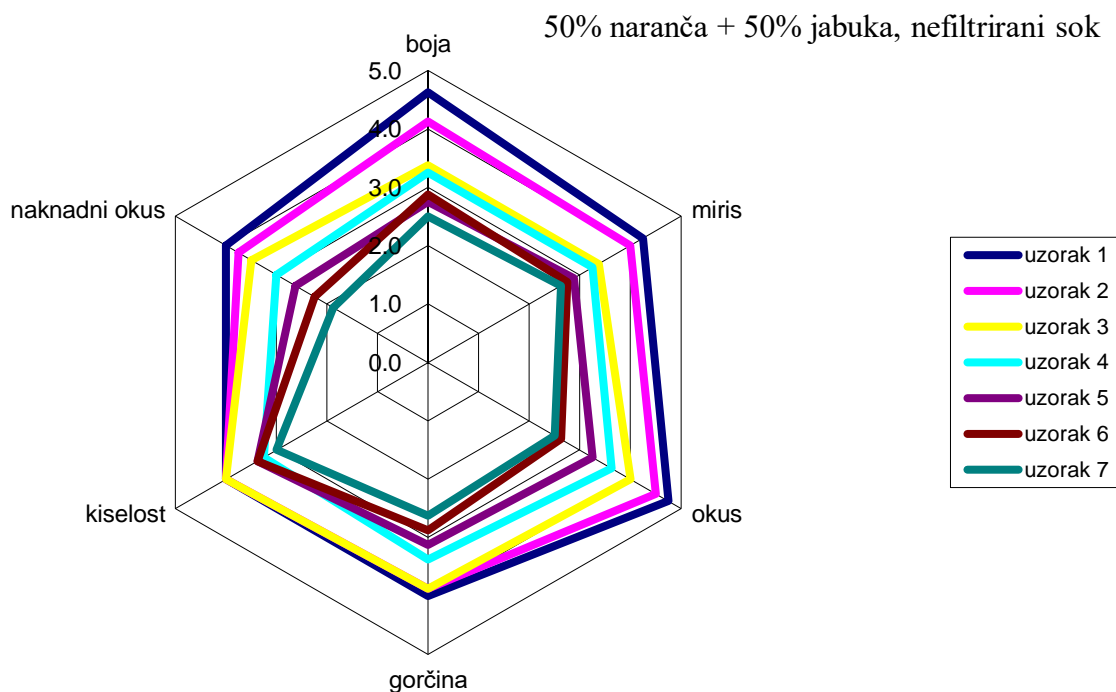
U uzorku filtriranog soka u kojemu je omjer sokova naranča:jabuka iznosio 3:1 (slika 17) najbolje je ocjenjen uzorak 1. U navedenom uzorku, kao najbolji parametar izabran je okus što dokazuje i najveća moguća ocjena (5,0) koja mu je pripala, a gorčina, kiselost i naknadni okus imali su jednako nisku ocjenu (4,5). Najlošije ocjene pripale su uzorku broj 7 u kojemu je kao najlošiji parametar izabran naknadni okus (2,1), a kao najbolji gorčina (3,0).

U uzorcima nefiltriranog soka u kojima je omjer sokova naranča:jabuka također bio 3:1 (slika 18), najbolje ocjenjen uzorak bio je uzorak broj 1. Boja je ponovno ocjenjena kao najbolji parametar (4,9) dok su okus, gorčina i naknadni okus i ovoga puta imali najnižu ocjenu (4,1). Najlošije ocjenjen uzorak je bio uzorak broj 7 u kojem su najbolje ocjenjeni gorčina i kiselost (2,9), a najslabije naknadni okus (2,1).

I slučajevima u kojima je omjer sokova naranča:jabuka iznosio 3:1 filtrirani sokovi bili su bolje ocjenjeni od nefiltriranih.



**Slika 19.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 50 % filtriranog narančinog soka i 50 % filtriranog soka od jabuke

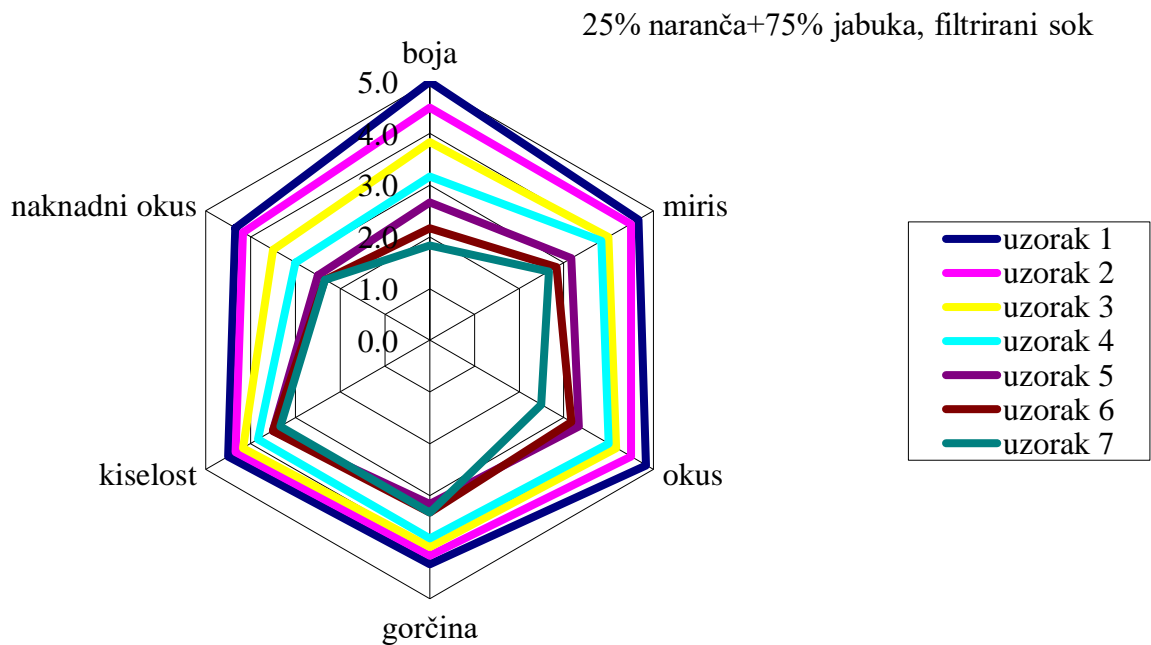


**Slika 20.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 50 % nefiltriranog narančinog soka i 50 % nefiltriranog soka od jabuke

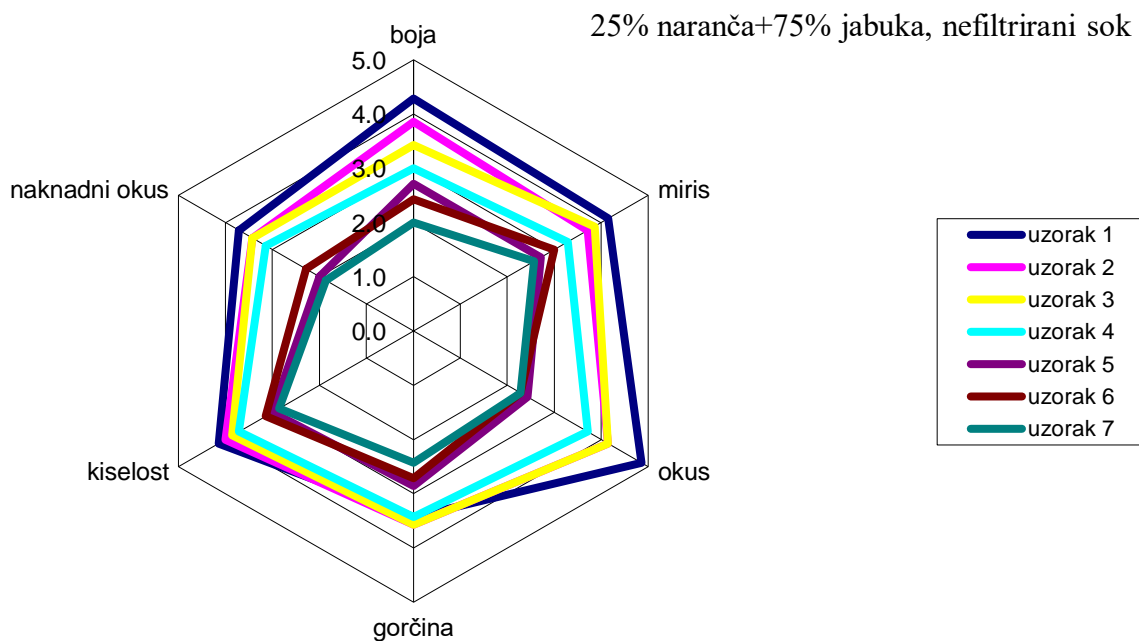
U uzorcima filtriranog soka u kojima su udjeli narančinog soka i soka od jabuke bili podjednaki (slika 19), ponovno je kao najbolji uzorak izabran uzorak 1, s bojom kao najbolje (5,0), a naknadnim okusom kao najlošije ocjenjenim parametrom (4,2). Najlošije ocjenjen uzorak, uzorak 7, dobio je vrlo nisku ocjenu za okus (1,5) dok su kao najbolji parametri u ovom uzorku bili izabrani miris i kiselost (2,5).

U uzorcima nefiltriranih sokova podjednakih omjera (slika 20), uzorak broj 1 izabran je kao najbolji. U izabranom uzorku najviša ocjena pripala je parametru okusa (4,8), dok su najslabije ocjenjeni bili parametri kiselosti, gorčine i naknadog okusa (4,0). Najlošije ocjenjen uzorak bio je posljednji uzorak u kojemu je najviša ocjena pripala kiselosti (3,0), a najslabije je ocjenjen naknadni okus (1,9).

U slučaju uzoraka podjednakih omjera sokova jabuke i naranče, nefiltrirani sokovi pokazali su ponešto više ocjene.



**Slika 21.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 25 % filtriranog narančinog soka i 75 % filtriranog soka od jabuke

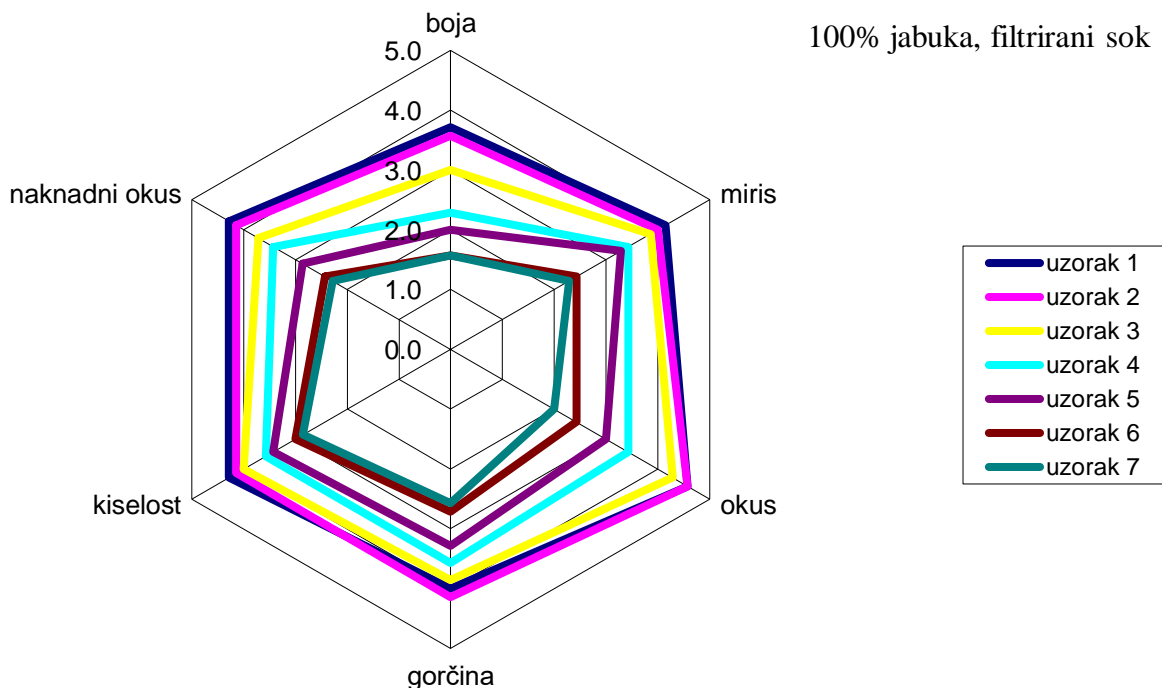


**Slika 21.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize uzorka pripremljenog od 25 % nefiltriranog narančinog soka i 75 % nefiltriranog soka od jabuke

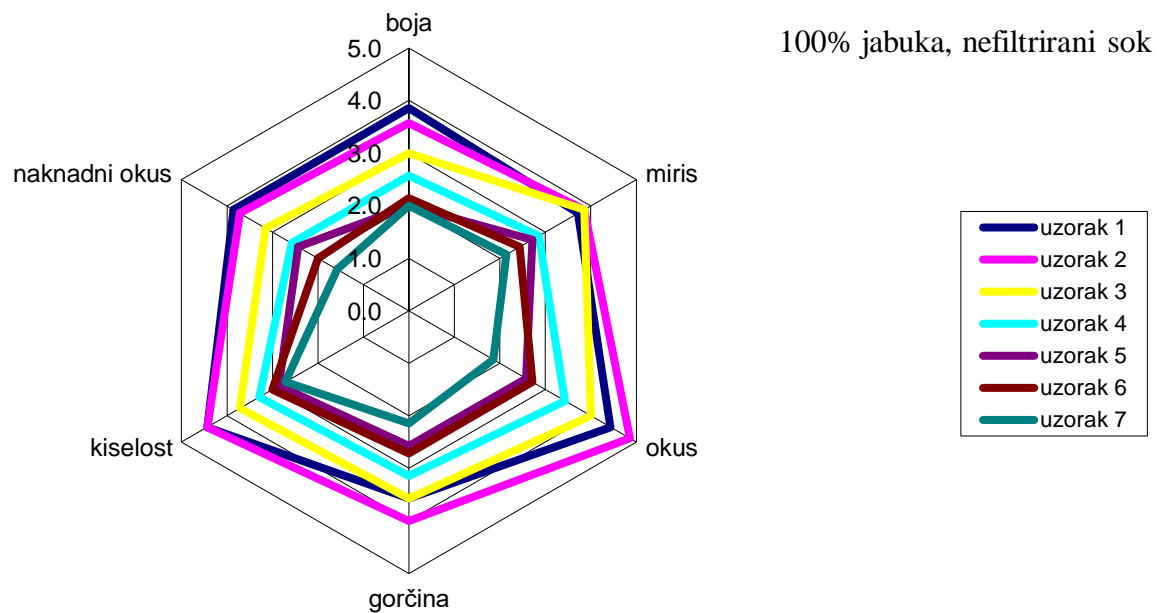
Na slikama 20 i 21 grafički su prikazani rezultati senzorske analize filtriranih sokova u kojima je ovaj put sok od jabuke u većinskom udjelu. Može se primijetiti da ni u ovom slučaju (slika 20) nije došlo do promjene trenda te je uzorak broj 1 ponovno ocjenjen kao najbolji. Parametar boje i dalje je ocjenjivan kao vrlo poželjan (5,0), dok su najslabiju ocjenu dobili gorčina i naknadni okus (4,3). Jednako kao i u slučaju najbolje ocjenjenog uzorka, trend se ponavlja i na najlošije ocjenjenom uzorku koji je i ovoga puta bio uzorak broj 7. Suprotno od situacije u uzorku broj 1, u uzorku broj 7 boja je ocjenjena kao najslabiji parametar (1,8), dok su gorčina i kiselost bili najbolje ocjenjeni parametri (3,3).

Kod nefiltriranog soka, uzorak broj 1 je i dalje bio najbolje ocjenjen uzorak, no u ovom slučaju s okusom kao najbolje ocjenjenim parametrom (4,9) (slika 21). Najlošije ocijenjeni parametar bila je gorčina koja je imala vrlo nisku ocjenu (3,4). U najlošije ocijenjenom uzorku, uzorku broj 7, najbolje ocjenjen parametar bila je kiselost (2,9), a najlošije naknadni okus (1,9).

Kod uzoraka u kojima je omjer sokova naranča:jabuka iznosio 1:3, bolje su bili ocjenjeni filtrirani uzorci sokova.



**Slika 23.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize 100 %-tnog filtiranog soka od jabuke



**Slika 24.** Grafički prikaz rezultata senzorske analize 100 %-tnog nefiltriranog soka od jabuke

Poslijednja dva grafička prikaza odnose se na rezultate senzorske analize uzoraka filtriranog (slika 23) i nefiltriranog 100 %-tnog soka od jabuke (slika 24). Već na prvi pogled vidljivo je da je došlo do velikih promjena srednje ocjene svakog parametra, no trend ukupne ocjene je i dalje zadržan. Dakle, uzorak broj 1 i dalje je ocjenjivan kao najbolji, no u ovom slučaju najbolji parametar je bio okus (4,6), dok je ocjena, do sada najbolje ocjenjivane boje, zauzela posljednje mjesto (3,7). Najslabije ocjenjen uzorak bio je uzorak broj 7 u kojemu je najbolje ocjenjen parametar bila kiselost (2,9), a najlošije ocjene ponovno je dobila boja (1,6).

Kod uzoraka 100 %-tnog nefiltriranog soka od jabuke, prvi puta došlo je do promjene trenda i u ovom je slučaju uzorak broj 2 ocjenjen kao najbolji uzorak. U uzorku broj 2 najbolji parametar bio je okus koji je dobio vrlo visoke ocjene (4,9), a najlošije je bila ocjenjena boja čija je ukupna ocjena iznosila 3,6. Najlošije ocjenjen uzorak bio je ponovno uzorak broj 7 u kojemu je čak i najbolje ocjenjen parametar, boja, dobio vrlo nisku ocjenu (2,0). Najlošije ocjenjen parametar bio je naknadni okus koji bi se opisao kao nepoželjan (1,6).

Nefiltrirani sokovi ponovno su slabije ocjenjeni od filtriranih.

Ukupna senzorska ocjena filtriranih uzorka prikazana je u tablici 12, a nefiltriranih u tablici 13, a dobivena je kao srednja vrijednost ukupnih ocjena svakog pojedinog svojstva u svakom uzorku.

**Tablica 12.** Srednja ocjena pojedinog uzroka u uzorcima filtriranih sokova

	UZORAK 1	UZORAK 2	UZORAK 3	UZORAK 4	UZORAK 5	UZORAK 6	UZORAK 7
100 % N	4,67±0,21	4,09±0,15	3,50±0,25	3,13±0,32	2,69±0,29	2,41±0,50	2,39±0,50
75 % N + 25 % J	4,71±0,23	4,29±0,13	3,85±0,24	3,40±0,18	3,04±0,26	2,75±0,30	2,60±0,41
50 % N + 50 % J	4,56±0,27	4,03±0,29	3,69±0,32	3,14±0,27	2,81±0,27	2,31±0,32	2,06±0,40
25 % N + 75 % J	4,61±0,27	4,36±0,16	3,94±0,25	3,61±0,42	3,06±0,39	2,89±0,54	2,67±0,59
100 % J	4,17±0,29	4,10±0,32	3,79±0,43	3,29±0,49	2,98±0,52	2,43±0,48	2,26±0,45

**Tablica 13.** Srednja ocjena pojedinog uzorka u uzorcima nefiltriranih sokova

	UZORAK 1	UZORAK 2	UZORAK 3	UZORAK 4	UZORAK 5	UZORAK 6	UZORAK 7
100 % N	4,42±0,23	3,88±0,14	3,48±0,09	3,08±0,28	2,85±0,29	2,73±0,32	2,73±0,27
75 % N + 25 % J	4,35±0,30	4,08±0,20	3,92±0,25	3,46±0,25	3,15±0,15	2,90±0,29	2,52±0,30
50 % N + 50 % J	4,27±0,34	4,04±0,26	3,69±0,30	3,29±0,20	3,00±0,30	2,79±0,27	2,52±0,27
25 % N + 75 % J	4,10±0,49	3,79±0,27	3,71±0,29	3,38±0,30	2,62±0,36	2,64±0,37	2,33±0,37
100 % J	3,98±0,37	4,07±0,48	3,55±0,40	2,98±0,37	2,52±0,30	2,50±0,38	2,07±0,38

Iz prethodno prikazanih slika i tablica možemo zaključiti da su, ukupno gledano, filtrirani sokovi bili bolje prihvaćeni od nefiltriranih. Također, vidljivo je da povećanjem količine dodanih proteina konoplje prihvaćenost uzoraka sve više pada, pa su tako kod svih razina izmještanosti sokova najbolje ocjenjivani uzorci u koje nisu dodani proteini, dok su najslabije bili prihvaćeni oni u koje je dodana najveća količina proteina (3 g). Ako izuzmemo sve uzorke broj 1 tj. uzorke koje nisi bili obogaćeni proteinima, najbolje je bio prihvaćen uzorak broj 2 kod filtriranih sokova u kojima je omjer sokova naranča:jabuka bio 3:1., a najlošije uzorak 100 %-tnog nefiltriranog soka od jabuke u koji je bilo dodano 3 g proteina konoplje. Ovakvi rezultati nisu neočekivani te samo potvrđuju otprije poznate rezultate istraživanja koji navode kako sve sirovine od konoplje pogoršavaju aromu finalnih proizvoda zbog prisutnosti eteričnih ulja, poput  $\alpha$ -humulena, kariofilena ili kariofilen oksida (Bertoli i sur., 2010).

## 4. ZAKLJUČAK

1. Mjerenjem vodljivosti i TDS-a moguće je pratiti različite izmješanosti sokova, a isto tako i količinu dodanih proteina konoplje.
2. Pokazano je da se NIR spektroskopijom i korištenjem umjetnih neuronskih mreža također mogu pratiti izmješanosti sokova, a isto tako i količina dodanih proteina konoplje.
3. U uzorcima 100 %-tnih sokova naranče, kod ispitanika su najbolje bili prihvaćeni filtrirani sokovi bez dodatka proteina konoplje.
4. U uzorcima u kojima je izmješanost sokova naranča:jabuka bila 75:25, najbolje su bili prihvaćeni filtrirani sokovi bez dodatka proteina konoplje.
6. U uzorcima u kojima su udjeli sokova naranče i jabuke bili podjednaki (50:50), ponovno su najprihvaćeniji bili uzorci filtriranih sokova u koje nisu dodavani proteini konoplje.
7. U uzorcima u kojima je izmješanost sokova naranča:jabuka bila 25:75, također su najprihvaćeniji bili filtrirani sokovi u kojima nisu bili prisutni proteini konoplje.
8. U uzorcima 100 %-tnih sokova jabuke, najbolje su prihvaćeni bili uzorci u koje je dodana minimalna količina proteina konoplje (0,5 g).
9. Na temelju cjeloukupne senzorske analize, ispitanicima su se najprihvaćeniji pokazali uzorci filtriranih sokova bez primjesa, izuzev slučaja 100 %-tnog soka od jabuke.

## 5. LITERATURA

Abdela, W., Graham, M., Habtemariam, T., Samuel, T., Yehualaeshet, T. (2011) Effects of orange juice pH on survival, urease activity and DNA profiles of yersinia enterocolitica and yersinia pseudotuberculosis stored at 4°C. *J. Food Safety*. **31(4)**, 487–496.

Abbot, J. A., Saftner R. A., Gross, K. C., Vinyard, B. T., Janick, J. (2004) Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of ‘Fuji,’ ‘Golden Delicious,’ ‘GoldRush,’ and ‘Granny Smith’ apples. *Postharvest Biol. Tec.* **33**, 127-140.

Abdi, H., Williams, L. J. (2010) Principal component analysis. *Wires. Comput. Stats.* **2(4)**, 433-459.

Agustí, M., Mesejo, C., Reig, C., Martínez-Fuentes, A. (2014) Citrus Production. U: Horticulture: Plants for People and Places (Dixon, G. R. , Aldous, D. E., ured.), Springer Science+Business Media, Dordrecht, str. **159–195**.

Andre, C. M., Hausman, J.F., Guerriero, G. (2016) Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front. Plant Sci.* **7 (19)**.

Anonymous 1 (2019) Slika stabla jabuke s plodovima, < <https://medjimurje.hr/magazin/biljke-i-gljive/jabuka-drvo-omiljena-vocka-u-vasim-vocnjacima-12434/>>. Pristupljeno 12. travnja 2019.

Anonymous 2 (2019) Granny smith, <[https://en.wikipedia.org/wiki/Granny\\_Smith](https://en.wikipedia.org/wiki/Granny_Smith)>. Pristupljeno 13. travnja 2019.

Anonymous 3 (2019) Orange(fruit), <[https://en.wikipedia.org/wiki/Orange\\_\(fruit\)#Nutritional\\_value\\_and\\_phytochemicals](https://en.wikipedia.org/wiki/Orange_(fruit)#Nutritional_value_and_phytochemicals)>. Pristupljeno 3. svibnja 2019.

Anonymous 4 (2019) Slika stable naranče s plodovima, < <https://fotografija.hr/costa-azahar-pokrajina-la-safor-juzna-valencija/>>. Pristupljeno 5. svibnja 2019.

Anonymous 5 (2019) Slika vanjskog izgleda i presjeka naranče “Navelina”, < [https://www.specialtyproduce.com/produce/Navelina\\_Oranges\\_12183.php](https://www.specialtyproduce.com/produce/Navelina_Oranges_12183.php)>. Pristupljeno 14. svibnja 2019.

Anonymous 6 (2019) Prikaz podvrsti *Cannabis sativa* L. <<https://www.substancemarket.com/marijuana-type/>>. Pristupljeno 15. svibnja 2019.



- Amato, F., López, A., Peña-Méndez, E. M., Vaňhara, P., Hampl, A., Havel, J. (2013) Artificial neural networks in medical diagnosis. *J. Appl. Biomed.* **11(2)**, 47–58.
- Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M. (2008) Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structure-activity study. *J. Nat. Prod.* **71**, 1427–1430.
- Bertoli, A., Tozzi, S., Pistelli, L., Angelini, L. G. 2010. Fibre hemp inflorescences: From crop - residues to essential oil production. *Ind. Crop. Prod.* **32(3)**, 329–337.
- Biggs, M., McVicar, J., Flowerdew, B. (2005) Enciklopedija voća, povrća i začinskog bilja (prevela Travašić, K.) Naklada Ulkis, Rijeka, str. 394-485.
- Bors, W., Hellers, W., Michel, C., Saran, M. (1990) Radical chemistry of flavonoids antioxidant. U: *Antioxidants in therapy and preventive medicine* (Emerit, I., ured.), Plenum press, New York, str. 165-170.
- Burstein, S. (2015) Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. *Bioorgan. Med. Chem.* **23**, 1377–1385.
- Callaway, J. C. (2004) Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica.* **140**, 65–72.
- Capita, R., Alonso-Calleja, C. (2003) Intake of nutrients associated with an increased risk of cardiovascular disease in a Spanish population. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **54**, 57-75.
- Civille, G. V. i Oftedal, K. N. (2012) Sensory evaluation techniques — Make “good for you” taste “good.” *Physiol. Behav.* **107(4)**, 598–605.
- Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J.P., Pommery, J., Wallet, J.C., Gaydou, E.M. (1996) Antioxidant properties of hydroxylflavones. *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 35-43.
- Danilova, V., Roberts, T., Hellekant, G. (1999) Response of single taste fibers and whole chorda tympani and glossopharyngeal nerve in the domestic pig, *Sus scrofa*. *Chem. Senses* **24**, 301–16.
- DeLong, G. T., Wolf, C. E., Poklis, A., Lichtman, A. H. (2010) Pharmacological evaluation of the natural constituent of *Cannabis sativa*, cannabichromene and its modulation by 9-tetrahydrocannabinol. *Drug Alcohol Depend.* **112**, 126–133.

- De Petrocellis, L., Ligresti, A., Moriello, A. S., Allarà, M., Bisogno, T., Petrosino, S. (2011) Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *Br. J. Pharmacol.* **163**, 1479–1494.
- Diamant, H., Strom, O. B., Wells, L., Zotterman, C. (1965) A comparison of neural and psychophysical responses to taste stimuli in man. *Acta. Physiol. Scand.* **64(1–2)**, 67–74.
- Diamond, J. B.P., Doolittle, N., Nagata, H., Pamela, D. (2005) Flavor processing: perceptual and cognitive factors in multi-modal integration. *Chem. Senses.* **30(1)**, i232–3.
- Ding, S., Li, H., Su, C., Yu, J., Jin, F. (2011) Evolutionary artificial neural networks: a review. *Artif. Intell. Revi.* **39(3)**, 251–260.
- Di Majo, D., Giammanco, M., La Guardia, M., Tripoli, E., Giammanco, S., Finotti, E. (2005) Flavanones in Citrus fruit: Structure-antioxidant activity relationships. *Food Res. Intern.* **38**, 1161-1166.
- Di Marzo, V., Piscitelli, F. (2015) The endocannabinoid system and its modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics* **12**, 692–698.
- Dukas, L., Willett, W.C., Giovannucci, E. L. (2003) Association between physical activity, fiber intake, and other lifestyle variables and constipation in a study of women. *Am. J. Gastroen.* **98**, 1790-1796.
- Eglash, A., Lane, C.H., Schneider, D.M. (2006) Clinical inquiries. What is the most beneficial diet for patients with diverticulosis? *J. Fam. Pract.* **55**, 813-815.
- Eisohly, H. N., Turner, C. E., Clark, A. M., Eisohly, M. A. (1982) Synthesis and antimicrobial activities of certain cannabichromene and cannabigerol related compounds. *J. Pharm. Sci.* **71**, 1319–1323.
- Elangovan, V., Sekar, N., Govindasamy S. (1994) Chemoprotective potential of dietary bipoflavonoids against 20-methylcholanthrene- induced tumorigenesis. *Cancer Lett.* **87**, 107-113.
- Elsohly, M. A., Slade, D. (2005) Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci.* **78**, 539-548.

- Englund, A. M., Stone, J., Morrison, P. D. (2012) Cannabis in the arm: what can we learn from intravenous cannabinoid studies? *Curr. Pharmaceut. Des.* **18**, 4906–4914.
- Fetterman, P. S., Keith, E. S., Waller, C. W., Guerrero, O., Doorenbos, N. J., Quimby, M. W. (1971) Mississippi-grown *Cannabis sativa* L. Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex, and plant part. *J. Pharm. Sci.* **60**, 1246–1249.
- Gaoni, Y., Mechoulam, R. (1964) Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1646-1647.
- Gerhauser C. (2008) Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple products. *Planta Med.* **74**, 1608– 1614.
- Gilchrist, A., Nobbs, J. (1999) Colorimetry, Theory. U: Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Lindon, C. J., ured.), University of Leeds, Engleska, str. 337–343.
- Guo, H., Kouzuma, Y., Yonekura, M. (2009) Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chem.* **113**, 238–245.
- Huang, Y., Kangas, L. J., Rasco, B. A. (2007). Applications of artificial neural networks (ANNs) in food science. *Crit. Rev. Food Sci.* **47(2)**, 113-126.
- Janick, J. (1974) The apple in Java. *Hortic. Sci.* **9**, 13-15.
- Kamal-Eldin, A., Andersson, R. (1997) A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **74**, 375-380.
- Khan, B., Warner, P., Wang, H. (2014) Antibacterial properties of hemp and other natural fibre plants: a review. *Bioresources* **9**, 3642–3659.
- Haswell, S. J. (1992) *Practical guide to chemometrics*. Marcel Dekker Inc., New York, str. 1-3.
- Hill, A. J., Williams, C. M., Whalley, B. J., Stephens, G. J. (2012) Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in {CNS} disorders. *Pharmacol. Therapeut.* **133**, 79–97.
- Hillig K (2005) Genetic evidence for speciation in *Cannabis* (Cannabaceae). *Genet. Resourc. Crop Evol.* **52**, 161-180.

HunterLab (2008) Insight on Color: CIE  $L^*a^*b^*$  Color Scale. **8**, 7.

Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., Mechoulam, R. (2009) Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends Pharmacol. Sci.* **30**, 515–527.

Karastogianni, S., Girousi, S., Sotiropoulos, S. (2016) pH: Principles and Measurement. U: *The Encyclopedia of Food and Health* (Caballero, B., Finglas, P., Toldrá, F., ured.), Elsevier Ltd., Oxford, str. 333-338.

Kumar, S. K., Logeshkumaran, A., Magesh, N. S., Godson, P. S., Chandrasekar, N. (2015) Hydrogeochemistry and application of water quality index (WQI) for groundwater quality assessment, *Appl. Water Sci.* **5**, 335–343.

Li, H. L. (1973) An archaeological and historical account of cannabis in China. *Econ. Bot.* **28**, 437-444.

Marandi, A., Polikarpus, M., Jöeleht, A. (2013) A new approach for describing the relationship between electrical conductivity and major anion concentration in natural waters, *Appl. Geochemistry* **38**, 103–109.

Mayer, M. A., Harel, E. (1979) Review: polyphenol oxidases in plants, *Phytochem.* **18**, 277 – 282.

Meglen, R. R. (1992) Examining large databases: a chemometric approach using principal component analysis. *Mar. Chem.* **39(1-3)**, 217–237.

Meilgaard, M. C, Carr, B. P., Civille G. V. (2007) Sensory evaluation techniques, 4. izd., C&C Press, Taylor Francis Group, London.

Mehmedic, Z., Chandra, S., Slade, D., Denham, H., Foster, S., Patel, A. S., Ross, S. A., Khan, I. A., Elsohly, M. A. (2010) Potency trends of  $\Delta^9$ -THC and other cannabinoids in confiscated cannabis preparations from 1993 to 2008. *J. Forensic. Sci.* **55**, 1209-1710.

Moujabber, M. E., Samra, B. B., Darwish, T., Atallah, T. (2006) Comparison of different indicators for groundwater contamination by seawater intrusion on the Lebanese coast. *Water Resour. Manag.* **20**, 161–180.

Mouly, P.P., Arzouyan, C.R., Gaydou, E.M., Estienne, J.M. (1994) Differentiation of citrus juices by factorial discriminant analysis using liquid chromatography of flavonone glycosides. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 70-79.

Odani, S., Odani, S. (1998) Isolation and primary structure of a methionine and cystine-rich seed protein of *Cannabis sativa L.* *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 650–654.

Parker, M. (2018) Tree Fruits and Nuts. U: *Extension Gardener Handbook* [online](Moore, K. A., Bradley, L. K., ured.), North Carolina NC State Extension, Raleigh, <[https://content.ces.ncsu.edu/extension-gardener-handbook/15-tree-fruit-and-nuts#section\\_heading\\_9399](https://content.ces.ncsu.edu/extension-gardener-handbook/15-tree-fruit-and-nuts#section_heading_9399)>. Pristupljeno 11. svibnja 2019

Pasquini, C. (2003) Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *J. Brazil. Chem. Soc.* **14(2)**, 198–219.

Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., Holden, J. M. (2006) Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J. Food Compos. Anal.* **19**, 66–73.

Potter, D., Clark, P., Brown, M. (2008) Potency of  $\Delta^9$ -THC and other cannabinoids in cannabis in England in 2005: Implications for psychoactivity and pharmacology. *J. Forensic. Sci.* **53**, 90-94.

Ruhlman, K. T., Jin, Z. T., Zhang, Q. H. (2001) Physical properties of liquid foods for pulsed electric fields treatment. U: *Pulsed Electric Field in Food Processing: Fundamental Aspect and Application* (Barbosa-Cánovas, G. V., Zhang, Q.W., ured.) Technomic Publishing, Pennsylvania, str.45–56.

Russo, E. B., Jiang, H. E., Li, X., Sutton, A., Carboni, A., del Bianco, F., Mandolino, G., Potter, D. J., Zhao, Y. X., Bera, S., Zhang, Y. B., Lü, E. G., Ferguson, D. K., Hueber, F., Zhao, L. C, Liu, C. J., Wang, Y. F., Li, C. S. (2008) Phytochemical and genetic analyses of ancient Cannabis from Central Asia. *J. Exp. Bot.* **59**, 4171–4182.

Schieber, A., Stintzing, F.C., Carle, R. (2001) Byproducts of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. *Trends Food. Sci. Tech.* **12**, 401-413.

Schoor, D., Holt, J. E. (1977) The effects of storage time and temperature on the bruising of Jonathan, delicious and granny smith apples. *J. Texture. Stud.* **8**, 409-416.

Schultes, R. E., Klein, W. M., Plowman, T., Lockwood, T. E. (1974) Cannabis: an example of taxonomic neglect. *Bot. Mus. Leaflet. Harvard Univ.* **23**, 337-367

Sinha, K. N. (2012) Apples and Pears: Production, Physicochemical and Nutritional Quality, and Major Products. U: *Handbook of Fruits and Fruit Processing* (Sinha, K. N., Sidhu, J. S., Barta, J., Wu, J. S. B., Cano, M. P., ured.), 2. izd., John Wiley & Sons Ltd., New Jersey, str. 367- 385.

Skoglund, G., Nockert, M., Holst, B. (2013) Viking and early Middle Ages northern Scandinavian textiles proven to be made with hemp. *Sci. Rep.* **3**, 2686.

Stavric B (1993) Antimutagens and anticarcinogens in foods. *Food Chem. Toxicol.* **32**, 79-90.

Stigter, T. Y., Ribeiro, L., Carvalho, D. (2006) Application of a groundwater quality index as an assessment and communication tool in agro-environmental policies - Two Portuguese case studies *J. Hydrol* **327**, 578-891.

Strgar Kurečić, M. (2014) Osnove o boji, <[http://repro.grf.unizg.hr/media/download\\_gallery/OSNOVE %20 %20BOJI.pdf](http://repro.grf.unizg.hr/media/download_gallery/OSNOVE%20%20BOJI.pdf)>. Pristupljeno 2. lipnja 2019.

Tang, C. H., Wang, X. S., Yang, X.Q. (2009) Enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa L.*) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Food Chem.* **114**, 1484–1490

Toh, J. Y., Tan, V. M. H., Lim, P. C. Y., Lim, S. T., Chong, M. F. F. (2013). *Flavonoids from Fruit and Vegetables: A Focus on Cardiovascular Risk Factors. Curr. Atheroscler. Rep.* **15**, 368-375.

Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D., & Giammanco, M. (2007) Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chem.* **104**, 466–479

USDA (2015) Food Composition Databases. USDA- United states department of Agriculture. <<https://www.ndb.nal.usda.gov>>. Pristupljeno 8. svibnja 2019.

UNODC (2018) World Drug Report 2018. UNODC- United Nations Office on Drugs and Crime. < <https://www.unodc.org/wdr2018>.>. Pristupljeno 15. svibnja 2019.

Van Bakel, H., Stout, J. M., Cote, A. G., Tallon, C. M., Sharpe, A. G., Hughes, T. R., Page, J. E. (2011) The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*. *Genome Biology*, **12**(10).

Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F. (2004) Quantitation of Polyphenols in Different Apple Varieties. *J. Agric. Food Chem.* **52**(21), 6532-8.

Vaughan, J.G., Geissler, C.A. (2009) *The New Oxford Book of Food Plants*, 2. izd., Oxford Univ. Press, Oxford, str. 52-92.

Zhang, J., Yang, Z. Q., Liang, Y., Zhang, L., Ling, W., Guo, C., Liang, G., Luo, G., Ye, Q., Zhong, B. (2018) Effects of postharvest time, heat treatment, pH and filtration on the limonin content in Newhall navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck cv. Newhall) juice. *Molecules* **23**, 2691.

Zias, J., Stark, H., Sellgman, J., Levy, R., Werker, E., Breuer, A., Mechoulam, R. (1993) Early medical use of cannabis. *Nature*. **363**, 215.

Walton, N. R. G. (1989) Electrical conductivity and total dissolved solids—what is their precise relationship? *Desalination*. **72**(3), 275-292

Whelton, S.P., Hyre, A.D., Pedersen, B., Yi, Y., Whelton, P.K., He, J. (2005) Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J. Hypertens.* **23**, 475-481.

Wolfe, K., Wu, X.Z., Liu, R.H. (2003) Antioxidant activity of apple peel. *J. Agric. Food Chem.* **51** (3), 609-614.

Xu, Q., Chen, L. L., Ruan., X., Chen, D., Zhu, A., Chen., C. Bertrand, D., Jiao, W. B., Hao, B.H., Lyon, M.P., Chen, J., Gao, S., Xing, F., Lan, H., Chang, J. W., Ge, X., Lei, Y., Hu, Q., Miao, Y., Wang, L., Xiao, S., Biswas, M. K., Zeng, W., Guo, F., Cao, H., Yang, X., Xu, X. W., Cheng, Y. J., Xu, J., Liu, J. H., Luo, O. J., Tang, Z., Guo, W. W., Kuang, H., Zhang, H. Y., Roose M. L., Nagaraian, N., Deng, X. X., Ruan, Y. (2013) The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). *Nat. Genet.* **45**, 59-66.

Xiaobo, Z., Jiewen, Z., Yanxiao, L. (2007) Apple color grading based on organization feature parameters. *Pattern Recogn. Lett.*, **28**, 2046-2053.



## 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.



---

ime i prezime studenta

