

Utjecaj sorte na bioaktivni potencijal ploda žižule

Rebić, Pia

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:757392>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-29**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologij**

**Pia Rebić
0058218320**

Utjecaj sorte na bioaktivni potencijal ploda žižule

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Kemija i tehnologija voća i povrća

Mentor: doc. dr. sc. Maja Repajić

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj sorte na bioaktivni potencijal ploda žižule

Pia Rebić, 0058218320

Sažetak: Žižule poznate i kao kineske datulje imaju impresivan nutritivni profil: sadrže vitamin C, fenole, flavonoide, triterpenske kiseline i polisaharide. Upravo zbog pristnosti bioaktivnih spojeva, žižule karakterizira i visok antioksidacijski kapacitet, koji također pozitivno utječe na ljudsko zdravlje i prevenciju od bolesti. Cilj ovog rada bio je ispitati bioaktivni potencijal ploda različitih sorti žižula uzgojenih u Republici Hrvatskoj te u proizvedenim ekstraktima odrediti udio ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet FRAP i DPPH metodama. Dobiveni rezultati pokazali su da sorta LONG ZHAO sadrži najviši udio ukupnih fenola, a najniži sorta LANG-2. stablo. Prilikom određivanja antioksidacijskog kapaciteta FRAP i DPPH metodom, najviša vrijednost određena je u sorti R₃P₆, a najniža u sorti Lang-2. stablo.

Ključne riječi: plod žižule, fenolni spojevi, antioksidacijski kapacitet, FRAP, DPPH

Rad sadrži: 24 stranice, 8 slika, 1 tablicu, 24 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Maja Repajić

Pomoć pri izradi: Ena Cegledi, mag. ing. techn. aliment.

Datum obrane: 17. lipnja 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering
Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits and Vegetables

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Influence of the cultivar on the bioactive potential of jujube fruit
Pia Rebić, 0058218320

Abstract: Jujubes, also known as Chinese dates, have an impressive nutritional profile: they contain vitamin C, phenols, flavonoids, triterpenic acids and polysaccharides. Precisely because of the presence of the bioactive compounds, jujube is characterized by a high antioxidant capacity, which also has a positive effect on human health and disease prevention. The aim of this work was to examine the bioactive potential of the fruit of different jujube cultivars grown in the Republic of Croatia and to determine the content of total phenols and antioxidant capacity in the extracts produced using FRAP and DPPH methods. The results obtained show that the LONG ZHAO cultivar contains the highest content of total phenols, while the cultivar Lang-2nd tree contains the lowest. When the antioxidant capacity was determined by the FRAP and DPPH methods, the highest value was found in the cultivar R₃P₆ and the lowest in the cultivar Lang-2nd tree.

Keywords: jujube fruit, phenolic compounds, antioxidant capacity, FRAP, DPPH

Thesis contains: 24 pages, 8 figures, 1 table, 24 references, 0 supplements

Original in: Croatian

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

Mentor: Maja Repajić, PhD, Assistant Professor

Technical support and assistance: Ena Cegledi, MSc.

Thesis defended: June 17th 2024

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1.1. ŽIŽULA.....	2
2.1.2. UZGOJ ŽIŽULA U HRVATSKOJ	3
2.2. SORTE ŽIŽULA.....	3
2.3. KEMIJSKI SASTAV PLODA ŽIŽULE	4
2.4. FENOLNI SPOJEVI ŽIŽULE.....	5
2.5. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET ŽIŽULE	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1. MATERIJALI	9
3.1.2. KEMIKALIJE I STANDARDI.....	10
3.1.3. APARATURA I PRIBOR.....	12
3.2. METODE.....	13
3.2.1. EKSTRAKCIJA FENOLNIH SPOJEVA.....	13
3.2.2. ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLA.....	13
3.2.3. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDACIJSKOG KAPACITETA FRAP METODOM	14
3.2.4. ODREĐIVANJE ANTIOKSIDACIJSKOG KAPACITETA DPPH METODOM.....	15
3.2.5. OBRADA PODATAKA	16
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	17
4.1. UDIO UKUPNIH FENOLA.....	17
4.2. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET FRAP METODOM	19
4.3. ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET DPPH METODOM.....	20
5. ZAKLJUČCI	21
6. POPIS LITERATURE	22

1. UVOD

Opće je poznato da je voće sastavni i nužan dio ljudske prehrane. Žižule, poznatije kao kineske datulje, potječu iz istočne Azije te su jedno od najbrojnijeg voća u Kini, a potječu još iz doba neolitika. Njihovoj brojnosti zasigurno ide u korist i njihova otpornost na nepovoljne uvjete raste te se može pronaći oko 800 različitih sorti. U Hrvatskoj se mogu pronaći od Istre do najjužnijih dijelova Hrvatske, a služe uglavnom kao ukrasna biljka pri uređenju vrtova.

Žižule imaju impresivan nutritivni profil: sadrže vitamin C, fenole, flavonoide, triterpenske kiseline i polisaharide. Također, pozitivno utječu na organizam zbog sadržaja fenolnih spojeva koji su usko vezani uz rast, pigmentaciju, reprodukciju i otpornost na određene patogene i bolesti.

Od fenolnih spojeva u plodu žižule određeni su katehin, epikatehin, spinosin, galna kiselina, klorogenska kiselina, ferulinska kiselina i kafeinska kiselina. Sadržaj fenolnih spojeva može varirati ovisno o sorti. Primjerice, sorta Nummularia sadrži viši udio fenola (304,4 mg GAE/100 g uzorka) u usporebi sa sortom Mauritiana koja sadrži 207,6 mg GAE/100 g uzorka fenola.

Upravo zbog pristnosti bioaktivnih spojeva, žižule karakterizira i visok antioksidacijski kapacitet, koji također pozitivno utječe na ljudsko zdravlje i prevenciju od bolesti. Neke od zdrastvenih prednosti koje žižule pružaju su jačanje imunološkog sustava, zaštita jetre, pomoć u gubitku težine, sedativno djelovanje te zaštita stanica od oksidativnog stresa. Neki pozitivni učinci su i znanstveno potkrijepljeni pa su tako kineski znanstvenici objasnili kako ekstrakt žižule ima povoljan učinak na mozak. S druge strane postoji još mnogo prostora za istraživanje, pogotovo u našim krajevima gdje žižule nisu prepoznate kao tako vrijedne te je njihov uzgoj vrlo skroman.

Cilj ovog rada bio je ispitati bioaktivni potencijal ploda različitih sorti žižula te u proizvedenim ekstraktima odrediti udio ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet dvjema metodama, FRAP i DPPH.

2. TEORIJSKI DIO

2.1.1. Žižula



Slika 1. Kineska datulja (Liu i sur., 2020)

Plod žižule (lat. *Ziziphus jujuba* Mill.) (slika 1) potječe još iz doba neolitika. Žižula je porijeklom iz Kine, a kasnije se proširila u Japan, Koreju i ostale susjedne zemlje sa sušnim staništem pa tako i na područje Mediterana. Najbrojnije je voće u Kini te je više od 95 % proizvodnje žižula koncentrirano u Kini. Smatra se jednim od najstarijih kultiviranih vrsta voća u Kini i svijetu. Žižula je listopadna vrsta koja pripada rodu *Ziziphus* te obitelji krkavina (*Rhamnaceae*) (Liu i sur., 2020). Veoma je popularna kod uzgajivača zbog svoje otpornosti na visoke temperature, sušu i neplodno tlo. Stablo žižule može narasti do visine od čak 9 m, no uglavnom se može pronaći kao niže grmoliko stablo koje ujedno i olakšava berbu plodova. Ima vrlo gustu krošnju, trnovite grane i kožne listove. Cvate sitnim cvjetovima tijekom svibnja i lipnja, dok su plodovi u nijansama crvene, narančaste i smeđe boje te dozrijevaju u jesen. Naborana kora ploda ukazuje da je plod potpuno zreo te je meso tada potpuno mekano (Sušanji i sur., 2020). U Kini se biljka pokazala i kao medonosna, dok u drugim dijelovima svijeta ne privlači pčele (Zerrouk i sur., 2017). Plod žižule se može konzumirati i u osušenom obliku, no uglavnom se konzumira kao svjež. Rok trajanja svježeg proizvoda je vrlo kratak te se plod brzo kvari što predstavlja i glavni problem nakon berbe (Siddiq i Uebersax, 2012).

2.1.2. Uzgoj žižula u Hrvatskoj

U Hrvatskoj je žižula poznata pod nazivom obična žižulja ili kineska datulja. Malo je raširena, no može se pronaći od Istre do najjužnijih dijelova Hrvatske te je u prošlosti bila zastupljenija nego danas uglavnom kao ukrasna biljka (Sušanjanj i sur., 2020). Najpoznatiji proizvođači žižula su Skradinjani te prema usmenim kazivanjima starijih Skradinjana, kad bi se dogodilo da zbog vremenskih uvjeta neke godine voćke slabo rode, žižula bi uvijek davala plod. Skradin je ujedno i jedan od prostora s mediteranskom klimom gdje se tradicijski sadi ova kultura. Na području Dalmacije komercijalnog uzgoja žižula nikada nije bilo te se plodovi prodaju na lokalnim tržnicama. Grad Omiš je također poznat po uzgoju žižule na području Splitsko-dalmatinske županije (Ozimec i sur., 2015). Stablo žižule predstavlja ukrasnu biljku prvenstveno zbog svog habitusa. Zgrbljene, donekle viseće i povijene grane koje rastu nelinearno, nesimetrično, „neorganizirano“, često vijugavo u svim smjerovima i naglo mijenjajući smjer svoga rasta, tvore vrlo neobičnu pojavu i nalikuju na skulpture.

Žižula je osjetljiva prema jakim sjevernim i južnim vjetrovima pa se uzgaja na zaštićenim položajima. Ne podnosi alkalna i karbonatna tla, no raste na dubokim, lakim i plodnim vrtnim tlima (Miljković, 1991). Žižula se rijetko koristi u klasičnim ukrasnim vrtovima, već više kao vrsta s ljekovitim svojstvima. Kosić-Vitasović (2020) u svojem je istraživanju o samoniklim tradicionalno korištenim voćnim vrstama u mediteranskom dijelu Hrvatske otkrila i jednu sortu žižula „Mill“ koja se konzumira u svježem stanju te služi kao dodatak za rakiju.

2.2. Sorte žižula

Uzgoj u Kini broji između 700 i 800 različitih sorti žižule. Sorte se biraju ovisno o namjeni za koju će se plod koristiti. Učestale su ukrasne sorte koje se koriste za uređenje vrtova.

U vodeće sorte ubrajaju se:

Li - karakteristični su okrugli i veliki plodovi (u narodu je zbog toga nazivaju jabukolikom žižulom), dobre kvalitete, slatki i sočni, težine do 90 g koji su za konzumaciju u svježem stanju te dozrijeva od početka rujna do sredine listopada.

Lang – veliki plodovi, kruškolikog oblika, pogodni za sušenje, veoma osjetljivi na pucanje ukoliko kiši za vrijeme sazrijevanja. Plodovi su zreli tijekom rujna i listopada. Specifično je što stablo gotovo da i nema trnja.

Sugar Cane – ukrasna sorta, plodovi se mogu konzumirati i u svježem stanju i sušiti. Plod je okruglog oblika, srednje veličine, dobrog okusa te dozrijeva tijekom listopada.

Pojedinačna stabla ili nasadi podignuta radi istraživanja mogu se pronaći u SAD-u, dok se komercijalno uzgaja u Kini.

Honey Jar – vrlo male veličine plodova, okrugli, iznimne kvalitete, slatki i hrskavi za upotrebu u svježem stanju. Dozrijeva od sredine pa do kraja rujna.

Shanxi Li – u Kini jedna od iznimno važnih sorti za konzumaciju u svježem stanju. Srednje do veliki plodovi, dobre kvalitete te se dozrijevanje odvija tijekom rujna i listopada.

GA-866 – veliki, izduženi i zašiljeni plodovi na vrhovima, odlične kakvoće s visokim udjelom šećera. Uzgajaju se u SAD-u te dozrijevaju kada i sorta „Lang“.

Sihong – konzumira se u svježem stanju i veoma je pogodna za sušenje. Uzgaja se u Kini te dozrijeva sredinom sezone.

Shanxi Jun – uzgaja se u Kini, u provinciji Shanxi. Plodovi imaju malo sjeme obavijeno tankom kožicom te ih opisuje tamno smeđa boja kada su zreli.

Abberville – veoma rodna sorta, no primarno je ukrasna sorta jer plodovi ostaju na granama 1 do 3 tjedna nakon opadanja lišća te sam plod nije dobre kvalitete (Sušanj i sur., 2020).

Chen i sur. (2018) su utvrdili da je sorta Junzao sadržavala vrlo niske razine bjelančevina, ukupnih šećera i ukupnih titrirajućih kiselina. Sorta Huizao pokazala je srednju razinu omjera šećera i kiseline te srednju razinu askorbinske kiseline, dok je sorta Dazao pokazala visoke razine bjelančevina, šećera i ukupnih kiselina.

Višnjavec Miklavčić i sur. (2018) u svojem su istraživanju pokazali da se na istarskom poluotoku nalaze poznate sorte Li i Lang te da je najraširenija lokalna sorta „Navadna žižola“. Utvrđeno je i da domaća sorta ima manji plod od sorte Li i Lang.

2.3. Kemijski sastav ploda žižule

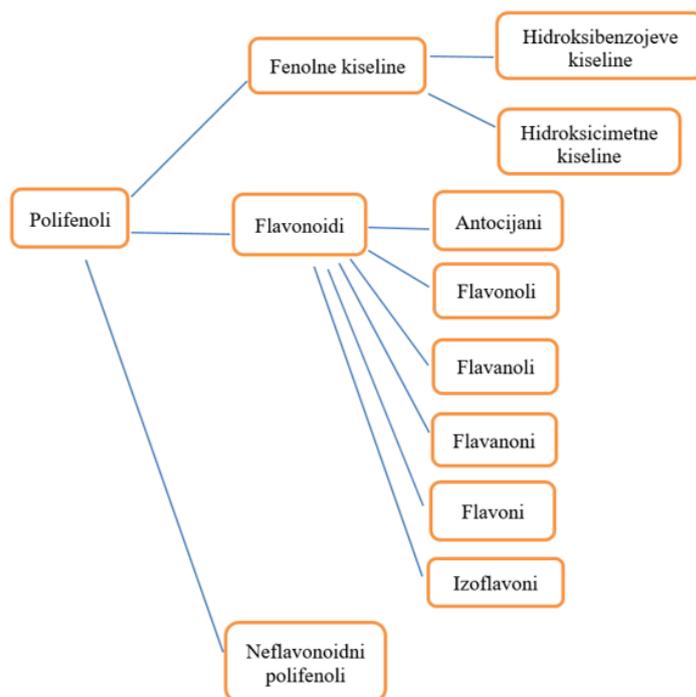
Kader i sur. (1982) navode da kineske žižule u usporedbi s većinom drugog svježeg voća imaju niži sadržaj vode i titrirajuće kiselosti te viši sadržaj šećera i fenola. Glavni minerali u žižuli su fosfor, kalij, kalcij i mangan. No, prisutne su i velike količine natrija, cinka, bakra i željeza. Askorbinska kiselina (vitamin C) također zauzima veliki udio u žižulama, što je navedeno u drugim istraživanjima (Pareek, 2013). Žižule su vrlo hranjive, jer imaju visok sadržaj flavonoida, vitamina B1 i B2. Rahman i sur. (2018) primijetili su da je 51,99-71,75 % kineske žižule jestivo, od toga jestivi dio sadrži 82,35-89,63 % ugljikohidrata, 4,43-6,01 % bjelančevina, 0,48-0,63 % lipida, 2,80-4,80 % polisaharida, 45,64-88,97 mg/100 g askorbinske kiseline, 132,16-196,58 mg/100 g fenola i 101,17-132,04 mg/100 g flavonoida.

Većinu šećera predstavljaju glukoza, fruktoza, saharoza, ramnoza i sorbitol te se nalaze u plodu žižule. Također, žižulu karakterizira i visoki sadržaj dijetalnih vlakana i fruktoze koji

reguliraju probavu tako što reguliraju razine šećera u krvi (Tahergorabi i sur., 2015). U plodu žižule može se pronaći i veliki udio polisaharida koji imaju utjecaj na antioksidacijski stres, imunološki sustav, hipoglikemijske aktivnosti, zaštitu gastrointestinalnog trakta te imaju antitumorska svojstva (Ji i sur., 2017). Žižula je izvor i esencijalnih masnih kiselina te su najznačajnije: oleinska, linolna i palmitinska (Sušanjan i sur., 2020). Osobito se ističe linolna kiselina (omega-6) (San i Yildirim, 2010) koju ljudsko tijelo ne može samo proizvesti (Simopoulos, 2008). Alkaloidi su sveprisutni u dijelovima biljke žižule pa su tako iz kore stabla izolirani mauritin A, mukronin D, amfibin H, numularin A-B, sativanin A-H i K, frangulanin, jubanin A-C, skutianin C-D i zizifin (Mahajan i Chopda, 2009; Tripathi i sur., 2001), dok su iz lišća izolirani koklaurin, isoboldin, norsiboldin, asmilobin, iusifin i iusirin (Kang i sur., 2015; Mahajan i Chopda, 2009).

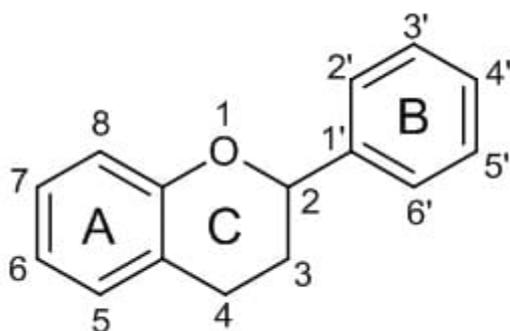
2.4. Fenolni spojevi žižule

Fenolni spojevi ili polifenoli jedna su od najvećih grupa fitokemikalija te su u visokom udjelu prisutni kod mnogih biljnih vrsta. U organizam dopijevaju unosom raznolikog voća i povrća, sjemenki, žitarica i biljnih napitaka. Prema brojnim istraživanjima dokazano je da djeluju kao snažni antioksidansi koji potpomažu funkciji antioksidacijskih vitamina i enzima u obrani protiv oksidativnog stresa, djeluju protuupalno te imaju razne druge pozitivne učinke na zdravlje (De la Rosa i sur., 2019; Zhang i Tsao, 2016; Stevenson i Hurst, 2007). Većina polifenola u biljkama postoje kao glikozidi s različitim jedinicama šećera i aciliranim šećerima koji se nalaze na različitim pozicijama na polifenolnom kosturu. Sastoji se od najmanje jednog benzenskog prstena na koji su direktno vezane dvije ili više fenolnih hidroksilnih skupina. Mogu se podijeliti na temelju kemijske strukture aglikona: fenolne kiseline, flavonoidi, polifenolni amidi i ostali polifenoli (slika 2).



Slika 2. Prikaz podjele polifenolnih spojeva prema osnovnoj kemijskoj strukturi (prema Tsao, 2010; Manach i sur., 2004)

Fenolne kiseline sekundarni su biljni metaboliti. Nastaju kao odgovor na okolišne čimbenike (svjetlo i temperatura), a ujedno su i jedne od ključnih molekula za njihov rast i širenje. Fenolni prsten glavni je sastojak fenolnih kiselina, dok su hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline glavni predstavnici skupine (Zheng i Tsao, 2016). Flavonoidi su sastavni dio ljudske prehrane (prosječni unos u SAD-u je 1 g/dan), no važnost današnjih istraživanja je na njihovom antioksidacijskom učinku gdje djeluju kao reducensi - uklanjaju slobodne radikale i sprječavaju oksidaciju biološki aktivnih molekula. Flavonoide čine tri prstenaste strukture s C6-C3-C6 oblikom (slika 3), koje stvaraju različite podskupine flavonoida kao što su flavoni, flavanoni, flavonoli, flavanonoli, izoflavonoidi i antocijanidini (Pažur, 2017).



Slika 3. Molekularna struktura jezgre flavonoida (prema Pažur, 2017)

Tri flavonoida: spinosin, 6-sinapoilspinosin, 6-feruloilspinosin su izolirani i pročišćeni iz žižule (Bai i sur., 2010). Riaz i sur. (2021) utvrdili su da je najveći udio fenola ploda (304,4 mg GAE/100 g uzorka), fenola lista (314,2 mg GAE/100 g uzorka), flavonoida ploda (123,7 mg QE/100 g uzorka) i flavonoida lista (113,4 mg QE/100 g uzorka) u sorti žižula Nummularia. S druge strane, najniži udio fenola lista (234,5 mg GAE/100 g uzorka) i fenola ploda (207,6 mg GAE/100 g uzorka) pronađeni su u sorti Mauritiana, a najniži udio flavonoida lista (87,9 mg QE/100 g uzorka) i flavonoida ploda (95,6 mg QE/100 g uzorka) pronađeni su u sorti Spinachristi. Prema istraživanju Reche i sur. (2021), sorta GAL-E imala je najviši udio fenola, odnosno 574,08 mg GAE/100 g uzorka.

2.5. Antioksidacijski kapacitet žižule

U živim sustavima prehrambeni antioksidativni spojevi poput polifenolnih spojeva, vitamina E te askorbinske kiseline imaju sposobnost zaštititi organizam od oksidativnog oštećenja (Li i sur., 2005). Kod biljaka su fenolni spojevi vrlo važni, jer su usko vezani uz rast, pigmentaciju, reprodukciju i otpornost na određene patogene i bolesti (Ghasemzadeh i sur., 2011.). Ti spojevi mogu varirati ovisno o stupnju zrelosti ploda te prolaze kroz procese biosinteze koji proizvode promjene u sastavu i sadržaju karotenoida (Prasanna i sur., 2007). Prethodno navedeno uzrok je visokog antioksidacijskog potencijala žižula s velikom dobrobiti za ljudsko zdravlje i prevenciju bolesti kao što su rak, starenje stanica i kardiovaskularne bolesti (Dai i sur., 2010).

Sama antioksidacijska aktivnost odgovor je na već znanu tezu da pomažu u neutralizaciji slobodnih radikala koji su štetni za zdravlje te se samim time smanjuje oksidativno oštećenje stanica (Prior i sur., 2004). A razlog velike količine slobodnih radikala je taj što se oni stalno stvaraju u tijelu radi kontakta s vanjskim svijetom, bilo to disanje, vanjsko onečišćenje, izloženost zračenju ili neki sasvim drugi čimbenici.

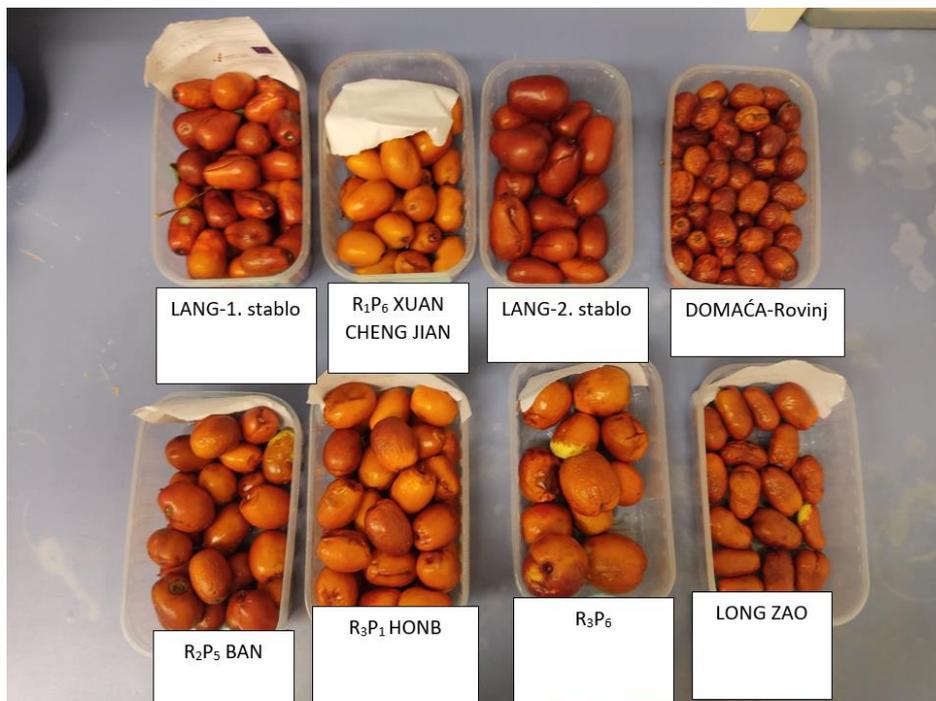
Postići što bolju vrijednost antioksidacijskog kapaciteta kod voća i povrća nije lak zadatak jer postoje mnoge metode za određivanje te aktivnosti te ista može biti ovisna o mnogim čimbenicima kao što su vrsta oksidirajućeg supstrata, uvjeti oksidacije, mjereni parametri, analitičke metode ili koncentracije (Frankel i sur., 2000). Dvije danas najčešće korištene metode za procjenu antioksidativnog djelovanja u hrani i biološkim sustavima su željezni tiocijanat (FTC) te 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Kod DPPH metode spojevi reagiraju sa slobodnim radikalom te dolazi do njegove redukcije (Brand-Williams i sur., 1995). Sam test se temelji na sposobnosti uklanjanja antioksidansa u ekstraktu namijenjenom za mjerenje antioksidacijskog kapaciteta (Kedare i Singh, 2011).

Utvrđeno je nedavno visoko antioksidacijsko djelovanje ekstrakata iz različitih dijelova ploda žižule kao što su kora, pulpa i sjemenke kao posljedica visoke razine fenolnih spojeva od kojih su u velikoj mjeri prisutni klorogenska kiselina, galna kiselina te kafeinska kiselina (Zhao i sur., 2014). Reche i sur. (2021) u svojem su istraživanju pomoću FRAP metode dobili raspon vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta od 23,56 do 109,87 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka, dok su se vrijednosti dobivene DPPH metodom, koje su dobili Gao i sur. (2011), kretale između 26,81 i 56,32 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka te je vrsta Lingbaozao imala najvišu određenu vrijednost.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati bioaktivni potencijal ploda različitih sorti žižula uzgojenih u Republici Hrvatskoj te u proizvedenim ekstraktima spektrofotometrijski odrediti udio ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet pomoću FRAP i DPPH metoda.

3.1. Materijali



Slika 4. Plodovi ispitivanih sorti žižula prije liofilizacije (*vlastita fotografija*)

U ovom istraživanju korišteni su liofilizirani plodovi različitih sorti žižula, koji su ubrani tijekom 2022. godine u voćnjaku u Istri. Ispitivane sorte žižula navedene su u tablici 1. Svježi uzorci (slika 4) su zamrznuti pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 24 h, a zatim liofiliziranih 8 h pri $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$. Neposredno prije ekstrakcije, liofilizirani uzorci su usitnjeni pomoću električnog mlinca.

Tablica 1. Ispitivane sorte žižula

Uzorak	Sorta
1	R ₁ P ₆ XUAN CHENG JIAN
2	R ₂ P ₅ BAN
3	R ₃ P ₁ HONB
4	R ₃ P ₆
5	LONG ZHAO
6	DOMAĆA-Rovinj
7	LANG-1. stablo
8	LANG-2. stablo

3.1.2. Kemikalije i standardi

- Etanol, 96 %-tni (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- Etanol 30 %-tni
Priprema: S obzirom na potrebni volumen 30 %-tnog etanola izračuna se potrebni volumen 96 %-tnog etanola, a tikvica se zatim nadopuni destiliranom vodom do oznake.
- Destilirana voda
- Folin-Ciocalteu reagens (Merck KgaA, Darmstadt, Njemačka)
- Natrijev karbonat, anhidrid (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
- Zasićena otopina natrijeva karbonata, 20 %-tna otopina
Priprema: 200 g anhidrida natrijeva karbonata otopi se u 800 mL vruće destilirane vode te ohladi na sobnu temperaturu. Zatim se doda nekoliko kristalića natrijeva karbonata, nadopuni se u odmjernoj tikvici od 1000 mL i filtrira nakon 24 h.
- Galna kiselina (Sigma Aldrich, St. Louis, SAD), 5 mg/mL
Priprema: odvaži se 500 mg galne kiseline u plastičnoj ladici te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu. Odmjerna tikvica se do oznake nadopuni destiliranom vodom.
- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox) (Sigma Aldrich, St. Louis, SAD), 2 mM
Priprema: odvaži se 0,0501 g Troloxa i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL koja se nadopuni do oznake 96 %-tnim etanolom.
- Klorovodična kiselina, 37 %-tna (Carlo Erba, Milano, Italija)
- Klorovodična kiselina, 40 mM

Priprema: otpipetira se 330 μ L 37 %-tne klorovodične kiseline i nadopuni destiliranom vodom u odmjernoj tikvici od 100 mL.

- 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) (Sigma Aldrich, St. Louis, SAD)
- TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin), 10 mM

Priprema: odvažuje se 0,0312 g TPTZ-a u plastičnoj lađici za vaganje i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 10 mL te nadopuni do oznake s 40 mM klorovodičnom kiselinom.

- Željezo (III)-klorid heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$), 20 mM otopina

Priprema: odvažuje se 0,541 g željezo (III)-klorida heksahidrata u plastičnoj lađici za vaganje i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te nadopuni do oznake s destiliranom vodom.

- Glacijalna octena kiselina, 99-100 %-tna (Carlo Erba, Milano, Italija)
- Natrij-acetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$) (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Acetatni pufer, 0,3 M, pH 3,6

Priprema: odvažuje se 3,1 g natrij-acetat trihidrata u plastičnoj lađici za vaganje i kvantitativno prenese pomoću destilirane vode u odmjernu tikvicu volumena 1 L, u nju se potom otpipetira 16 mL glacijalne octene kiseline i nadopuni se destiliranom vodom do oznake.

- FRAP reagens

Priprema: u staklenoj čaši volumena 50 mL pomiješa se 20 mL acetatnog pufera (0,3 M), 2 mL TPTZ reagensa i 2 mL željezo (III)-klorida u omjeru 10:1:1.

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

Priprema: 0,0079 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala se odvažuje u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL. DPPH je potrebno je čuvati na tamnome u zatvorenoj tikvici.

- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina (Trolox) (Sigma Aldrich, St. Louis, SAD), 20 mM

Priprema: Potrebno je pripremiti otopinu Troloxa u koncentraciji 0,02 mol/L. 500 mg Troloxa se odvažuje u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu i nadopuni do oznake metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL. Otopinu Troloxa potrebno je čuvati na tamnom (tikvica se zamota u aluminijsku foliju) i koristi se uvijek svježe pripremljena otopina standarda.

3.1.3. Aparatura i pribor

Aparatura:

- Analitička vaga (Ohaus, Parsippany, SAD)
- Ultrazvučna kupelj (DT 512 H, Bandelin Electronic, Berlin, Njemačka)
- Vortex uređaj (MS2 Minishaker, IKA, Staufen, Njemačka)
- Spektrofotometar (UV-1600PC Spectrophotometer, VWR, Pennsylvania, SAD)
- Vodena kupelj (Waterbath WNB 14, Memmert, Schwabach, Njemačka)
- Električni mlinac Waring WSG30 (Sprzęt Laboratoryjny i Medyczny Labpartner KBS, Varšava, Poljska)
- Liofilizator Alpha 1-4 LSCPlus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Njemačka)

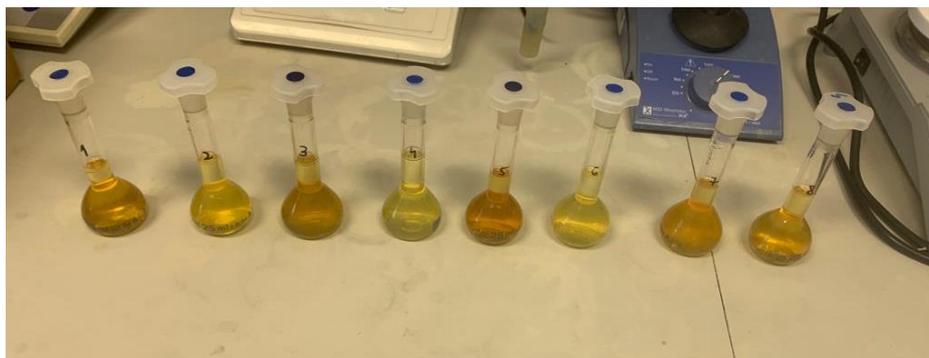
Pribor:

- Plastične Falcon epruvete (50 mL)
- Staklene epruvete
- Menzure (50 mL)
- Staklene čaše
- Odmjerne tikvice (10, 25 i 100 mL)
- Stakleni lijevci
- Filter-papir
- Metalne žličice
- Plastične ladice
- Aluminijska folija
- Mikropipete Eppendorf (100, 1000 i 5000 μ L)
- Nastavci za mikropipete Eppendorf
- Kivete

3.2. Metode

3.2.1. Ekstrakcija fenolnih spojeva

Ekstrakcija fenolnih spojeva iz liofiliziranih uzoraka plodova žižule provodi se na način da se prvo odvaži 1 g uzorka usitnjenog liofiliziranog uzorka u plastičnu Falcon epruvetu te se doda 20 mL ekstrakcijskog otapala (30 %-tna vodena otopina etanola). Dobivena smjesa izmiješa se na Vortex uređaju te se ekstrakcija provodi 20 min u ultrazvučnoj kupelji pri 50 °C. Po završetku ekstrakcije smjesa se profiltrira u odmjernu tikvicu od 25 mL i nadopuni otapalom do oznake. Dobiveni ekstrakti (slika 5) koriste se potom za spektrofotometrijsko određivanje udjela ukupnih fenola i antioksidacijski kapacitet.



Slika 5. Ekstrakti fenolnih spojeva ploda žižule (*vlastita fotografija*)

3.2.2. Određivanje ukupnih fenola

Metoda određivanja ukupnih fenola temelji se na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom koji je smjesa fosforwolframove i fosfomolibdenske kiseline. Tijekom reakcije, navedene kiseline se pri oksidaciji fenolnih tvari u blago alkalnim uvjetima reduciraju u wolframov oksid i molbidenov oksid koji su plavo obojeni. Što je veći intenzitet obojenja to je veći udio hidroksilnih ili oksidirajućih grupa fenolnih tvari u uzorku. Sama koncentracija ukupnih fenola mjeri se spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 765 nm (Shortle i sur., 2014). Uzorci se razrijede 5 puta, odnosno u svakoj epruveti je 100 μ L uzorka i 400 μ L otapala.

U smjesu se dodaje 100 μ L ekstrakta (razrijeđenog), 200 μ L Folin-Ciocalteu reagensa, 2 mL vode i nakon 3 min dodaje se 1 mL otopine natrijeva karbonata. Pomoću Vortex miješalice se pripremljeni uzorci miješaju i termostatiraju 25 min pri 50 °C. Potom se mjeri apsorbancija pri valnoj duljini od 765 nm. Slijepu probu potrebno je pripremiti na isti način, no umjesto ekstrakta potrebno je uzeti 100 μ L ekstrakcijskog otapala.

Izrada baždarnog pravca:

Pripremljena otopina galne kiseline (5 mg/L) razrijedi se destiliranom vodom u više razrjeđenja: 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Reakcija se postavi po iznad navedenom postupku s Folin-Ciocalteu reagensom. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija (pri 765 nm), pomoću programa Microsoft Excel nacrtana se baždarni pravac. Na apscisu pravca se nanose koncentracije galne kiseline u mg/L, a na ordinatu vrijednosti apsorbancije pri 765 nm.

Prema dobivenoj jednadžbi računaju se koncentracije ukupnih fenola [1]:

$$Y = 0,0035 \cdot X \quad (R^2 = 0,9997) \quad [1]$$

gdje je:

Y – apsorbancija pri 765 nm

X – koncentracija galne kiseline (mg/L)

R² – koeficijent determinacije

Koncentracije ukupnih fenola izražene su u mg ekvivalenata galne kiseline (GAE)/g liofiliziranog uzorka žižule kao srednja vrijednost dvaju mjerenja.

3.2.3. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom

Metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom temelji se na reakciji redukcije žuto obojenog kompleksa željezo-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) pri čemu nastaje plavo obojeni kompleks fero-tripiridiltriazin koji ima apsorpcijski maksimum pri 593 nm (Shortle i sur., 2014). Metoda se temelji na prijenosu elektrona pri čemu antioksidansi doniraju elektron slobodnim radikalima, metalima i karbonilnim spojevima. Tijekom reakcije dolazi do smanjenja intenziteta obojenja koji je izravno proporcionalan s udjelom antioksidansa u uzorku. Dobivene vrijednosti FRAP metodom izražavaju se preko FeSO₄, askorbinske kiseline ili Trolox ekvivalenta (Benzie, 1996; Benzie i Strain, 1996).

Prije provedbe reakcije, dobiveni ekstrakti razrijeđeni su ekstrakcijskim otapalom 20 puta.

U epruvetu otpipetira se redom 240 μL destilirane vode, 80 μL uzorka i 2080 μL FRAP reagensa. Uzorci se promiješaju pomoću Vortex miješalice i termostatiraju 5 min pri 37 °C. Na završetku reakcije mjeri se apsorbancija pri 593 nm. U slijepu probu dodaje se ekstrakcijsko otapalo umjesto uzorka.

Izrada baždarnog pravca:

Prethodno pripremljenu otopinu Troloxa (2 mM) razrijedi se na način da se dobiju otopine u kojima je koncentracija Troloxa 25, 100, 125, 250, 500 i 1000 $\mu\text{mol/L}$. Reakcija se postavi kao što je opisano s FRAP reagensom. U slijepu probu se dodaje 80 μL 96 %-tnog etanola umjesto otopine Troloxa. Izmjeri se apsorbancija pri 593 nm te se pomoću programa Microsoft Excel i dobivenih vrijednosti nacrtaju baždarni pravci. Na apscisu se nanose koncentracije Troloxa u $\mu\text{mol/L}$, a na ordinatu vrijednosti apsorbancije pri 593 nm. Antioksidacijski kapacitet uzorka računa se pomoću dobivene jednadžbe [2]:

$$Y = 0,0013 \cdot X \quad (R^2 = 0,9995) \quad [2]$$

gdje je:

Y – apsorbancija pri 593 nm

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

R² – koeficijent determinacije

Antioksidacijski kapacitet izražen je u μmol ekvivalenata Troloxa (TE)/g liofiliziranog uzorka žižule kao srednja vrijednost dvaju mjerenja.

3.2.4. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

DPPH metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani pomoću stabilnog DPPH radikala. Ovaj radikal je ljubičaste boje te radi svog nesparenog elektrona ima apsorpcijski maksimum pri 517 nm. Riječ je o kolornoj reakciji u kojoj je promjena boje iz ljubičaste u žutu rezultat sparivanja elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa pri čemu nastaje reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Braca i sur., 2001; Prior i sur., 2005).

Prije provedbe reakcije, dobiveni ekstrakti razrijeđeni su ekstrakcijskim otapalom 20 puta.

U epruvetu se otpipetira 0,7 mL ekstrakta i 1,5 mL pripremljenog DPPH reagensa. Slijepa proba se priprema s 2,25 mL 100 %-tnog metanola.

Epruvete stoje u mraku 20 min pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm.

Izrada baždarnog pravca:

Pripremi se 1 mM otopina Troloxa i razrijedi u koncentracijama 10, 25, 50, 100, 125 i 150 μM . Reakcija se postavi na iznad opisan način s DPPH reagensom. Kod slijepa probe koristi se

2,25 mL 100% metanola. Dobivene vrijednosti apsorbancije pri 517 nm koriste se za izradu baždarnog grafa pomoću programa Microsoft Excel. Na apscisi su koncentracije Troloxa ($\mu\text{mol/L}$), dok se na ordinati nalaze izmjerene vrijednosti apsorbancija pri 517 nm.

Dobivena jednadžba pravca služi za izračunavanje antioksidacijskog kapaciteta uzorka [3]:

$$Y = -0,008 X + 1,3476 \quad (R^2 = 0,9948) \quad [3]$$

gdje je:

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

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

R^2 – koeficijent determinacije

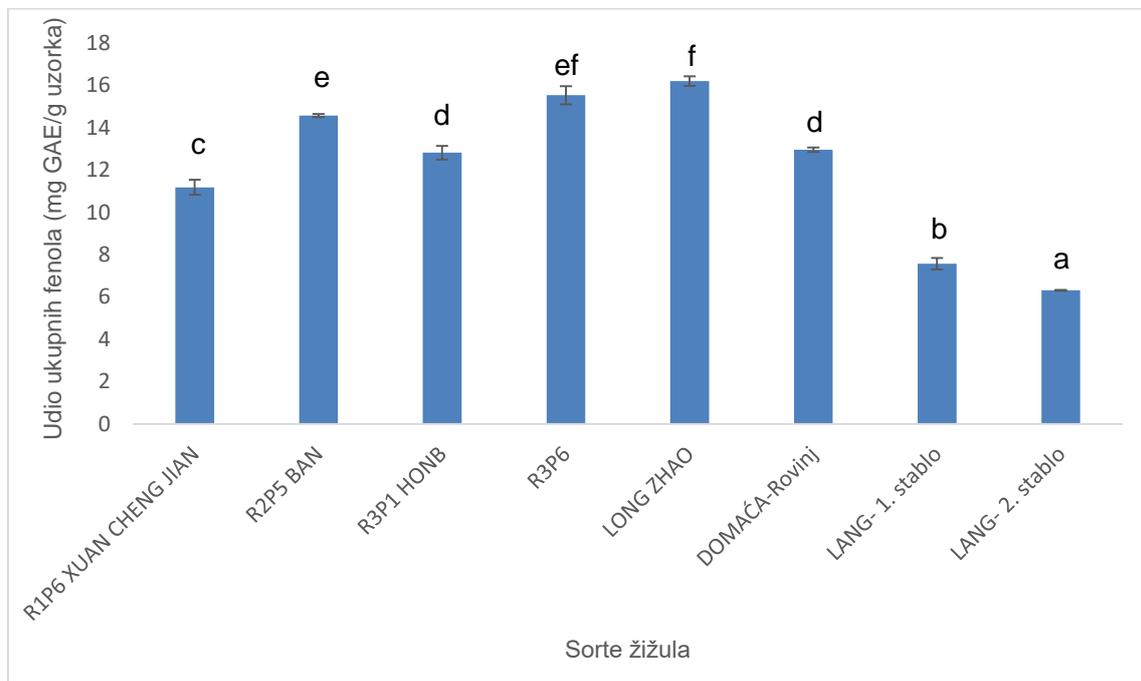
Antioksidacijski kapacitet izražen je u $\mu\text{mol TE/g}$ liofiliziranog uzorka žižule kao srednja vrijednost dvaju mjerenja.

3.2.5. Obrada podataka

Za statističku obradu podataka korišten je programski sustav Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, SAD). Jednosmjerna analiza varijance (eng. *one-way ANOVA*) korištena je za utvrđivanje signifikantnih razlika između uzoraka. Nezavisna varijabla je bila sorta žižule, a zavisne varijable bile su: udio ukupnih fenola (mg GAE/g liofiliziranog uzorka), antioksidacijski kapacitet određen FRAP metodom ($\mu\text{mol TE/g}$ liofiliziranog uzorka) i antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom ($\mu\text{mol TE/g}$ liofiliziranog uzorka). Statistički značajna razlika razmatrana je na razini $p \leq 0,05$ (95 %-tni interval pouzdanosti), a svi marginalni prosjeci uspoređeni su s Tukey HSD testom.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Udio ukupnih fenola



Slika 6. Udio ukupnih fenola (mg GAE/g uzorka) u uzorcima liofiliziranog ploda žižule

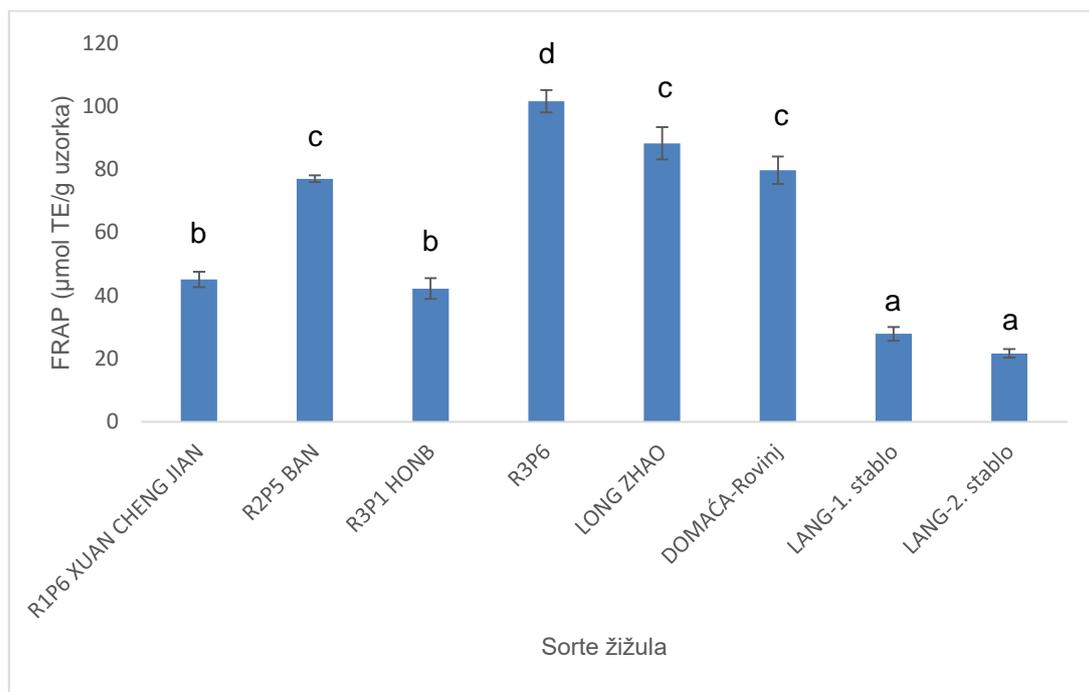
Dobiveni rezultati prilikom određivanja ukupnih fenola u liofiliziranim uzorcima plodova različitih sorti žižula prikazani su na slici 6. Vrijednosti se kreću u rasponu od 6,32 do 16,20 mg GAE/g uzorka, gdje je najniža vrijednost određena u uzorku sorte (LANG-2. stablo), a najviša u uzorku sorte LONG ZHAO.

Uspoređujući rezultate dobivene u ovom istraživanju s rezultatima u već dosada provedenim istraživanjima može se vidjeti sličan raspon vrijednosti udjela ukupnih fenola u različitim vrstama žižula. Azizi i sur. (2016) prilikom analiziranja 29 različitih vrsta žižula iranskog podrijetla odredili su udio ukupnih fenola u rasponu od 5,80 do 9,20 mg GAE/g uzorka. Slične vrijednosti od 5,18 do 8,53 mg GAE/g uzorka su dobili Li i sur. (2005) istražujući kineske sorte. S druge strane, niže vrijednosti, odnosno od 1,70 do 5,70 mg GAE/g uzorka, dobili su Gao i sur. (2011) također u kineskim sortama, a više vrijednosti od 25-43 mg GAE/g uzorka zabilježili su Kamiloglu i sur. (2009) ispitujući turske sorte. Xue i sur. (2021) istražujući kineske sorte žižula utvrdili su nešto niže vrijednosti ukupnih fenola i flavonoida u rasponu od 359,382 do 1041,333 μ g GAE/g uzorka, gdje je najviši udio imala sorta Jishanbanzao. Riaz i sur. (2021)

tijekom istraživanja pustinjačkih sorti utvrdili su najvišu vrijednost fenola u sorti Nummularia (304,4 mg GAE/100 g uzorka), dok je najniža vrijednost određena u sorti Spina-christi (95,6 mg GAE/100 g uzorka), što su znatno više vrijednosti od onih dobivenih u ovom istraživanju i u istraživanju Yahia i sur. (2020) gdje je udio fenola bio u rasponu od 148,75 do 293,46 mg GAE/g uzorka. Sapkota i sur. (2023) utvrdili su da sorta Sugarcane sadrži 13,12 mg GAE/g uzorka ukupnih fenola. Sadržaj pojedinih polifenola se u različitim sortama žižula znatno razlikuje. Sadržaj katehina, kafeinske kiseline i rutina je kod sorte QXYZ bio najviši te je iznosio 65,31 mg/100 g suhog uzorka, 26,29 mg/100 g suhog uzorka i 39,16 mg/100 g suhog uzorka (Zhang i sur., 2021). Xue i sur. (2021) utvrdili su da je sorta Hupingzaoimala u lišću imala najviši udio ukupnih fenola i flavonoida te su neki od njih katehin, rutin, kvercetin, luteolin, spinozin, galna kiselina i klorogenska kiselina koji su također bili prisutni i u drugim sortama. Vrijednosti ukupnih fenola u istraživanju Gao i sur. (2011) kretale su se između 4,29 i 6,00 mg GAE/g uzorka te su slične onima dobivenim u ovom radu.

Za dobivena odstupanja u vrijednostima mogući uzroci su analiza različitih sorti žižula, različito vrijeme berbe, klimatski uvjeti i sadržaj tla kog uzgoja te na kraju zbog korištenja različitih metoda ekstrakcije fenolnih spojeva iz uzoraka.

4.2. Antioksidacijski kapacitet FRAP metodom



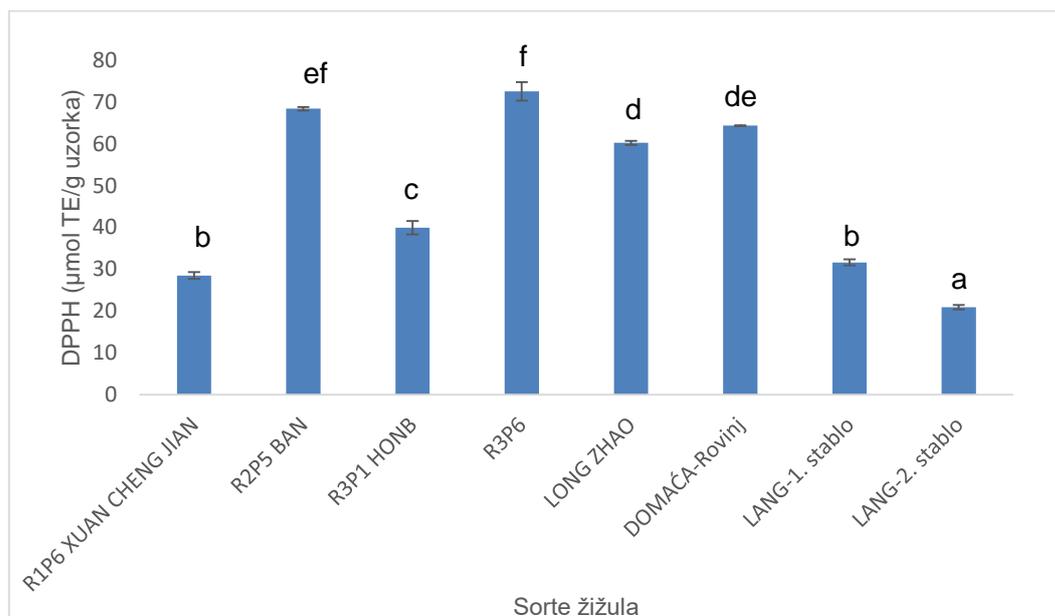
Slika 7. Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol TE/g}$ uzorka) u uzorcima liofiliziranog ploda žizule određen FRAP metodom

Dobiveni rezultati prilikom određivanja antioksidacijskog kapaciteta u liofiliziranim uzorcima plodova različitih sorti žizula prikazani su na slici 7. Vrijednosti se kreću u rasponu od 21,65 do 101,61 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka. Dobiveni rezultati su očekivani s obzirom na dobiveni udio ukupnih fenola u uzorcima žizule (slika 6).

Dobivene razlike moguće su uslijed različitog fenolnog sastava kod različitih vrsta uzroka, različite polifenolne skupine pokazuju različiti (jači ili slabiji) antioksidacijski učinak. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju uspoređeni su s rezultatima antioksidacijskog kapaciteta određenog FRAP metodom u prijašnjim istraživanjima te postoje razlike u vrijednostima koje su moguće zbog analize različitih vrsta žizula, različite pripreme uzorka ploda i različitih primjena ekstrakcijskih metoda i otapala.

Reche i sur. (2021) u svojem su istraživanju dobili raspon vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta od 23,56 do 109,87 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka što je vrlo slično vrijednostima dobivenim u ovom radu. Prilikom analize različitih sorti španjolskih žizula Wojdylo i sur. (2016) su utvrdili da se vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta kreću od 176,6 do 348,2 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka te su njihove vrijednosti bile više od onih dobivenih u ovom radu.

4.3. Antioksidacijski kapacitet DPPH metodom



Slika 8. Antioksidacijski kapacitet ($\mu\text{mol TE/g}$ uzorka) u uzorcima liofiliziranog ploda žižule određen DPPH metodom

Dobivene vrijednosti prilikom određivanja antioksidacijskog kapaciteta u uzorcima različitih vrsta žižule DPPH metodom prikazane su na slici 8. Dobivene vrijednosti kreću se u rasponu od 20,96 (sorta Lang-2. stablo) do 72,58 (sorta R₃P₆) $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka. FRAP metoda za određivanje antioksidacijskog kapaciteta prati kretanje vrijednosti ukupnih fenola u uzorku žižule, za razliku od DPPH metode. Možemo reći da sorta R₃P₆ ima najviše određene vrijednosti gotovo svih ispitivanih parametara, dok sortu Lang-2. stablo karakteriziraju najniže vrijednosti. Uspoređujući dobivene vrijednosti s vrijednostima koje su dobili Reche i sur. (2021) u rasponu od 148,91 do 322,15 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka možemo reći da su znatno više. U istraživanju Sapkote i sur. (2023) sorta Capri sušena u peći pri 75 °C imala je višu DPPH vrijednost (1,87 mg TE/g uzorka), nego sorta Xiang (0,97 mg TE/g uzorka). S druge strane, sorta Xiang sušena na suncu imala je više vrijednosti (2,57 mg TE/g uzorka), dok je sorta Xiang imala iste vrijednosti. Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta kojeg su dobili Gao i sur. (2011) bile su slične vrijednostima dobivenim u ovom radu te su se kretale između 26,81 i 56,32 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka. Sorta Lingbaozao je imala najvišu vrijednost antioksidacijskog kapaciteta određenog DPPH metodom.

5. ZAKLJUČCI

Osvrnuvši se na provedeno istraživanje i dobivene rezultate, može se zaključiti:

1. Uzorci različitih sorti žižula dobar su izvor fenolnih spojeva te su pokazali dobra antioksidacijska svojstva.
2. Udio ukupnih fenola u uzorcima određen je u rasponu od 6,32 do 16,20 mg GAE/g uzorka. Najviši udio ukupnih fenola određen je u sorti LONG ZHAO, a najniži u sorti Lang-2. stablo.
3. Antioksidacijski kapacitet određen FRAP metodom određen je u rasponu od 21,65 (sorta Lang-2. stablo) do 101,61 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka (sorta R₃P₆).
4. Antioksidacijski kapacitet određen DPPH metodom određen je u rasponu od 20,96 do 72,58 $\mu\text{mol TE/g}$ uzorka. Najniža vrijednost određena je u sorti Lang-2. stablo, dok je najviša vrijednost određena u sorti R₃P₆.

6. POPIS LITERATURE

Azizi A, Pirbodaghi M (2016) Regional variations of antioxidant capacity and phenolic properties in the Iranian jujube collection. *J. Herb. Med.* **6(4)**, 199-209.

Chen J, Liu X, Li Z, Qi A, Yao P, Zhou Z, i sur. (2017) A Review of Dietary Ziziphus jujuba Fruit (Jujube): Developing Health Food Supplements for Brain Protection. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* **10**. <https://doi.org/10.1155/2017/3019568>

Cigić F (2020) Polifenoli - važni antioksidansi u prehrani (Završni rad), Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Splitu, Split

Dorbić B, Matić J, Španjol Ž (2021) Žižula-tradicijska kultura u oblikovanju vrtova i voćnjaka na području grada Skradina. *Pomol. Croat.* **25**, 1-4.

Gao Q-H, Wu P-T, Liu J-R, Wu C-S, Parry J W, Wang M (2011) Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars grown in loess plateau of China. *Sci. Hortic.* **130(1)**, 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.005>

Jin-wei L, Shao-dong D, Xiao-lin D (2005) Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochem* **40**, 3607-3613. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.005>

Liu M, Wang J, Wang L, Liu P, Zhao J, Zhao Z, i sur. (2020) The historical and current research progress on jujube—a superfruit for the future. *Hort. Res.* **7**, 119. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00346-5>

Lovrinović N (2023) Bioaktivni potencijal lista odabranog bobičastog voća (Završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Miklavčič Višnjevec A, Baruca Arbeiter A, Hladnik M, Ota A, Skrt M, Butinar B, i sur. (2019) An Integrated Characterization of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) Grown in the North Adriatic Region. *Food Technol. Biotechnol.* **57(1)**. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5910>

Ozturk B, Aglar E, Gun S, Karakaya O (2020) Change of Fruit Quality Properties of Jujube Fruit (*Ziziphus Jujuba*) without Stalk and with Stalk during Cold Storage. *Int. J. Fruit Sci* **20(S3)**, S1891–S1903. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1834901>

Pavković N (2020) Bioaktivni potencijal samonikle koprive (*Urtica dioica* L.) (Diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Pažur A (2017) Određivanje količine flavonoida i fenolnih kiselina te antioksidacijskog učinka u vrstama *Salvia brachyodon* Vand. i *Salvia officinalis* L. (Diplomski rad), Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Reche J, Almansa M S, Hernandez F, Amoros A, Legua P (2021) Physicochemical and Antioxidant Capacity of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) at Different Maturation Stages. *Agronomy* **11(1)**, 132. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010132>

Riaz M U, Raza M A, Saeed A, Ahmed M, Hussain T (2021) Variations in Morphological Characters and Antioxidant Potential of Different Plant Parts of Four *Ziziphus* Mill. Species from the Cholistan. *Plants* **10(12)**, 2734. <https://doi.org/10.3390/plants10122734>

Sapkota G, Delgado E, VanLeeuwen D, Holguin F O, Flores N, Yao S (2023) Preservation of Phenols, Antioxidant Activity, and Cyclic Adenosine Monophosphate in Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) Fruits with Different Drying Methods. *Plants* **12(9)**, 1804. <https://doi.org/10.3390/plants12091804>

Shahrajabian M H, Sun W, Chen Q (2020) Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) – a promising fruit from Traditional Chinese Medicine. *AUPC Studia Naturae* **5**, 194-219. <http://doi.org/10.24917/25438832.5.13>

Sušanj D, Gugić J, Očić V, Gadže J, Bolarić S, Batelja Lodeta K (2020) Uzgoj, nutritivna svojstva i korištenje žižule (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Glasnik zaštite bilja* **5**. <https://doi.org/10.31727/gzb.43.5.5>

Štriga D (2021) Utjecaj vrste otapala na antioksidacijski kapacitet ekstrakta lista smokve (Završni rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Vitasović Kosić I (2020) Samonikle tradicionalno korištene voćne svojte u mediteranskom dijelu Hrvatske. Zbornik akademije poljoprivrednih znanosti, svezak 2

Zerrouk S, Seijo M C, Escuredo O, Rodriguez-Flores M S (2017) Characterization of Ziziphus lotus (jujube) honey produced in Algeria. *J. Apic. Res.* 2078-6913. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1399663>

Zhang Y, Sun X, Vidyarthi K S, Zhang R (2021) Active components and antioxidant activity of thirty-seven varieties of Chinese jujube fruits (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Int J Food Prop* **24(1)**, 1479-1494. <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1977656>

Zhao H-X, Zhang H-S, Yang S-F (2015) Phenolic compounds and its antioxidant activities in ethanolic extracts from seven cultivars of Chinese jujube. *Food Sci. Hum. Wellness* **8**, 2213-4530. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fshw.2014.12.005>

Xue X, Zhao A, Wang Y, Ren H, Du J, Li D, i sur. (2021) Composition and content of phenolic acids and flavonoids among the different varieties, development stages, and tissues of Chinese Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *PLoS One* **16(10)**, e0254058. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254058>

Wojdylo A, Carbonell-Barrachina A A, Legua P, Hernandez F (2016) Phenolic composition, ascorbic acid content, and antioxidant capacity of Spanish jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) fruits. *Food Chem.* **201**, 307-314. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.09>

Izjava o izvornosti

Ja __ Pia Rebić__izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis