

Razvoj funkcionalnih želiranih proizvoda na bazi jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Šmic, Mihaela

Master's thesis / Diplomski rad

2025

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:159:953273>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-29**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, veljača 2025.

Mihaela Šmic

**RAZVOJ FUNKCIONALNIH ŽELIRANIH
PROIZVODA NA BAZI JAGODE (*Fragaria x
ananassa* Duch.)**

Rad je izrađen pod mentorstvom prof. dr. sc. Danijele Bursać Kovačević, u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju voća, povrća i začinskog bilja na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta te uz pomoć dr. sc. Anice Bebek Markovinović.

Ovo istraživanje provedeno je u okviru PRIMA Projekta „From Edible Sprouts to Healthy Food – Feed“ (Prima Call 2022, Prima Section 2 – Multi Topic 2022, Topic 2.3.1 (RIA) Enabling the transition to healthy and sustainable dietary behaviour)

Voditeljica projekta: prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević



ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Bursać Kovačević na pruženoj prilici za izradu rada pod njenim mentorstvom, mnogobrojnim savjetima, trudu i pomoći te na velikom strpljenju i susretljivosti. Zahvaljujem i dr. sc. Bebek Markovinović na pomoći pri izradi eksperimentalnog dijela rada, motivaciji, korisnim uputama i ugodnoj radnoj atmosferi. Također, zahvaljujem se svim prijateljima i kolegama, a posebno mojim najboljim prijateljicama na neprocjenjivim uspomenama tokom studiranja koje će mi zauvijek ostati u sjećanju, na velikoj podršci, brojnim zajedničkim druženjima te učenjima, uspješnim i malo manje uspješnim, uz njih je bilo zabavnije studirati.

Najviše se zahvaljujem članovima obitelji, posebno svojoj mami i sestri na velikoj podršci, ohrabrivanju, brižnosti, vjeri u mene i razumijevanju kroz moje studiranje, bez njih ovo ne bi bilo moguće ostvariti.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za kemiju i tehnologiju voća, povrća i začinskog bilja

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Upravljanje sigurnošću hrane

RAZVOJ FUNKCIONALNIH ŽELIRANIH PROIZVODA NA BAZI JAGODE (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Mihaela Šmic, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0125161755

Sažetak: Cilj ovog rada bio je razviti funkcionalne ekstra džemove od jagode sa smanjenom energetsom vrijednošću i ispitati utjecaj dodatka različitih šećera (fruktoze i saharoze) te vodenog ekstrakta lista planike (0 %, 15 % i 30 %) na njihov bioaktivni sastav, antioksidacijski potencijal i senzorska svojstva. U svim uzorcima ispitan je fizikalno-kemijski sastav, bioaktivni potencijal, antioksidacijska aktivnost i senzorska analiza. Rezultati su pokazali da dodatak 15 % ekstrakta planike u kombinaciji s fruktozom daje ekstra džem s najvišim sadržajem ukupnih fenola, flavonoida i hidroksicimetnih kiselina te najvećim antioksidacijskim kapacitetom (FRAP metoda). Senzorska analiza potvrdila je da ovaj džem ima najbolju ukupnu prihvaćenost kod potrošača. Istraživanje ukazuje na mogućnost razvoja inovativnih funkcionalnih proizvoda visoke nutritivne i senzorske kvalitete, što pridonosi trendu zdravijih prehrambenih proizvoda. Ovi rezultati otvaraju nove mogućnosti u proizvodnji funkcionalne hrane s naglaskom na očuvanje bioaktivnih spojeva.

Ključne riječi: ekstra džem, jagoda, planika, polifenoli, antioksidacijski potencijal

Rad sadrži: 69 stranica, 5 slika, 2 tablice, 93 literaturna navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević

Pomoć pri izradi: dr. sc. Anica Bebek Markovinović

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Tomislav Bosiljkov (predsjednik)
2. prof. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević (mentor)
3. prof. dr. sc. Senka Djaković (član)
4. izv. prof. dr. sc. Jasmina Lapić (zamjenski član)

Datum obrane: 7. veljače 2025.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Engineering

Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits, Vegetables and Aromatic Herbs

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Safety Management

DEVELOPMENT OF STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa* Duch.) BASED FUNCTIONAL JELLY PRODUCTS

Mihaela Šmic, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0125161755

Abstract: This study aimed to develop functional strawberry extra jams with reduced energy value and to examine the effects of adding different sugars (fructose and sucrose) and water extracts of strawberry tree leaves (0 %, 15 %, and 30 %) on their bioactive composition, antioxidant potential, and sensory properties. The physical-chemical composition, bioactive potential, antioxidant activity, and sensory analysis were evaluated in all samples. The results showed that the addition of 15 % extract combined with fructose produced an extra jam with the highest content of total phenols, flavonoids, and hydroxycinnamic acids, as well as the greatest antioxidant capacity (FRAP method). Sensory analysis confirmed that this jam had the highest overall consumer acceptance. The study highlights the potential for developing innovative functional products with high nutritional and sensory quality, contributing to the trend of healthier food products. These findings open new possibilities in the production of functional foods with an emphasis on preserving bioactive compounds.

Keywords: extra jam, strawberry, strawberry tree leaves, polyphenols, antioxidant potential

Thesis contains: 69 pages, 5 figures, 2 tables, 93 references, 0 supplements

Original in: Croatian

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

Mentor: Danijela Bursać Kovačević, PhD, Full Professor

Technical support and assistance: Anica Bebek Markovinović, PhD

Reviewers:

1. Tomislav Bosiljkov, PhD, Full professor (president)
2. Danijela Bursać Kovačević, PhD, Full professor (mentor)
3. Senka Djaković, PhD, Full professor (member)
4. Jasmina Lapić, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: February 7th, 2025

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. JAGODA (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.)	2
2.1.1. Kemijski sastav jagode.....	3
2.1.2. Bioaktivni spojevi jagode	5
2.2. PROIZVODNJA ŽELIRANIH PROIZVODA	9
2.2.1. Želirani proizvodi kao funkcionalna hrana.....	11
2.2.2. Utjecaj tehnologije prerade u želirane proizvode na kvalitetu voćnih proizvoda	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	16
3.1. MATERIJALI	16
3.1.1. Voćna sirovina.....	16
3.1.2. Ekstrakt planike.....	16
3.1.3. Šećer, pektin i limunska kiselina.....	17
3.2. METODE RADA	17
3.2.1. Priprema ekstra džemova od jagode	17
3.2.2. Određivanje topljive suhe tvari (% Brix) u ekstra džemovima od jagode, kaši jagode i vodenom ekstraktu planike.....	18
3.2.3. Određivanje pH vrijednosti u ekstra džemovima od jagode, kaši jagode te vodenom ekstraktu planike	19
3.2.4. Određivanje 5-(hidroksimetil)furan-2-karbaldehida (engl. 5- (hydroxymethyl)furan-2-carboxaldehyde, HMF) i indeksa posmeđivanja (engl. <i>Browning</i> <i>index, BI</i>)	19
3.2.5. Priprema etanolnih ekstrakata džemova.....	22
3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola	23
3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih flavonoida	25
3.2.8. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih hidroksicimetnih kiselina i flavonola	27
3.2.9. Određivanje polimernih proantocijanidina vanilin metodom	30
3.2.10. Spektrofotometrijsko određivanje monomernih antocijana.....	32
3.2.11. Određivanje antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom	34
3.2.12. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom	37
3.2.13. Senzorska evaluacija ekstra džema od jagode.....	39
3.3. OBRADA REZULTATA.....	40
4. REZULTATI I RASPRAVA	41
4.1. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA EKSTRA DŽEMOVA OD JAGODE	41
4.2. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA BIOAKTIVNE SPOJEVE U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE	46
4.3. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA	

PLANIKE NA PIGMENTE U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE	52
4.4. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE 53	
4.5. SENZORSKA ANALIZA	56
5. ZAKLJUČCI.....	59
6. LITERATURA	60

1. UVOD

Posljednjih godina potrošači su suočeni s povećanim rizicima povezanim sa zagađenjem okoliša, stresom, društvenim izazovima i zdravstvenim problemima. Sukladno tome, potencijal za pomoć u poboljšanju tjelesnog i mentalnog zdravlja, imaju funkcionalni prehrambeni proizvodi. Funkcionalna hrana sadrži dodane sastojke, koji pružaju zdravstvene dobrobiti izvan učinka tipičnih prehrambenih proizvoda i mogu smanjiti rizik od nezaraznih bolesti. Trenutno prehrambena industrija bilježi dinamičan rast u proizvodnji funkcionalne hrane s tendencijom jačanja inovativnosti (Topolska i sur., 2021).

U današnje vrijeme voće poprima sve veći značaj u uravnoteženoj prehrani (Ogori i sur., 2021). Budući da su mnoge vrste voća sezonski dostupne i njihov je rok trajanja ograničen, preradom u različite proizvode moguće je proizvesti proizvode visoke kvalitete koji su dostupni tijekom cijele godine. Jedna od metoda konzerviranja voća je prerada u želirane proizvode (Rababah i sur., 2011), pri čemu želirani proizvodi pored zdravstvene ispravnosti, zadržavaju nutritivne prednosti sirovine (Ogori i sur., 2021). Iako uslijed ovog vida prerade, a poradi primjene povišenih temperatura, može doći do narušavanja kvalitete, želirani proizvodi još uvijek mogu predstavljati važne izvore bioaktivnih spojeva u prehrani s primjetnim antioksidacijskim kapacitetom (Levaj i sur., 2012).

Jedna od najpopularnijih voćnih vrsta u Republici Hrvatskoj (RH) su jagode (*Fragaria x ananassa* Duch.), a njihova se potrošnja povećala s razvojem novih kultivara dostupnih gotovo cijele godine (Bursač Kovačević i sur., 2009). Odlikuju se visokim sadržajem i širokom raznolikošću polifenolnih spojeva, kao i značajnim udjelom vitamina C, folatima i mineralima (Giampieri i sur., 2017). Ipak, prerada jagode u RH veoma je malo zastupljena. Također, obična planika (*Arbutus unedo* L.), koja je zastupljena u priobalnom području RH, unatoč velikom potencijalu za preradu, još uvijek je nedovoljno istražena voćna vrsta (Šić Žlabur i sur., 2020). Naime, plod i list obične planike pokazuju značajan biološki potencijal za proizvodnju inovativne funkcionalne hrane i dodataka prehrani (Bebek Markovinović i sur., 2022; Šić Žlabur i sur., 2020). Bogat su izvor minerala, iako probavljivih šećera, dijetalnih vlakana, vitamina (osobito vitamina C) i bioaktivnih spojeva značajne funkcionalne vrijednosti (Šić Žlabur i sur., 2020).

Svrha ovog rada bila je ispitati prikladnost jagode u proizvodnji funkcionalnih želiranih proizvoda sa sniženom energetsom vrijednošću iz kategorije ekstra džem. Ispitan je utjecaj dodatka različitih šećera (fruktoze i saharoze) te različitih udjela vodenog ekstrakta lista obične planike (0, 15 i 30 %) na bioaktivni sastav i antioksidacijski potencijal gotovih proizvoda. Proizvod s najboljim bioaktivnim potencijalom odabran je za senzorsko ispitivanje kako bi se ispitala preferencija potrošača.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JAGODA (*Fragaria x ananassa* Duch.)

Jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) je voćna vrsta nastala križanjem čileanske sorte (*Fragaria chilensis*) sa virginijskom sortom (*Fragaria virginiana*), što je djelo francuskog biologa Antoine Nicolas Duchesnea u osamnaestom stoljeću (Newerli-Guz i sur., 2023). Za križanje su odabrane spomenute sorte zbog svojih poželjnih svojstava. Sorta *F. virginiana* ističe se svojstvima otpornosti i produktivnosti, dok s druge strane sorta *F. chilensis* daje relativno velike plodove (Chandler i sur., 2011). Većina uzgojenih jagoda u Europi pa i u Hrvatskoj, pripada vrtnim jagodama *Fragaria x ananassa*. Jagoda, rod *Fragaria* L., pripada porodici *Rosaceae* (Dujmović Purgar i sur., 2017). Sadašnja taksonomija roda *Fragaria* uključuje 20 imenovanih divljih vrsta u svijetu, ali u Europi postoji samo pet svojti – *Fragaria vesca* L., *Fragaria viridis* Duch., *Fragaria virginiana* Mill., *Fragaria moschata* Duch. i *Fragaria x ananassa* Duch. (Dujmović Purgar i sur., 2017).

Jagoda je niska (<30 cm visoka) višegodišnja biljka. Međutim, sve se češće bere manje od godine dana, a najčešće ne više od 3 do 4 godine zbog toga što mlade biljke obično imaju veće i kvalitetnije plodove u usporedbi sa starijim razgranatim biljkama (Chandler i sur., 2011). Jagode se uzgajaju u mnogim zemljama i različitim klimatskim zonama, ali nedvojbeno se široko uzgaja u umjerenom klimatskom pojasu. Među zemljama proizvođačima prednjače Kina i SAD, dok među zemljama Europske unije najviše jagoda proizvode Španjolska i Poljska (Newerli-Guz i sur., 2023).

S godišnjom proizvodnjom od 9,5 milijuna tona na površini od gotovo 400 000 ha zemlje (FAOstat, 2022), jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) je jedna od najrasprostranjenijih voćaka koje se uzgajaju u svijetu (Singh i sur. 2018). Za usporedbu, godišnja proizvodnja jagoda u Europi iznosi 1,7 milijuna tona na površini od oko 150 000 ha zemlje (FAOstat, 2022). Također, proizvodnja jagoda značajna je i u Hrvatskoj s godišnjom proizvodnjom od 3200 t na površini od 360 ha zemlje (FAOstat, 2022). Jagoda (*Fragaria x ananassa* Duch.) se uglavnom konzumira svježa, ali i prerađena u piree, džemove, sokove i žele (Buchweitz i sur., 2013). Prvenstveno je cijenjena zbog svojih senzorskih kvaliteta i visokog sadržaja bioaktivnih spojeva koji blagotvorno djeluju na zdravlje potrošača. Senzorske kvalitete jagode prvenstveno se pripisuju organskim kiselinama i saharidima, koji stvaraju specifičan raspored i ravnotežu u plodu. Zbog sadržaja polifenolnih spojeva i vitamina C, plodovi jagode imaju antioksidacijsko djelovanje. Fenolni spojevi, uključujući fenolne kiseline, imaju širok raspon bioloških aktivnosti, od antikancerogenih do protuupalnih, neurodegenerativnih i antioksidativnih aktivnosti. Također, jagodu karakterizira niska kalorijska vrijednost i nizak glikemijski indeks (Newerli-Guz i sur., 2023).

2.1.1. Kemijski sastav jagode

Voće i povrće potencijalni su izvor vitamina i minerala koji su neophodni za ljudsko zdravlje. Jagode su prirodan izvor mikronutrijenata kao što su vitamin C, minerali, folati te neki od važnijih fitonutrijenata poput flavonoida (antocijani, flavonoli i flavanoli koji daju manji doprinos), zatim hidrolizirajućih tanina (elagitanini i galotanini) i fenolnih kiselina (hidroksibenzojeva kiselina i hidroksicimetna kiselina) te kondenziranih tanina (proantocijanidini). Jagodasto voće karakteriziraju visoko nutritivni sastojci, uključujući minerale, vitamine, masne kiseline i dijetalna vlakna (Miller i sur., 2019).

Šećeri i organske kiseline imaju veliki značaj među kemijskim komponentama ovog voća pa tako šećeri pridonose okusu voća i određuju njegovu kalorijsku vrijednost. Organske kiseline utječu na okus, teksturu, pH i boju jagoda, mijenjajući osjetilne kvalitete ovog voća. Askorbinska kiselina (vitamin C) jedna je od najvažnijih organskih kiselina u jagodi (Ornelas-Paz i sur., 2013).

Vrijednosti proteina procijenjene su između $0,53 \pm 0,15$ g do $1,17 \pm 0,08$ g 100 g⁻¹ svježih jagoda, sadržaji masti na $0,33 \pm 0,08$ g do $0,48 \pm 0,07$ g 100 g⁻¹ svježih jagoda. Dijetalna vlakna bila su u rasponu od $2,24 \pm 0,47$ g do $2,43 \pm 0,29$ g 100 g⁻¹ svježih jagoda, a količine ukupnih šećera u rasponu od $3,77 \pm 0,25$ g do $6,96 \pm 0,71$ g 100 g⁻¹ svježih jagoda (Hossain i sur., 2016).

U jagodama su identificirani glavni karotenoidi poput luteina i zeaksantina, zatim tokoferoli (vitamin E) poput α - tokoferola, β - tokoferola, γ - tokoferola i δ - tokoferola, kao i vitamini topivi u mastima, odnosno vitamini K i A, te tokotrienoli (vitamin E) (tablica 1). Za jagode se razvilo veliko zanimanje zbog njihovog visokog sadržaja vitamina C koji zajedno s folnom kiselinom igra ključnu ulogu u sadržaju mikronutrijenata u jagodi. Na primjer, 250 g jagoda (s 60 mg folata u prosjeku) mogu osigurati 30 % dnevne preporučene količine folata u Europi i SAD-u (Baj i Sieniawska, 2017; Ribaya- Mercadoi Blumberg, 2004; Giampieri i sur., 2012). Procijenjeno je da je sadržaj vitamina C u rasponu od $26,46 \pm 1,31$ mg do $37,77 \pm 2,72$ mg 100 g⁻¹ svježih jagoda. Jagode sadrže i nekoliko drugih vitamina u nižoj mjeri, kao što su tiamin, riboflavin, niacin i vitamin B6. (Miller i sur., 2019).

Jagode su jedan od najboljih prirodnih izvora folata ($43 \mu\text{g}$ 100 g⁻¹ svježih jagoda). Dobar su izvor mangana, joda, magnezija, bakra, željeza i fosfora (Miller i sur., 2019) te kalcija, natrija, kalija i cinka (Hossain i sur., 2016). Jagoda potencijalno može biti dobar izvor mikrominerala. Porcija jagoda od 144 g dan⁻¹ može osigurati više od 20 % dnevnog odgovarajućeg unosa mangana. Ista količina jagoda može dati oko 5 % odgovarajućeg unosa kalija (Giampieri i sur., 2012).

U manjoj mjeri, jagode su izvor esencijalnih masnih kiselina. Dokazano je da ulje sjemenki jagode obiluje nezasićenim masnim kiselinama (sadrži približno 72 % višestruko nezasićenih masnih kiselina) (Giampieri i sur., 2012).

Tablica 1. Kemijski sastav jagode (Giampieri i sur., 2012)

Kemijski sastav	Hranjiva tvar	Na 100 g svježeg voća
Makronutrijenti	Voda (g)	90,95
	Energija (kcal)	32
	Proteini (g)	0,67
	Pepeo (g)	0,40
	Ukupni lipidi (g)	0,30
	Ugljikohidrati (g)	7,68
	Dijetalna vlakna (g)	2,0
	Šećeri (g)	4,89
	Saharoza (g)	0,47
	Glukoza (g)	1,99
	Fruktoza (g)	2,44
Minerali	Kalcij (mg)	16
	Željezo (mg)	0,41
	Magnezij (mg)	13
	Fosfor (mg)	24
	Kalij (mg)	153
	Natrij (mg)	1
	Cink (mg)	0,14
	Bakar (mg)	0,048
	Mangan (mg)	0,386
	Selenij (µg)	0,4
Vitamini	Vitamin C (mg)	58,8
	Tiamin (mg)	0,024
	Riboflavin (mg)	0,022
	Niacin (mg)	0,386
	Pantotenska kiselina (mg)	0,125
	Vitamin B6 (mg)	0,047
	Folat (µg)	24
	Kolin (mg)	5,7

Tablica 1. Kemijski sastav jagode – *nastavak* (Giampieri i sur., 2012)

Kemijski sastav	Hranjiva tvar	Na 100 g svježeg voća
Vitamini	Betain (mg)	0,2
	Vitamin B12 (µg)	0
	Vitamin A, RAE (µg)	1
	Lutein + Zeaksantin (µg)	26
	Vitamin E, α-tokoferol (mg)	0,29
	β-tokoferol (mg)	0,01
	γ-tokoferol (mg)	0,08
	δ-tokoferol (mg)	0,01
	Vitamin K, filokinon (µg)	2,2

2.1.2. Bioaktivni spojevi jagode

Jagodasto voće pripada jednom od najboljih prehrambenih izvora bioaktivnih spojeva. Bioaktivnim spojevima u jagodastom voću pripadaju antioksidansi kao što su polifenolni spojevi i karotenoidi (Skrovankova i sur., 2015). Najzastupljenija klasa sekundarnih metabolita u plodovima jagoda su polifenolni spojevi koji u svojoj kemijskoj strukturi imaju najmanje jednu fenolnu jedinicu, odnosno aromatski prsten na koji je vezana najmanje jedna hidroksilna skupina (Warner i sur., 2021).

Polifenolni spojevi jagodastog voća predstavljaju raznoliku skupinu spojeva uključujući fenolne kiseline, kao što su derivati hidroksibenzojevih i hidroksicimetnih kiselina, zatim flavonoide, kao što su flavonoli, odnosno glikozidi kvercetina i kemferola, flavanoli i antocijani (Dzhanfezova i sur., 2020; Skrovankova i sur., 2015). Isto tako, sadrži i tanine, podijeljene na kondenzirane tanine (proantocijanidine) i hidrolizirajuće tanine. Sastav polifenola jagode varira tijekom njihovog rasta i dozrijevanja, a u većini slučajeva pulpa nezrelog voća ima više razine polifenolnih spojeva i posljedično veći antioksidacijski kapacitet od pulpe zrelog voća (Giampieri i sur., 2012).

Glavnu klasu polifenolnih spojeva u jagodi predstavljaju flavonoidi (uglavnom antocijani, s flavonolima i flavanoli koji daju manji doprinos), a zatim hidrolizirajući tanini (elagitanini i galotanini) te fenolne kiseline (derivati hidroksibenzojevih i hidroksicimetnih kiselina) pri čemu su kondenzirani tanini (proantocijanidini) manje zastupljeni (Giampieri i sur., 2012). Na njihov udio uvelike utječu sortiment, okolišni čimbenici poput svjetlosti, temperature, pH i agrotehničkih mjera uzgoja (Skrovankova i sur., 2015).

Antocijani su pigmenti koji daju obojenost cvijeću i voću (Dzhanfezova i sur., 2020). U

plodovima jagoda, brzo se akumuliraju u kasnim fazama sazrijevanja (Warner i sur., 2021). Antocijani u jagodama su kvantitativno najvažniji, čineći do 40 % ukupnih polifenola u nekim kultivarima jagoda (Warner i sur., 2021). Pelargonidin-3-O-glukozid je glavni antocijan jagode neovisno o kultivaru i čimbenicima okoliša (Giampieri i sur., 2012). Druga dva najzastupljenija antocijana su pelargonidin 3-O-rutinozid i cijanidin 3-O-glukozid. U istraživanju koji su proveli Džhanfezova i suradnici (2020), proučavan je sadržaj antocijana u 18 različitih sorti jagoda. Istraživanje je pokazalo da je pelargonidin 3-O-glukozid bio najzastupljeniji antocijan u svim sortama, predstavljajući 50-90 % ukupnih antocijana, a cijanidin 3-O-glukozid bio je drugi najzastupljeniji (1–47 %) antocijan. Stabilnost antocijana ovisi o vrsti antocijanskog pigmenta, kopigmentima, svjetlu, temperaturi, pH, ionima metala, enzimima, kisiku i antioksidansima (Turturić i sur., 2015). Boja antocijana ovisi o pH vrijednosti zbog ionske prirode flavilium strukture pa su tako antocijanidini u kiselim uvjetima crveno obojeni, u alkalnim uvjetima plavo obojeni, a ovisno o specifičnoj pH vrijednosti, struktura može poprimiti tonove od plave do ljubičaste boje (Warner i sur., 2021). Pelargonidin 3-O-glukozid daje svjetlije tonove crvene boje jagodama, dok cijanidin 3-O-glukozid daje intenzivnije tonove crvene boje (Džhanfezova i sur., 2020). Nadalje, oko 70 % ukupnog antioksidacijskog kapaciteta jagoda dolazi od antocijana (Warner i sur., 2021). Elagitanini su polifenolni spojevi koji pripadaju grupi tanina, a čija se struktura sastoji od estera elaginske kiseline i heksoznih jedinica. Kemijski, oni su derivati heksahidroksidifenilne skupine koja je kovalentno vezana na šećer, obično glukozu. Struktura elagitanina može varirati ovisno o broju i položaju heksahidroksidifenilnih skupina (HHDP), što rezultira velikom raznolikošću ovih spojeva (Lorenzo i sur., 2018). Zajedno s galotanimima čine hidrolizirane tanine, gdje se hidrolizom oslobađaju elaginska, odnosno, galna kiselina (Giampieri i sur., 2012).

U kultiviranoj jagodi, glavni flavonoli su kvercetin i kempferol (Warner i sur., 2021). Flavanoli su jedina klasa flavonoida koja se ne pojavljuje prirodno kao glikozidi (Giampieri i sur., 2012). Flavanoli, također zvani flavan-3-oli, najčešći su prehrambeni flavonoidi (Warner i sur., 2021). U jagodama se nalaze u monomernim (katehini i epikatehini), oligomernim i polimernim oblicima koji se nazivaju kondenzirani tanini ili procijanidini (Giampieri i sur., 2012; Warner i sur., 2021). Poput antocijana i flavonola, akumulacija flavanola ovisi o stadiju razvoja. Budući da su polimeri flavanola, objavljeno je da proantocijanidini posjeduju antioksidacijska i kardioprotektivna svojstva (Warner i sur., 2021).

Jagode također sadrže razne fenolne kiseline koji se javljaju kao derivati hidroksicimetne kiseline (ferulinska i cimetna kiselina, kafeinska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, *p*-kumaroilheksoza) i hidroksibenzojeve kiseline (galna i elaginska kiselina, 4-hidroksibenzojeva kiselina) (Tarola i sur., 2013; Giampieri i sur., 2012; Aaby i sur., 2007; Breittellner i sur., 2003; Breittellner i sur., 2002).

2.1.3. Potencijal prerade jagode u funkcionalne proizvode

Rastuća potražnja potrošača za proizvodima bogatim hranjivim tvarima koji promiču zdravlje privukla je značajnu pozornost na stvaranje funkcionalnih prehrambenih proizvoda (Adarsh Krishna i sur., 2024).

Sadowska i sur. (2020) uspoređivali su kvalitetu prahova organski uzgojenih jagoda dobivenih metodama konveksijskog sušenja (CD), sušenja smrzzavanjem (FD) i sušenja raspršivanjem (SD). Prahovi su uspoređivani prema sadržaju bioaktivnih komponenti te prema antioksidacijskim svojstvima. FD su imali visok sadržaj vitamina C ($7,0 \pm 0,2$ mg g⁻¹ suhe tvari), polifenolnih spojeva ($6562,2 \pm 57,5$ µg g⁻¹ s. tv.) i najveću antioksidacijsku aktivnost ($370,2 \pm 8,9$ µmol TEAC g⁻¹ s.tv.), slično svježim jagodama ($8,1 \pm 0,5$ mg g⁻¹ s. tv.; $8049,6 \pm 113,3$ µg g⁻¹ s. tv. i $525,5 \pm 19,3$ µmol TEAC g⁻¹ s.tv.). SD i CD sadržavali su smanjen sadržaj vitamina C ($3,22 \pm 0,17$ i $1,55 \pm 0,04$ mg g⁻¹ s. tv.), višestruko niži udio polifenola ($1291,4 \pm 77,4$ i $1261,1 \pm 42,8$ µg g⁻¹ s. tv.) i značajno niža antioksidacijska svojstva ($294,9 \pm 4,8$ i $290,1 \pm 10,2$ µmol TEAC g⁻¹ s.tv.). Udio polifenolnih spojeva u prahovima smanjio se 18 % za FD te oko 85 % za SD i CD u odnosu na svježe jagode. Proučavane svježe jagode i prahovi dobiveni FD metodom sadržavali su najveći sadržaj polifenolnih spojeva, među kojima su dominirali antocijani ($5203,8 \pm 126,2$ i $4397,2 \pm 6,6$ µg g⁻¹ s.tv.), fenolne kiseline ($1527,3 \pm 25,4$ i $1224,3 \pm 3,5$ µg g⁻¹ s.tv.) i flavonoli ($1318,9 \pm 24,4$ i $940,7 \pm 51,7$ µg g⁻¹ s.tv.). FD prahovi mogu se svrstati u „visokovrijednu hranu“ zbog koncentriranog sadržaja bioaktivnih sastojaka pri čemu je utvrđeno da 12 g FD praha zadovoljava dnevnu potrebu organizma za vitaminom C ($75 - 90$ mg dan⁻¹) (Sadowska i sur., 2020; Aversa i sur., 2016). CD i SD prahovi mogu obogatiti hranu vitaminom C i vrijednom prirodnom aromom i bojom, zamjenjujući prehrambene aditive (Sadowska i sur., 2020).

Nadalje, Korus i sur. (2011) u svom su istraživanju odmašćene sjemenke crnog ribiza (DS-BC) i jagode (DS-ST) koristili kao dodatak (5 %, 10 % i 15 %) bezglutenskom kruhu. Dodatak DS-BC i DS-ST rezultirao je značajnim porastom dijetalnih vlakana, proteina i polifenola, ovisno o dodanoj razini. Sadržaj ukupnih dijetalnih vlakana u kruhu s dodatkom DS-ST bio je veći u usporedbi s kontrolom bez dodataka (82–190 %). U usporedbi s kontrolnim kruhom, sadržaj proteina se značajno povećao, u rasponu 39–120 % kada je primijenjen DS-BC, a nešto manje (33–95 %) u slučaju DS-ST. Oba tipa i svaka razina funkcionalnih sastojaka imali su značajan utjecaj na sadržaj polifenola u uzorcima kruha. Kontrolni kruh sadržavao je 0,052 mg polifenola 1 g⁻¹ svježe mase. Povećanje sadržaja polifenola u kruhu s dodatkom DS-BC bilo je mnogo niže u usporedbi s DS-ST. U prvom slučaju kretao se od 89 do 139 % (u usporedbi s kontrolom), a u drugom 484–1275 %. Povećanje antioksidacijske aktivnosti kruha s dodatkom DS-ST iznosila je 166–371 % u odnosu na kontrolu. Provedena je i senzorska analiza uzoraka. U slučaju DS-ST, dodatak na razini 5 i 10 % nije pogoršao senzorsku kvalitetu kruhova, te je u

pogledu mirisa i okusa poboljšao kvalitetu i prihvaćanje. Najviših 15 % razine dodatka DS-ST rezultiralo je smanjenim prihvaćanjem izgleda, strukture, poroznosti i boje, ali ne okusa i mirisa. Dokazano je da se odmašćene sjemenke jagode i crnog ribiza mogu koristiti u pekarskoj industriji kao funkcionalni sastojci bezglutenskih kruhova bez pogoršanja senzorne kvalitete.

Özbek i sur. (2019) razvijali su recepturu funkcionalnog pekmeza s dodatkom chia sjemenki (*Salvia hispanica* L.) sa smanjenim udjelom šećera. Tijekom razvoja formulacija pekmeza, senzorskom analizom u dva koraka određena je vrsta zaslađivača (sorbitol, izomalt, komercijalni prah Stevia™ i izomalt zajedno sa sorbitolom) i sadržaj chia sjemenki (2,5 % i 5 %). Kontrolna formula je pripremljena sa saharozom. U prvom koraku, pripremljene su zasebno četiri različite formule korištenjem sorbitola, izomalta, komercijalnog Stevia™ praha i izomalta zajedno sa sorbitolom. U prvom dijelu istraživanja senzorski parametri pokazali su dobru prihvatljivost za sorbitol. Stoga, u drugom dijelu istraživanja pekmez je pripremljen s 2,5 % i 5 % chia sjemenki uključujući sorbitol. Prema rezultatima senzorskog ocjenjivanja, za formulacije je odabran pekmez sa sadržajem chia sjemenki od 5 %. Dodatak chia sjemenki i sorbitola povećao je sadržaj ukupnih polifenola za 15,45 % i sadržaj dijetalnih vlakana za 168 % te smanjio kalorijsku vrijednost za 48 % u usporedbi s kontrolnim uzorkom koji je pripremljen uz dodatak saharoze i bez chia sjemenki. Također, utvrđeno je da je sadržaj šećera u proizvodu iznosio 4,9 %, a sadržaj HMF-a 4,64 mg 100 g⁻¹ uzorka. Antioksidacijski kapacitet i ukupni sadržaj fenola proizvoda bili su 21,9 ± 1,20 μmol TE g⁻¹ uzorka odnosno 4,1 ± 0,06 mg GAE g⁻¹ uzorka. Konačni proizvod je imao 1,5 % omega-3 masnih kiselina i mogao se na etiketi deklarirati kao "izvor omega-3" (Özbek i sur., 2019).

Grzelak-Błaszczuk i sur. (2017) u svom su istraživanju sjemenke jagoda dobivene iz industrijske prešane pogače iz tri sezone berbe i odmašćene superkričnim CO₂, analizirali na suhu tvar, proteine, masti, pepeo, minerale, šećere, ukupna dijetalna vlakna i polifenole. Sjemenke jagoda zaostale su nakon proizvodnje soka od jagode. Sastojale su se od dijetalnih vlakana [u prosjeku 728 g kg⁻¹ suhe tvari (s. tv.)] i bjelančevina (167 g kg⁻¹ s. tv.). Rezultati za proteine kretali su se od 159 do 171 g kg⁻¹ s. tv. Odmašćene sjemenke su sadržavale promjenjivi udio masti, od 2 do 17 g kg⁻¹ s. tv. Sadržaj pepela u uzorcima bio je od 33 do 38 g kg⁻¹ s. tv. Suha tvar je varirala od 960 g kg⁻¹ do 977 g kg⁻¹ s. tv. Što se tiče sadržaja mineralnih tvari, kalcij i kalij bili su glavni minerali, dosežući 4,1-6,0 g kg⁻¹ s. tv. i 3,1-4,8 g kg⁻¹ s. tv. ovisno o sezoni. Odmašćene sjemenke sadržavale su značajne količine magnezija (1,9-2,3 g kg⁻¹ s. tv.) i željeza (79-148,8 g kg⁻¹ s. tv.). Također, sadržavale su i natrij (9,6-47,7 g kg⁻¹ s. tv.). Od mono- i disaharida prevladavala je saharoza (0,2-0,3 g kg⁻¹ s. tv.), a glukoze (0,1 g kg⁻¹ s. tv.) i fruktoze (0,1-0,2 g kg⁻¹ s. tv.) je bilo manje. Udio šećera bio je relativno nizak, do 0,6 g 100 g⁻¹ s.tv. Vrijednosti ukupnih polifenola varirale su od 15,6 do 17,5 g kg⁻¹ s. tv. i nisu značajno varirale sa sezonom berbe. Dvije glavne skupine polifenola među utvrđenim spojevima su bili

elagitanini i flavanoli, čiji je sadržaj iznosio 8,50 odnosno 5,82 g kg⁻¹ s. tv. Također, sadržaj antocijana u odmašćenim sjemenkama jagode iznosio je od 98 do 152 mg kg⁻¹ s. tv. Zaključno, odmašćene sjemenke jagode mogu se koristiti kao dodaci s visokim sadržajem proteina, vlakana i polifenola ili kao dodaci bogati mineralima i s visokom nutritivnom vrijednosti.

2.2. PROIZVODNJA ŽELIRANIH PROIZVODA

Pravilnikom o voćnim džemovima, želeima, marmeladama, pekmezu te zaslađenom kesten pireu (NN 84/19) propisuju se zahtjevi kvalitete kojima u proizvodnji i stavljanju na tržište moraju udovoljavati navedeni proizvodi, a odnose se na nazive, definicije i opće zahtjeve; sastav i senzorska svojstva; vrstu i količinu sirovina te drugih tvari koje se koriste u proizvodnji i preradi te dodatne zahtjeve označavanja. To su proizvodi koje karakterizira tzv. želirana konzistencija koja ih uz boju i okus čini vrlo privlačnim proizvodima potrošačima. Svi se oni proizvode od raznog voća, a samo se marmelada proizvodi isključivo od citrusa. Dalje, proizvodi moraju sadržavati najmanje 60 % topljive suhe tvari, određene refraktometrom, izuzev proizvoda kod kojih je šećer djelomično ili u cijelosti zamijenjen sladilima. Proizvodi iz Pravilnika koji imaju smanjen sadržaj šećera mogu se staviti na tržište pod nazivima propisanim ovim Pravilnikom, pod uvjetom da sadrže najmanje 55 % topljive suhe tvari. Nazivi proizvoda navedeni u Pravilniku mogu se koristiti samo za označavanje proizvoda koji ispunjavaju zahtjeve propisane za te proizvode te se pod tim nazivom stavljaju na tržište (NN 84/19).

Ovim Pravilnikom definirani su želirani proizvodi kao što su džem i ekstra džem, pri čemu je džem proizvod odgovarajuće želirane konzistencije sadržan od voćne pulpe i/ili voćne kaše jedne ili više vrsta voća, šećera i vode. Džem od citrusa može se proizvoditi od cijelih plodova, narezanih na komadiće i/ili rezance. Kao opće pravilo vrijedi da količina voćne pulpe i/ili voćne kaše upotrijebljena za proizvodnju 1000 g konačnog proizvoda ne smije biti manja od 350 g (NN 84/19). Za razliku od džema, ekstra džem je proizvod odgovarajuće želirane konzistencije koji sadrži nekoncentriranu voćnu pulpu jedne ili više vrsta voća, šećer i vodu. Ekstra džem od šipka te ekstra džem od malina, kupina, crnog i crvenog ribiza te borovnica bez sjemenki može biti proizveden u cijelosti ili djelomično od nekoncentrirane voćne kaše. Ekstra džem od citrusa može se proizvoditi od cijelih plodova, narezanih na komadiće i/ili rezance. U proizvodnji ekstra džema nije dozvoljeno miješanje sljedećih vrsta voća s drugim voćem: jabuke, kruške, šljive, dinje, lubenice, grožđe, bundeva, krastavci i rajčice. Kao opće pravilo, količina voćne pulpe upotrijebljena za proizvodnju 1000 g konačnog proizvoda, ne smije biti manja od 450 g (NN 84/19).

Iako se danas u komercijalnoj proizvodnji pekmeza mogu koristiti suvremene tehnologije, džemovi se još uvijek proizvode ukuhavanjem pri vakuumu ili pri atmosferskom tlaku (Kušču i

Bulantekin, 2020). Želirani proizvodi imaju karakterističnu gel konzistenciju koja se postiže dodavanjem pektina. Da bi se postigla takva konzistencija, osim pektina potrebno je u odgovarajućem omjeru dodati i kiselinu i šećer. Voće prirodno sadrži ove sastojke, ali ne u dovoljnim količinama da bi samim kuhanjem došlo do procesa želiranja. U proizvodnji džemova obično se kao šećer koristi saharoza, a može se koristiti i šećerni sirup, glukoza, glukozni sirup, dekstroza, dekstrozni sirup, fruktoza, itd. Potrebna količina dodanog šećera ovisi o stupnju zrelosti voća, sadržaju kiselina i šećera u voću te samom tipu proizvoda koji se proizvodi. Za želiranje je poželjno da sirovina ima što veću količinu pektina, što osigurava uspješnije želiranje i s manjim dodatkom komercijalnog pektina. Pektin ne samo da pomaže učvršćivanju želiranih proizvoda, već je zaslužan i za kristalno staklasti izgled proizvoda te njegova teksturna svojstva. Osim pektina, dodaju se limunska ili jabučna kiselina, a rjeđe i vinska. Udio kiselina u džemu se kreće od 0,8 do 1 %. Uloga kiselina je da snize pH na vrijednost koja je optimalna za stvaranje želirane strukture. Kiseline također poboljšavaju okus proizvoda i imaju konzervirajući efekt jer snižavaju pH na vrijednosti koje onemogućavaju razvoj mikrobiološkog kvarenja. Tehnološki proces proizvodnje džemova sastoji se od pripreme voća i ukuhavanja voćne mase i šećera uz dodatak pektina i kiselina (Tavra, 2016).

Postoje dva osnovna načina proizvodnje želiranih proizvoda. Prvi način je tradicionalna metoda proizvodnje džema ukuhavanjem u otvorenoj posudi. U procesu otvorene posude džem se kuha u atmosferskim uvjetima. Tijekom procesa vrenja, temperatura šarže može prijeći 107 °C. Dugotrajno zagrijavanje na visokoj temperaturi treba izbjegavati jer uzrokuje pretjeranu karamelizaciju šećera te nepovoljno utječe na okus i boju (Featherstone, 2016). Prvi korak je priprema voća što podrazumijeva da se strane primjese i oštećeno voće moraju ukloniti, a plodovi se prije postupka prerade moraju dobro oprati. Pored nečistoća, pranjem se uklanjaju mehaničke nečistoće i rezidue pesticida korištenih u zaštiti biljke. Krupno voće se često mora oljuštiti ili usitniti ili se pripremi kaša po potrebi (Featherstone, 2016; Tavra, 2016). Voće se zatim kuha kako bi voćno tkivo omekšalo. Dodaje se potom šećer koji se uz kontinuirano miješanje i povišenu temperaturu otapa. Smjesu je potrebno kuhati otprilike dvije trećine ukupnog vremena kuhanja džema. Zatim se dodaje pektin, bilo kao otopina ili u formi praha (Featherstone, 2016). Pektin i kiseline se dodaju u masu pred kraj kuhanja, kada je skoro postignuta potrebna suha tvar smjese (preko 50 %). Pri računanju potrebne količine kiselina i pektina treba uzeti u obzir količinu koja je prisutna u samoj sirovini. Količina dodatnog pektina ovisi o njegovim karakteristikama, odnosno stupnju želiranja (Tavra, 2016). Kuhanje se nastavlja, ali pri normalnom tlaku, a na samom kraju procesa masa se zagrijava do vrenja da bi se provela pasterizacija (Tavra, 2016). Smjesa se kuha dok se ne postigne željeni °Brix (Featherstone, 2016). Džem se puni u čiste, sterilizirane i suhe posude dok su vruće (iznad 82 °C) i potom se zatvara, te hladi na sobnoj temperaturi ili uranjanjem u hladnu vodu

(Featherstone, 2016; Tavra, 2016). Kao ambalaža najčešće se koriste staklenke i limenke. Staklenke se koriste za komercijalna pakiranja za široku potrošnju, dok se limenke koriste za pakiranje džema namijenjenog industriji. Pripremljen džem se ne mora nužno skladištiti pri nižim temperaturama, obzirom da sadrži veliku količinu šećera (a_w vrijednost (aktivitet vode) se kreće od 0,82-0,94) (Tavra, 2016).

Vakuumsko kuhanje je drugi način proizvodnje džema. Korištenje vakuuma omogućava korištenje nižih temperatura kuhanja čime se bolje očuvaju visoko vrijedni sastojci voća. Također, manja je inverzija šećera nego pri kuhanju u atmosferskom tlaku, pa je stopa prodiranja šećera u voćno tkivo znatno ubrzana (Tavra, 2016). Neki od nedostataka uključuju skuplju opremu i kontrolu procesa, a uklanjanje sumpornog dioksida iz SO_2 - konzervirane pulpe nije zadovoljavajuće jer je temperatura kuhanja preniska. U vakuumskom procesu temperatura šarže ne smije prijeći 80 °C, osim kratkog razdoblja prije punjenja, kada se može podići na 82–95 °C kako bi se osiguralo sterilno punjenje. Preporučene vakuumske posude obično imaju veličinu šarže od oko 750–1000 L. Neke posude imaju nekoliko zasebnih parnih omotača ili zasebnu zavojnicu, a moguće je i ugrađeni refraktometar. Osnovna metoda vakuumske obrade za izradu džema je sljedeća: voće, voda i šećer postavljaju se u vakuumsku posudu s miješalicom i parnim omotačem koja se zagrijava na 65–70 °C. Primijeni se vakuum od 95 kPa i temperatura se održava ispod 65 °C dok topljiva suha tvar mješavine voća i šećera postepeno povisuje. Zatim se polako smanjuje vakuum i mješavina se kuha na 77 °C. Nakon toga, šarža se zagrije na 88–95 °C i džem se kontinuirano miješa. Zatim se dodaju otopine pektina i kiseline uz miješanje. Smjesa se potom miješa i ukuhava dodatno do približnog postizanja željene suhe tvari. Po završetku kuhanja, džem se puni u staklenke na temperaturi od 88 °C ili višoj te se odmah zatvaraju poklopcem i hlade istom metodom kao i posude s džemovima pripremljenima metodom otvorene posude (Featherstone, 2016).

2.2.1. Želirani proizvodi kao funkcionalna hrana

Funkcionalna hrana podrazumijeva namirnice koje osim osnovnih nutritivnih vrijednosti pružaju i dodatne zdravstvene koristi, kao što su podrška imunološkom sustavu, smanjenje rizika od određenih bolesti i slično. Želirani proizvodi mogu biti razvijeni u svrhu funkcionalne hrane uz ciljani odabir voćnih sirovina ili dodatak nekih djelatnih sastojaka.

Banaš i sur. (2018) razvili su džemove od ogrozda s niskim udjelom šećera obogaćenima dodatkom crne aronije, bazge, japanske dunje, lanenih sjemenki i pšeničnih klica. Pripremljeni su džemovi u sljedećim varijantama: G0—džem od ogrozda bez biljnih sastojaka; GCh—džem s 15 % dodatka aronije; GE—džem s 15 % dodatka bazge, GJ—džem s 8 % dodatka japanske dunje, GF—džem s 3 % dodatka lanenih sjemenki, i GWG—džem s 3 % dodatka pšeničnih

klica. Ispitani su ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, ukupni antocijani, antioksidacijska aktivnost i pojedinačni polifenolni spojevi. G0 bio je dobar izvor ukupnih polifenola ($140,6 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Od pojedinačnih polifenolnih spojeva, najzastupljeniji su (+)-katehini u GE ($5,660 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) te kafeinska kiselina ($4,403 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) u GCh. Najviše razine ukupnih polifenola ($330 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), ukupnih flavonoida ($160 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) i ukupnih antocijana ($35 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) zabilježene su u GCh. Dodatak aronije povećao je razinu ukupnih polifenola za 135 %, ukupnih flavonoida za 533 % i ukupnih antocijana za 2421 %, u odnosu na G0. Bazga i japanska dunja povećale su razinu vitamina C za 42 % i 50 %, dok su sjemenke lana i pšenične klice imale značajan učinak samo na razini povećanja ukupnih flavonoida ($46,1 \pm 2,7$ i $43,5 \pm 1,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). G0 se odlikovao niskim sadržajem vitamina C; prosječno $15,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Nakon obogaćivanja aronijom, japanskom dunjom i bazgom, razina vitamina C značajno je porasla za 20, 42 i 52 %. Obogaćivanje proizvoda biljnim sirovinama kao što su aronija, bazga i japanska dunja, koje sadrže značajne količine antioksidansa, poboljšava nutritivnu vrijednost gotovog proizvoda.

Lopes Amorim i sur. (2019) u svojoj su studiji procijenili učinak vremena skladištenja na fizikalno-kemijska svojstva, sadržaj bioaktivnih spojeva i antioksidacijski kapacitet niskokalorijskog džema obogaćenog polifenolima proizvedenog od osušenog ekstrakta pokožice grožđa [$8,9 \text{ \% (w w}^{-1}\text{)}$] pohranjenog 0, 15, 30, 45 i 60 dana na $14 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Džem je imao niži ukupni udio ugljikohidrata (45 %) i manju energetska vrijednost ($177,8 \text{ kcal } 100 \text{ g}^{-1}$ proizvoda) u usporedbi s komercijalnim džemovima ($65\text{--}67 \text{ \%}$ i $266\text{--}273 \text{ kcal } 100 \text{ g}^{-1}$ proizvoda) kao i veći sadržaj proteina (1,21 %) i pepela (0,29 %) u odnosu na sadržaj džemova od cijelog voća, kao što su marelica, borovnica, grožđe i jagoda (proteina od $0,27 \text{ \%--}0,43 \text{ \%}$ odnosno pepela od $0,12 \text{ \%--}0,25 \text{ \%}$) (Lopes Amorim i sur., 2019; Naeem i sur., 2017). Utvrđeno je da džem sadrži visoke koncentracije polifenolnih spojeva ($137,0 \pm 3,2 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$), ukupnih flavonoida ($128,5 \pm 23,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) i ukupnih antocijana ($92,5 \pm 4,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Međutim, uočeno je veliko smanjenje flavonoida (70–90 %), antocijana (29–35 %) i fenola (23–30 %) tijekom skladištenja. Visok antioksidacijski potencijal džema određen je DPPH metodom s EC_{50} vrijednostima u rasponu od $2,3 \pm 0,1$ do $3,9 \pm 0,1 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Od masnih kiselina u najvećoj koncentraciji određena je palmitinska kiselina (26,4 %), zatim linolna (21 %) i oleinska (20,9 %), što iznosi 77 % udjela ukupnih masnih kiselina. Rezultati pokazuju da nusproizvodi (pokožica grožđa) iz prerade vina mogu poslužiti kao izvor prirodnih antioksidansa kada se dodaju u različite prehrambene proizvode. Kao strategija za dobivanje zdravijih slatkiša, poput žele bombona, predlaže se obogaćivanje polifenolnim spojevima. Sukladno tome, Cedeño-Pinos i sur. (2021) promatrali su doprinos etanolnog suhog ekstrakta zelenog propolisa (PEE) iz biljke *Braccharis dracunculifolia* antioksidacijskim i senzorskim svojstvima voćnih žele bombona pripremljenih od šećera (S) ili fruktana (F) te tri biljne baze (mente, naranče i jagode). Tri razine [0 (P), 0,01 (P1) i 0,02 (P2) % ($\text{w w}^{-1}\text{}$)] PEE testirane su u žele bombonima te je proučavan

sadržaj polifenolnih spojeva, antioksidacijski kapacitet i senzorsko svojstvo okusa. P2 je snažno poboljšao antioksidacijski kapacitet (relativno povećanje do 465 %) žele bombona u usporedbi s P bez promjene pH vrijednosti, boje ili teksture. Prosječni udio ukupnih fenola (mg GAE 100 g⁻¹) iznosio je od 25,1–27,1 (P2 bomboni), 18,8–20,0 (P1 bomboni) i 16,5–15,4 (P). U zaključku, propolis, zahvaljujući dobrim antioksidacijskim svojstvima, ima potencijala za primjenu kao funkcionalni sastojak u pripremi zdravijih slatkiša.

Miraballes i sur. (2019) u svom su istraživanju razvili recepture pet džemova od jagode s rastućim količinama ekstrakta dobivenog iz lišća južnoameričke autohtone biljke pod nazivom *Acca sellowiana* koja ima velik sadržaj polifenola. Originalni džem bez ekstrakta *A. sellowiana* pokazao je ukupan sadržaj polifenola od 310,0 mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) 100 g⁻¹ uzorka i prihvatljivost veću od 6 (od maksimalnih 9) u obje provedene serije senzorske analize. Zatim, dodan je ekstrakt u količinama od 8 (B); 16 (C); 24 i 32 mL 100 g⁻¹ uzorka pri čemu se sadržaj polifenola u džemu povećao redom na 467,5; 746,5; 892,5 i 1090,5 mg GAE 100 g⁻¹ uzorka. Nadalje, ocijenjeni su senzorni profil i prihvatljivost uzorcima sa količinom ekstrakta od 8 i 16 mL 100 g⁻¹ uzorka. U prvoj seriji analize predstavljeni su kodirani uzorci, a u drugoj seriji potrošačima je bilo rečeno sadrže li džemovi antioksidanse ili ne. Rezultati su bili slični onima izvornog proizvoda (za uzorak B oko 6,1; a uzorak C oko 5,2). Podaci o obogaćivanju antioksidansima nisu utjecali na prihvatljivost džemova.

2.2.2. Utjecaj tehnologije prerade u želirane proizvode na kvalitetu voćnih proizvoda

Voće je bogat izvor različitih bioaktivnih spojeva te se odlikuje visokim antioksidacijskim potencijalom. Kako bi voće bilo dostupno za konzumaciju izvan sezone, prerađuje se u proizvode kao što su želirani proizvodi. Međutim, većina bioaktivnih spojeva nestabilna je tijekom prerade i skladištenja ovih proizvoda (Shinwari i Rao, 2018).

Vukoja i sur. (2019) u svom su istraživanju istražili učinak skladištenja od 8 mjeseci pri sobnoj temperaturi na stabilnost ukupnih fenola, antocijana i antioksidacijsku aktivnost u tri vrste džemova od višnje (*Prunus cerasus* L.). Pripremljeni su slijedeći uzorci: džem (DŽ), ekstra džem (EDŽ) i džem sa sniženom energetsom vrijednošću (LDŽ). DŽ i EDŽ kuhali su se do 62,5 % topljive suhe tvari (30 min na 85 °C), a LDŽ do 41 % topljive suhe tvari (20 min na 85 °C). Utvrđeno je da je LDŽ imao najveći sadržaj ukupnih fenola nakon pripreme i nakon skladištenja te najveći sadržaj antocijana nakon pripreme. Nakon skladištenja, sadržaj fenola i antocijana se smanjio u svim vrstama džema, ali najviša uočena stabilnost fenola i antocijana bila je u DŽ. Ukupni sadržaj fenola (g kg⁻¹ džema) u LDŽ, nakon pripreme iznosio je 3,34; dok su EDŽ i DŽ imali 2,29; odnosno 1,99. Nakon skladištenja, najveće zadržavanje ukupnih fenola imali su DŽ i EDŽ (85 %), dok je najmanje zadržavanje (74 %) pronađeno u LDŽ. Stabilnost antocijana bila je najveća u DŽ, zatim u EDŽ i na kraju u LDŽ, sa zadržavanjem od 22 %, 15

% i 12 %. Sadržaj monomernih antocijana (mg kg^{-1} džema) bio je najviši u LDŽ (986,0), a slijedio je EDŽ (572,8) i DŽ (437,39). Prema dobivenim rezultatima za antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH i ABTS metodama, uočeno je smanjenje antioksidacijske aktivnosti nakon skladištenja u usporedbi s rezultatima nakon pripreme džemova. Nakon skladištenja antioksidacijska aktivnost prema DPPH metodi se smanjila za 14 %; 16 % i 10 % za DŽ, EDŽ i LDŽ, a prema ABTS metodi za 12 %; 0,4 % i 6 % za DŽ, EDŽ i LDŽ. LDŽ džem pokazao je najveću antioksidacijsku aktivnost prema obje korištene metode.

Rababah i sur. (2012) su svojim istraživanjem procijenili učinak prerade višanja u džem od praćenjem fitokemijskih i fizikalno-kemijskih svojstava nakon prerade i tijekom 15 dana skladištenja na 25, 35, 45 i 55 °C. Svježa višnja je imala značajno veći sadržaj ukupnih fenola, antocijana i antioksidacijskog kapaciteta, koji se tijekom prerade smanjio. Također, više temperature tijekom skladištenja nepovoljno su djelovale na ispitivane parametre.

Brandao i sur. (2020) u svom su istraživanju utvrđivali učinak toplinske vakuumske obrade i toplinske obrade bez vakuuma na sadržaj bioaktivnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost niskokaloričnih miješanih džemova od voća brazilskog cerrado bioma (voća marola (*Annona crassiflora*), marakuje (*Passiflora alata*) i gravirole (*Annona muricata*)). Mješoviti džem se sastojao od 60 % miješane pulpe (MP) marola, gravirole i marakuje. Procjenjivala se antioksidacijska aktivnost, ukupni sadržaj fenola i sadržaj askorbinske kiseline. Džem se prerađivao u posudi s duplikatorom pod vakuumom (TV) (tlak od 550 mmHg (73 kPa) i temperatura od 65-70 °C). Slični uvjeti obrade korišteni su u proizvodnom spremniku s miješalicom pri atmosferskom tlaku (TWV) zagrijavanom plinskim plamenom. Ukupni sadržaj fenola varirao je ovisno o procesu proizvodnje, od $4653,15 \pm 131,76$ do $2340,25 \pm 196,21$ mg GAE 100 g^{-1} suhe tvari. Došlo je do smanjenja bioaktivnih spojeva u džemovima. Gubitak vitamina C bio je 46,8 % (TV) i 54,3 % (TWV) za džemove u usporedbi s MP. TV obrada uzrokovala je manji pad ukupnog fenolnog sadržaja (39 %), u odnosu na TWV (49,7 %). Prosječni gubitak antioksidacijske aktivnosti, u usporedbi s MP, bio je 64,34 % za miješani džem obrađen TV metodom i 65,95 % za miješani džem obrađen TWV metodom. Sadržaj bioaktivnih tvari (ukupni fenoli, vitamin C) i antioksidacijska aktivnost (DPPH) u niskokaloričnom džemu od miješanog voća brazilskog cerrado bioma bolje su sačuvani TV obradom u odnosu na TWV. Banaš i sur. (2018) razvili su džemove od ogrozda s niskim udjelom šećera uz dodatak aronije, bazge, japanske dunje, lanenih sjemenki i pšeničnih klica. Ispitani su ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, ukupni antocijani, antioksidacijska aktivnost i pojedinačni polifenolni spojevi nakon proizvodnje te nakon 6 i 12 mjeseci skladištenja. Uzorci su bili pohranjeni na temperaturama 10 °C i 20 °C. Nakon 6 mjeseci, skladištenje na 10 °C rezultiralo je boljim zadržavanjem ukupnih polifenola i flavonoida, u prosjeku za 25 % više u usporedbi sa temperaturom od 20 °C. Od polifenola identificiranih u džemovima, ferulinska kiselina pokazala

se najnestabilnijom; nakon 12 mjeseci skladištenja gubici su iznosili 18 % (10 °C) i 32 % (20 °C). Nakon 6 mjeseci skladištenja gubici antocijana uočeni su samo u džemu s aronijom, bazgom i sjemenkama lana. Indeks razgradnje antocijana nakon 12 mjeseci skladištenja bio je viši za 20 % (10 °C) i 33 % (20 °C) u odnosu na džemove nakon proizvodnje. Mjerenje antioksidacijske aktivnosti provedeno je pomoću ABTS, DPPH i FRAP testova. Nakon 6 mjeseci skladištenja, neovisno o temperaturi, u većini džemova antioksidacijska aktivnost nije se značajno promijenila. Nakon 12 mjeseci skladištenja, u džemovima skladištenim na 10 °C, utvrđeno je smanjenje aktivnosti, u prosjeku za 35 % (ABTS) i za 18 % (DPPH). Na 20 °C, smanjenje aktivnosti bilo je mnogo veće, za 49 % (ABTS) i za 29 % (DPPH). Razina aktivnosti mjerena FRAP testom u džemovima čuvanim 12 mjeseci na 20 °C smanjila se s oko 22 % (džemovi s dodanim sjemenkama lana i pšeničnim klicama) na 44 % (džem bez dodataka).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

U ovom radu je pripremljeno je šest ekstra džemova od jagode sa sniženom energetsom vrijednošću prema važećim Pravilnicima (NN 84/19, NN 84/10, NN 113/11, NN 42/13), a s ciljem utvrđivanja utjecaja dodatka različitih šećera, fruktoze i saharoze, te dodatka različitih udjela vodenog ekstrakta lista planike na bioaktivni sastav i antioksidacijski potencijal gotovih proizvoda.

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Voćna sirovina

Za izradu eksperimentalnog dijela diplomskog rada, odnosno proizvodnju ekstra džemova od jagode korišteni su plodovi jagode (*Fragaria ananassa* × Duch.) kultivara „Albion“ uzgojeni u Zagrebačkoj županiji. Po prispieću u Laboratorij, plodovima jagode su odstranjene peteljke, te su oprani, posušeni i skladišteni u plastičnim kutijama (-18 °C) do provedbe eksperimenata. Prije proizvodnje ekstra džemova od jagode, zamrznuti plodovi jagode su preko noći odmrznuti na temperaturi 4 °C, te su potom homogenizirani u kašu štapnim mikserom (SilverCrest, Kompernass GMBH, Bochum, Njemačka).

3.1.2. Ekstrakt planike

Aparatura i pribor:

- Ultrazvučni procesor (Hielscher Ultrasound Technology UP400St, Njemačka)
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Odmjerne tikvice, volumena 500 mL i 1000 mL
- Staklena čaša, stakleni lijevak, filter papir
- Špatula

Otapala i reagensi:

- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)

Priprema ekstrakcijskog otapala (70 %-tni etanol):

70 %-tni etanol se pripremi tako da se 730 mL 96 %-tnog etanola prenese se u odmjernu tikvicu od 1 L te nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Postupak pripreme vodenog ekstrakta lista planike:

Kako bi se proizveli funkcionalni ekstra džemovi, pripremljeni su ekstrakti lista planike (*Arbutus unedo* L.) koji su dodavani u udjelima od 0 %, 15 % i 30 %. Postupak pripreme vodenog ekstrakta lista planike proveden je primjenom ultrazvučnog procesora (Hielscher Ultrasound Technology UP400St, Njemačka) uz sondu promjera 22 mm, amplitudu 100 %, puls 100 % u trajanju od 10 minuta. U laboratorijskoj čaši se odvaže uzorak samljevenog lista planike približne mase 5 g. Zatim se u čašu dodaje 400 mL destilirane vode te se uzorak podvrgne ekstrakciji. Nakon ekstrakcije, uzorak se profiltrira preko filter papira u odmjernu tikvicu od 500 mL koja se dopuni destiliranom vodom do oznake. Potom se ekstrakt čuva na 4 °C do provedbe eksperimenata.

3.1.3. Šećer, pektin i limunska kiselina

U ovom eksperimentu, za pripremu želiranih proizvoda korišteni su šećeri saharoza (S Budget, Spar, Mađarska) i fruktoza (GreenLab, Myristica, Izrael). Kao sredstvo za želiranje korišten je pektinski preparat Grinsted® Pectin XSS (Danisco, Danska). Pripremljena je 2,5 %-tna pektinska otopina na način da je odvagano je 25 g pektinskog preparata na tehničkoj vagi Kern (PCB 2500-2, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka) u staklenu čašu volumena 400 mL te je postepeno dodavana destilirana voda uz miješanje štapnim mikserom. Otopina pektina se potom kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 1000 mL te se dopuni destiliranom vodom do oznake i kratko protrese, te skladišti na 4 °C do provedbe eksperimenata. Za korekciju kiselosti, korištena je limunska kiselina, za što je pripremljena 50 %-tna otopina. Na tehničkoj vagi je izvagano 12,5 g limunske kiseline te se odvaga kvantitativno prenijela u odmjernu tikvicu volumena 25 mL i nadopunila destiliranom vodom do oznake.

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema ekstra džemova od jagode

Postupak proizvodnje ekstra džema sastoji se od tri faze: pripreme sirovine, ukuhavanja smjese do zadane suhe tvari i punjenja u odgovarajuću ambalažu. Proizvodnja se zasniva na tvorbi pektinskog gela čvrste konzistencije do kojeg dolazi u prisutnosti odgovarajuće količine pektina, šećera i kiseline. Ukuhavanje smjese vrši se pri atmosferskom tlaku što podrazumijeva ukuhavanje u otvorenoj posudi s temperaturom iznad 100 °C. Bilo je potrebno pripremiti 6 uzoraka ekstra džemova prema planu pokusa prikazanom u tablici 2.

Tablica 2. Plan pokusa za pripremu ekstra džemova od jagode

Uzorci ekstra džemova	Ekstrakt lista planike (%)*	Vrsta šećera
1	0	Saharoza
2	0	Fruktoza
3	15	Saharoza
4	15	Fruktoza
5	30	Saharoza
6	30	Fruktoza

*Udio ekstrakta lista planike prikazan je u odnosu na masu ekstra džema

Pripremljeno je po 200 g svakog uzorka s topljivom suhom tvari 42 %, uz udio voća 45 g na 100 g proizvoda i udio pektina 1 %. Stoga je za pripremu 200 g želiranog proizvoda utrošeno 90 g voćne kaše jagode, 84 g šećera, 2 mL 50 %-tne limunske kiseline i 80 mL 2,5 %-tne pektinske otopine.

Potrebne količine kaše jagode i šećera odvagane su na tehničkoj vagi i potom prebačene u posudu od nehrđajućeg čelika. Odvagana količina voća i šećera izmiješala se uz dodatak odgovarajućeg volumena vodenog ekstrakta lista planike (0 mL, 15 mL ili 30 mL) te se lagano zagrijavala uz kontinuirano miješanje. Nakon što se masa voća, šećera i ekstrakta zagrijala, kuhanje se nastavilo uz kontinuirano miješanje te povremeno mjerenje topljive suhe tvari refraktometrom. Pred sam kraj kuhanja, odnosno kada je količina topljive suhe tvari izmjerena refraktometrom iznosila približno zadanoj topljivoj suhoj tvari (cca 40 %), dodala se pektinska otopina i otopina limunske kiseline te se nastavilo ukuhavanje do 42 % topljive suhe tvari. Po završetku postupka kuhanja, vrući ekstra džem se punio u prethodno sterilizirane staklenke.

3.2.2. Određivanje topljive suhe tvari (% Brix) u ekstra džemovima od jagode, kaši jagode i vodenom ekstraktu planike

Princip određivanja:

Određivanje topljive suhe tvari provedeno je uz direktno očitavanje topljive suhe tvari na digitalnom refraktometru.

Aparatura i pribor:

- digitalni refraktometar (ATAGO PAL-3, Atago Co., LTD, Tokyo, Japan)
- metalna žličica
- staničevina

Postupak mjerenja:

Prije početka mjerenja refraktometar se baždario sa destiliranom vodom na nultu vrijednost pri 20 °C. Metalnom žličicom uzela se manja količina uzorka te se izravno nanijela na staklenu prizmu uređaja i pritiskom na tipku „start“ se izravno očitala vrijednost topljive suhe tvari. Mjerenja u svim uzorcima ekstra džemova provedena su u paralelnim određivanjima.

3.2.3. Određivanje pH vrijednosti u ekstra džemovima od jagode, kaši jagode te vodenom ekstraktu planike

Princip određivanja:

Određivanje pH vrijednosti podrazumijeva direktno očitavanje pH vrijednosti na digitalnom pH-metru.

Aparatura i pribor:

- pH metar Mettler-Toledo FiveEasy F20 (Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Švicarska)
- staničevina
- staklena čašica od 25 mL
- pipeta, volumena 5 mL

Postupak mjerenja:

Prije početka mjerenja, te između svakog mjerenja, elektroda se ispirala destiliranom vodom i obrisala staničevinom. pH vrijednost se mjerila ekstra džemovima od jagode, kaši jagode te ekstraktu planike. Za određivanje pH vrijednosti ekstra džemova i kaše jagode potrebno je bilo izvagati 5 g uzorka u staklenu čašicu od 25 mL te dodati 5 mL destilirane vode i promiješati, a za vodeni ekstrakt planike, u staklenu čašicu od 25 mL otpipetiralo se 5 mL ekstrakta. Mjerenje pH vrijednosti provodilo se uranjanjem elektrode u čašu te direktnim očitavanjem pH vrijednosti na zaslonu uređaja. Mjerenja su u svim uzorcima provedena u paralelnim određivanjima.

3.2.4. Određivanje 5-(hidroksimetil)furan-2-karbaldehida (engl. 5-(*hydroxymethyl*)furan-2-carboxaldehyde, *HMF*) i indeksa posmeđivanja (engl. *Browning index*, *BI*)

Princip određivanja:

HMF je furanski spoj koji nastaje razgradnjom monosaharida (heksoza) u kiselom mediju ili kao produkt Maillardovih reakcija neenzimskog posmeđivanja. Povišena temperatura i duže vrijeme zagrijavanja povoljno utječu na stvaranje HMF-a, a kako mu se pripisuju citotoksična, genotoksična, mutagena i druga štetna djelovanja, potrebno je pratiti njegovu koncentraciju

tijekom prerade. BI se određuje spektrofotometrijski, mjerenjem apsorbancije uzorka na 420 nm nakon prethodne pripreme uzorka.

Aparatura i pribor:

- Centrifuga (Hermile Labortechnik GmbH, Wehingen, Njemačka)
- Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Električna vodena kupelj Grant (JBN5, Cambridge, Velika Britanija)
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- Mikropipete Eppendorf volumena 100 μ L i 1000 μ L
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL, 250 mL i 500 mL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Plastične lađice za vaganje, špatula
- Stakleni lijevci
- Staklene čaše volumena 50 mL, 100 mL i 250 mL
- Vortex Grant-bio (PV-1, Cambs, Velika Britanija)

Otapala i reagensi:

- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Trikloroctena kiselina (Fisher bioreagents, Geel, Belgija)
- 12 %-tna otopina trikloroctene kiseline ($w \cdot v^{-1}$)

Priprema:

60 g trikloroctene kiseline otopi se u malo destilirane vode, te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 500 mL i nadopuni do oznake destiliranom vodom.

- Tiobarbituratna kiselina (ThermoFisher, Kandel, Njemačka)
- 0,025 M otopina tiobarbituratne kiseline ($w \cdot v^{-1}$)

Priprema:

1,4269 g tiobarbituratne kiseline otopi se u malo destilirane vode, te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 500 mL i nadopuni do oznake destiliranom vodom.

- 5-hidroksimetil-furfural ≥ 99 %, HMF (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Njemačka)
- Otopina standarda HMF-a, 20 mg L^{-1}

Priprema:

Odvaži se 5 mg standarda HMF-a u plastičnoj lađici za vaganje te se pomoću 10 mL destilirane vode kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 250 mL i nadopuni do

oznake. Iz alikvotne otopine prirede se redom razrijeđenja od 2,5; 5; 7,5; 10 i 15 mg L⁻¹.

Priprema uzorka:

U 5 g ekstra džema od jagode doda se 10 mL 96 %-tnog etanola te se smjesa centrifugira na 6500 rpm 10 min⁻¹. Supernatant se mikropipetom polako odvoji od taloga te se jedan dio otpipetira u kivetu, a drugi dio u epruvetu pri čemu se prvi koristi za mjerenje Indeksa posmeđivanja na 420 nm, a drugi dio se koristi za spektrofotometrijsko određivanje HMF-a.

Postupak određivanja:

1. Određivanje Indeksa posmeđivanja

Izdvojenom volumenu supernatanta se izmjeri apsorbancija na 420 nm. Kao slijepa proba koristi se destilirana voda. Minimalan volumen supernatanta za spektrofotometrijsko određivanje je 3 mL.

2. Određivanje HMF-a

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 2 mL supernatanta (prema potrebi adekvatno razrijeđenog destiliranom vodom), 2 mL 12 %-tne trikloroctene kiseline i 2 mL 0,025 M tiobarbituratne kiseline. Smjesa se kratko promiješa na vorteksu i postavi na termostatiranje na 40 °C tijekom 50 minuta. Po provedenom termostatiranju sadržaj u epruvetama se naglo ohladi mlazom hladne vodovodne vode tijekom par minuta te mu se mjeri apsorbancija na 443 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto supernatanta uzima destilirana voda.

Izračunavanje Indeksa posmeđivanja:

BI se izračuna prema formuli [1]:

$$BI = A_{420nm} \cdot DF \quad [1]$$

gdje je:

DF = faktor razrijeđenja (DF = 2, za omjer soka i EtOH: 1:1)

Izrada baždarnog pravca:

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se alikvotna otopina standarda HMF-a koncentracije 20 mg L⁻¹. Od te otopine prirede se sljedeća razrijeđenja: 2,5; 5; 7,5; 10 i 15 mg L⁻¹ na način da se otpipetira redom: 3,125; 6,25; 9,375; 12,5 i 18,75 mL alikvotne otopine u odmjerne tikvice od 25 mL, te se do oznake nadopune destiliranom vodom.

Iz svake tikvice otpipetira se 2 mL otopine standarda u staklene epruvete. Potom se doda 2 mL 12 %-tne trikloroctene kiseline i 2 mL 0,025 M tiobarbituratne kiseline. Smjesa se kratko

promiješa na vortexu i postavi na termostatiranje na 40 °C tijekom 50 minuta. Po provedenom termostatiranju sadržaj u epruvetama se naglo ohladi pod mlazom hladne vodovodne vode te mu se mjeri apsorbancija na 443 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto otopine standarda uzima destilirana voda.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrtava se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije hidroksimetilfurfurala (mg L^{-1}), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 443 nm. Koncentracija 5-hidroksimetilfurfurala izračunava se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0729x + 0,0173$$

gdje je:

y - apsorbancija uzorka pri 443 nm

x - koncentracija 5-hidroksimetil-furfurala HMF (mg L^{-1})

3.2.5. Priprema etanolnih ekstrakata džemova

Aparatura i pribor:

- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Plastična lađica za vaganje, špatula
- Erlenmayerova tikvica sa šlifom, volumena 50 mL
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 1000 mL
- Ultrazvučna kupelj (DT 514 H SONOREX DIGITEC 13,5L, 860W, 40 kHz, Bandelin electronic, Njemačka)
- Pipeta, volumena 10 mL

Otapala i reagensi:

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v^{-1})

Priprema:

70 %-tni etanol se pripremi prema postupku opisanom u potpoglavlju 3.1.2. U odmjernu tikvicu od 1 L otpipetira se 10 mL mravlje kiseline i nadopuni do oznake prethodno pripremljenim 70 %-tnim etanolom.

Odvažuje se 5 g uzorka ekstra džema od jagode, odnosno 5 g kaše jagode, u Erlenmayerovu tikvicu sa šlifom od 50 mL te se nadodaje 20 mL ekstrakcijskog otapala (1 % mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu, v v^{-1}). Tako pripremljena smjesa ekstrahira se u ultrazvučnoj kupelji pri

temperaturi od 50 °C i vremenu 15 min. Potom se supernatanti profiltriraju u odmjerne tikvice volumena 25 mL i nadopune ekstrakcijskim otapalom do oznake (Bursać Kovačević i sur., 2016).

3.2.6. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola

Princip određivanja:

Određivanje ukupnih fenola provodi se u alkoholnom ekstraktu uzorka primjenom modificirane spektrofotometrijske metode koja se temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri 725 nm (Yuan i sur., 2018).

Aparatura i pribor:

- UV/Vis Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene kivete
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Plastična lađica za vaganje, špatula
- Pipete, volumena 5 mL, 10 mL
- Mikropipete Eppendorf, volumena 200 µL i 1000 µL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 100 mL, 1000 mL
- Staklena čaša volumena 200 mL
- Staklena menzura od 100 mL i 1 L
- Stakleni lijevak, filter papir
- Ultrazvučna kupelj (DT 514 H SONOREX DIGITEC 13,5L, 860W, 40 kHz, Bandelin electronic, Njemačka)

Otapala i reagensi:

- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens), 5x razrijeđen (Fisher Scientific UK, Loughborough, Velika Britanija)
- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % (v v⁻¹)
- Natrijev karbonat bezvodni (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Otopina natrijevog karbonata; 7,5 % (w v⁻¹)

Priprema:

Odvaže se 75 g bezvodnog natrijeva karbonata u staklenoj čaši te se pomoću destilirane vode kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 1000 mL te destiliranom vodom nadopuni do oznake.

- Standard galne kiseline 97,5 - 102,5 % (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
- Otopina standarda galne kiseline 5 g L⁻¹

Priprema:

Odvaže se 500 mg galne kiseline u plastičnoj ladici za vaganje te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni destiliranom vodom.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v⁻¹)

Priprema etanolnih ekstrakata džemova:

Priprema etanolnih ekstrakata džemova opisana je u potpoglavlju 3.2.5.

Postupak određivanja:

U epruvetu se otpipetira redom 400 µL adekvatno razrijeđenog ekstrakta, 400 µL F.C. reagensa (koji je prethodno razrijeđen s destiliranom vodom 5x) i 4 mL 7,5 %-tne otopine natrijevog karbonata. Reakcijska smjesa stoji 20 minuta na sobnoj temperaturi te se mjeri apsorbanacija pri valnoj duljini od 725 nm.

Izrada baždarnog pravca

Za izradu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline. Odvaga se otopi u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i nadopuni se destiliranom vodom do oznake. Od te otopine galne kiseline (5 g L⁻¹) rade se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 25 mL tako da se otpipetira redom 50, 125, 250, 500, 750 i 1250 µL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se ista nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 10, 25, 50, 100, 150, 250 mg L⁻¹. Iz svake tikvice otpipetira se 400 µL otopine standarda u staklene epruvete te se redom dodaje 400 µL F.C. reagensa (koji je 5x razrijeđen) i 4 mL 7,5 %-tnog natrijeva karbonata (w v⁻¹). Na isti način se pripremi slijepa proba, ali se umjesto otopine standarda uzima destilirana voda. Uzorci stoje 20 minuta na sobnoj temperaturi, a nakon toga mjeri se apsorbanacija pri valnoj duljini 725 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbanacija nacrtava se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije galne kiseline (mg L⁻¹), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbanacije pri 725 nm. Koncentracija ukupnih fenola izračunava se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0078x - 0,0032$$

gdje je:

y - apsorbancija uzorka pri 725 nm

x - koncentracija galne kiseline (mg L^{-1})

3.2.7. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih flavonoida

Princip određivanja:

Određivanje ukupnih flavonoida provodi se u etanolnom ekstraktu uzorka primjenom spektrofotometrijske metode koja se temelji na kolornoj reakciji flavonoida s aluminijevim kloridom i kalijevim acetatom te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri 415 nm (Chang i sur., 2002).

Aparatura i pribor:

- UV/Vis Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene kivete
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Pipete, volumena 5 mL, 10 mL
- Mikropipete Eppendorf od 200, 1000 i 5000 μL
- Odmjerne tikvice, volumena 25, 100 i 1000 mL
- Menzura, volumena 100 mL i 1000 mL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Plastične ladice za vaganje, špatula

Otapala i reagensi:

- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % ($v v^{-1}$)
- Aluminijev klorid; 98,5 %, anhidrid (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Aluminijev klorid, 10 % ($w v^{-1}$)

Priprema:

10 g aluminijevog klorida se otopi u 10 mL destilirane vode te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni do oznake destiliranom vodom.

- Kalijev acetat, 99 %, bezvodni (Acros Organics, Geel, Belgija)
- Kalijev acetat, 1 M

Priprema:

9,845 g kalijevog acetata otopi se u 10 mL destilirane vode te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni do oznake destiliranom vodom.

- Standard kvercetin, 95 %, hidrat (Acros Organics, Kina)
- Otopina standarda kvercetina, 200 mg L⁻¹

Priprema:

Odvaži se 20 mg standarda kvercetina u plastičnoj ladici za vaganje te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 200 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni etanolom. Iz alikvotne otopine prirede se redom razrijeđenja od 10, 25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v⁻¹)

Priprema uzorka:

Postupak pripreme uzorka opisan u potpoglavlju 3.2.5.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 0,5 mL ekstrakta, 1,5 mL 96 %-tnog etanola, 0,1 mL 10 %-tnog aluminijevog klorida, 0,1 mL 1 M kalijevog acetata i 2,8 mL destilirane vode. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju te se umjesto 10 %-tnog aluminijevog klorida dodaje isti volumen destilirane vode (0,1 mL). Reakcijska smjesa stoji potom 30 minuta, nakon čega slijedi mjerenje apsorbancije (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 415 nm.

Izračunavanje

Izrada baždarnog pravca

Potrebno je pripremiti otopinu standarda kvercetina koncentracije 200 mg L⁻¹. Od te otopine standarda pripreme se razrijeđenja u odmjernim tikvicama od 25 mL tako da se otpipetira redom 1,25; 3,125; 6,25; 9,375; 12,5; 18,75 mL alikvota standardne otopine kvercetina u svaku tikvicu i potom se nadopune do oznake 100 %-tnim metanolom. Koncentracije kvercetina u tim tikvicama iznose 10, 25, 50, 75, 100 i 150 mg L⁻¹. Također se za analizu uzima i alikvotna otopina standarda koncentracije 200 mg L⁻¹.

Iz svake tikvice otpipetira se redom 0,5 mL otopine standarda, 1,5 mL 96 %-tnog etanola, 0,1 mL 10 %-tnog aluminijevog klorida, 0,1 mL 1 M kalijevog acetata i 2,8 mL destilirane vode. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima 100 %-tni metanol te se umjesto 10 %-tnog aluminijevog klorida dodaje isti volumen destilirane vode (0,1 mL). Reakcijska smjesa stoji potom 30 minuta, nakon čega slijedi mjerenje apsorbancije (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 415 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrtava se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije kvercetina (mg L^{-1}), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 415 nm. Koncentracija ukupnih flavonoida izračuna se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0064x - 0,0362$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 415 nm,

x – koncentracija kvercetina (mg L^{-1})

3.2.8. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih hidroksicimetnih kiselina i flavonola

Princip određivanja:

Protokolom je definirana metoda određivanja ukupnih hidroksicimetnih kiselina i flavonola. Određivanje se provodi u etanolnom ekstraktu uzorka primjenom spektrofotometrijske metode pri čemu se intenzitet nastalog obojenja mjeri pri 320 nm i 360 nm (Howard i sur., 2003).

Aparatura i pribor:

- UV/Vis Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene i kvarcne kivete
- Analitička vaga Kern (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- Mikropipete Eppendorf od 200, 1000 i 5000 μL
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 1 L
- Menzura, volumena 100 mL i 1000 mL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Plastična ladica za vaganje, špatula

Otapala i reagensi:

- Koncentrirana klorovodična kiselina, 37 % (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % (v v⁻¹)
- Klorovodična otopina 1 g L⁻¹ HCl u 96 %-tnom etanolu (v v⁻¹)

Priprema:

0,227 mL 37 %-tne koncentrirane klorovodične kiseline se otpipetira u odmjernu tikvicu od 100 mL te nadopuni 96 %-tnim etanolom do oznake.

- Klorovodična otopina 2 g L⁻¹ HCl u vodi (v v⁻¹)

Priprema:

0,454 mL 37 %-tne koncentrirane klorovodične kiseline se otpipetira u odmjernu tikvicu od 100 mL te se nadopuni destiliranom vodom do oznake.

- Standard kvercetin hidrat 95 % (Acros Organics, Kina)
- Otopina standarda kvercetina 600 mg L⁻¹

Priprema:

Najprije se pripremi otopina standarda kvercetina u koncentraciji 600 mg L⁻¹. Odvaži se 60 mg standarda kvercetina u plastičnoj ladici za vaganje te se pomoću 30 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni etanolom.

- Klorogenska kiselina, min. 95 %-tna (Alfa aesar, ThermoFisher, Kandel, Njemačka)
- Standard klorogenske kiseline koncentracije 600 mg L⁻¹

Priprema:

Najprije se pripremi otopina standarda klorogenske kiseline u koncentraciji 600 mg L⁻¹. Odvaži se 60 mg standarda klorogenske kiseline u plastičnoj ladici za vaganje te se pomoću 30 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni etanolom.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v⁻¹)

Priprema uzorka:

Postupak pripreme uzorka opisan u potpoglavlju 3.2.5.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 250 μL ekstrakta, 250 μL 1 g L^{-1} HCl u 96 %-tnom etanolu i 4,55 mL 2 g L^{-1} HCl. Za određivanje ukupnih hidroksicimetnih kiselina apsorbancija se mjeri na 320 nm, dok se za određivanje ukupnih flavanola apsorbancija mjeri na 360 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju.

Izračunavanje

Izrada baždarnog pravca

Kvantifikacija ukupnih hidroksicimetnih kiselina provodi se pomoću jednadžbe baždarnog pravca za klorogensku kiselinu, dok se kvantifikacija ukupnih flavonola provodi pomoću jednadžbe baždarnog pravca za kvercetin.

Klorogenska kiselina

Iz alikvotne otopine standarda 600 mg L^{-1} potrebno je prirediti razrjeđenja: 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 i 500 mg L^{-1} na način da se iz otopine alikvota otpipetira redom: 0,416; 1,042; 2,083; 3,125; 4,166; 6,25; 8,333; 12,5 i 20,833 mL i nadopuni 100 %-tnim metanolom u odmjernim tikvicama od 25 mL. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto standarda uzima 100 %-tni metanol.

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 250 μL otopine standarda, 250 μL 1g L^{-1} HCl u 96 %-tnom etanolu i 4,55 mL 2 g L^{-1} HCl. Za određivanje ukupnih hidroksicimetnih kiselina apsorbancija se mjeri na 320 nm u kvarcnim kivetama. Koncentracija ukupnih flavonoida izračuna se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0025x - 0,0038$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 320 nm,

x – koncentracija klorogenske kiseline (mg L^{-1})

Kvercetin

Iz alikvotne otopine standarda 600 mg L^{-1} potrebno je prirediti razrjeđenja: 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 i 500 mg L^{-1} na način da se iz otopine alikvota otpipetira redom: 0,416; 1,042; 2,083; 3,125; 4,166; 6,25; 8,333; 12,5; 16,666 i 20,833 mL i nadopuni 100 %-tnim metanolom u odmjernim tikvicama od 25 mL. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto standarda uzima 100 %-tni metanol.

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 250 μL otopine standarda, 250 μL 1 g L^{-1} HCl u 96 %-tnom etanolu i 4,55 mL 2 g L^{-1} HCl. Za određivanje ukupnih flavonola apsorbancija se mjeri na 360 nm u staklenim kivetama.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0026x + 0,0083$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 360 nm,

x – koncentracija kvercetina (mg L^{-1})

3.2.9. Određivanje polimernih proantocijanidina vanilin metodom

Princip određivanja:

Princip određivanja polimernih proantocijanidina temelji se na specifičnosti spojeva iz skupine flavan-3-ola da reagiraju s vanilinom uslijed čega nastaju obojeni spojevi koji se kvantitativno određuju mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri 500 nm (Sun i sur., 1998).

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene kivete
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- Mikropipete Eppendorf volumena 100 μL i 1000 μL
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL, 50 mL, 100 mL i 1000 mL
- Menzure, volumena 100 mL i 1000 mL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Plastične ladice za vaganje, špatula
- Stakleni lijevak, filter papir
- Staklene čaše volumena 50 mL, 100 mL i 250 mL

Otapala i reagensi:

- Metanol za HPLC $\leq 99,9\%$ (Honeywell, Riedel-de-Haën TM, Francuska)
- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % ($v v^{-1}$)
- Vanilin, 99 % (ThermoFisher, Kandel, Njemačka)
- 1 %-tna metanolna otopina vanilina

Priprema:

1 g vanilina se u odmjernoj tikvici od 100 ml nadopuni 100%-tnim metanolom do oznake.

- Koncentrirana H_2SO_4 , 96 % (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 25 %-tna otopina H_2SO_4

Priprema:

13,02 mL 96 %-tne H_2SO_4 prenese se u odmjernu tikvicu od 50 mL u koju je prethodno dodano malo 96 %-tnog etanola (cca 20 mL). Tikvica se obavezno drži u hladnoj vodenoj kupelji, a konc. H_2SO_4 se dodaje u malim obrocima. Po dodatku cijelog volumena kiseline, tikvica se do oznake nadopuni 96 %-tnim etanolom.

- Standard katehina (5 g L^{-1})

Priprema:

Odvaži se 500 mg standarda katehina u plastičnoj lađici za vaganje te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni etanolom.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v^{-1})

Priprema uzorka:

Postupak pripreme uzorka opisan u potpoglavlju 3.2.5.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu otpipetira se redom 2,5 mL 1 %-tnog vanilina, 2,5 mL 25 %-tne otopine H_2SO_4 i 1 mL ekstrakta. Sve skupa se promiješa, a potom se uzorci ostave stajati 10 minuta pri sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 500 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima otapalo za ekstrakciju.

Izračunavanje

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se alikvotna otopina standarda katehina koncentracije 5 g L^{-1} . Od te otopine prirede se slijedeća razrijeđenja: 10, 30, 60, 90 i 120 mg L^{-1} na način da se otpipetira redom: 50, 150, 300, 450 i $600 \mu\text{L}$ alikvotne otopine u odmjerne tikvice od 25 mL, te se do oznake nadopune 100 %-tnim metanolom. Iz svake tikvice otpipetira se 1 mL otopine standarda u staklene epruvete. Potom se dodaje 2,5 mL 1 %-tnog vanilina i 2,5 mL 25 %-tne otopine H_2SO_4 . Uzorci se ostave stajati 10 minuta pri sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 500 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima metanol.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrtat će se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije katehina ($\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 500 nm. Koncentracija polimernih proantocijanidina izračunat će se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0053x - 0,0124$$

gdje je:

y - apsorbancija uzorka pri 500 nm

x - koncentracija katehina (mg L^{-1})

3.2.10. Spektrofotometrijsko određivanje monomernih antocijana

Princip određivanja:

Kvantitativno određivanje monomernih antocijana zasniva se na svojstvu antocijana da pri promjeni pH vrijednosti reverzibilno mijenjaju svoju kemijsku strukturu pri čemu dolazi do promjene apsorpcijskog spektra. Sniženje pH otopine izaziva povećanje apsorpcije i obrnuto, a koncentracija antocijana proporcionalna je razlici apsorbancija u otopinama kod dva različita pH pri valnoj dužini maksimalne apsorpcije za pojedine antocijane (AOAC, 1990).

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- pH metar Mettler-Toledo FiveEasy F20 (Mettler-Toledo GmbH, Greifensee, Švicarska)
- Staklena čaša, stakleni lijevak, filter papir
- Staklene kivete
- Analitička vaga (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Plastična ladica za vaganje, špatula
- Mikropipete Eppendorf, volumena 1000 μL i 5000 μL
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Odmjerne tikvice, volumena 25 mL i 1000 mL

Otapala i reagensi:

- Mravlja kiselina 98 % p.a. (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70%-tnom etanolu
- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % (v v^{-1})

- Klorovodična kiselina, 37 % (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Kalijev klorid; 99,0-100,5 % (ThermoFisher GmbH, Kandel, Njemačka)
- Kalijev kloridni pufer pH 1,0 (kalij klorid 0,025 M)

Priprema:

U plastičnoj lađici za vaganje odvažuje se 1,86 g kalijeva klorida (KCl) koji se kvantitativno prenese u staklenu čašu volumena 1 L, koja se prije upotrebe dobro ispere deioniziranom vodom, te se doda 960 mL deionizirane vode i odvaga se otopi. Pripremljenoj otopini izmjeri se pH, i podesi na vrijednost 1,0 ($\pm 0,05$) s klorovodičnom kiselinom (37 %-tna HCl), čiji utrošak približno iznosi 10 mL. Kad je otopina podešena na pH 1,0 prebaci se u odmjernu tikvicu volumena 1 L, koja se prije upotrebe dobro ispere deioniziranom vodom, te do oznake nadopuni deioniziranom vodom.

- Natrij acetat, bezvodni, 99 % (ThermoFisher GmbH, Kandel, Njemačka)
- Natrij acetatni pufer 4,5 (natrijev acetat; 0,4 M)

Priprema:

U staklenoj čaši volumena 100 mL odvažuje se 54,43 g natrijeva acetata trihidrata ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \times 3\text{H}_2\text{O}$) koji se kvantitativno prenese u staklenu čašu volumena 1 L, koja se prije upotrebe dobro ispere deioniziranom vodom, te se doda 930 mL deionizirane vode i odvaga se otopi. Pripremljenoj otopini izmjeri se pH, i podesi na vrijednost 4,5 ($\pm 0,05$) s klorovodičnom kiselinom (37 %-tna HCl), čiji utrošak približno iznosi 35 mL. Kad je otopina podešena na pH 4,5 prebaci se u odmjernu tikvicu volumena 1 L, koja se prije upotrebe dobro ispere deioniziranom vodom, te do oznake nadopuni deioniziranom vodom.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v^{-1})

Priprema uzorka:

Postupak pripreme uzorka opisan u potpoglavlju 3.2.5.

Uzorci koji se mogu pipetirati (npr. ekstrakti), koriste se izravno u reakciji. Potrebno je odabrati odgovarajući volumen uzorka kako se ne bi narušio kapacitet pufera i vrijednost apsorpcije, obzirom da se na jedan dio uzorka najviše dodaju četiri dijela pufera (npr. u staklenu epruvetu se optipetira 4 mL odgovarajućeg pufera i 1 mL uzorka pri čemu je faktor razrijeđenja (FD) 5).

Postupak određivanja:

Reakcija se postavlja u staklenim epruvetama na način da se za mjerenje jednog uzorka pripreme po dvije epruvete i označe se oznakama pufera (npr. za isti uzorak se na jednu epruvetu napiše pH 1, a na drugu pH 4.5). U svaku se epruvetu potom otpipetira po 1 mL pripremljenog ekstrakta (ili uzorka), a potom se u jednu epruvetu nadoda 4 mL pufera pH 1,0, a u drugu 4 mL pufera pH 4,5. Nakon 20 minuta, pripremljenim reakcijskim otopinama, mjeri se apsorbancija pri 520 nm i 700 nm, uz deioniziranu vodu kao slijepu probu. Ukoliko su pripremljene reakcijske otopine mutne, poželjno je prije spektrofotometrijskog mjerenja provesti centrifugiranje ili filtriranje kako bi se uklonile čestice mutnoće.

Izračunavanje:

Koncentracija monomernih antocijana u uzorku izračunava se kao ekvivalent cijanidin-3-glukozida ili pelargonidin-3-glukozida (mg L^{-1}) prema formuli [2]:

$$\frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\varepsilon \times l} \quad [2]$$

gdje je:

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}=1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}=4,5}$$

MW = molekulska masa (za pelargonidin-3-glukozid $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{ClO}_{10} = 468,8 \text{ g mol}^{-1}$)

DF = faktor razrjeđenja

10^3 = faktor za preračunavanje g u mg

ε = molarni apsorpcijski ekstinkcijski koeficijent (za pelargonidin-3-glukozid $31600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ u otapalu 1 % HCl MeOH⁻¹)

l = debljina kivete (1 cm)

3.2.11. Određivanje antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom

Princip određivanja:

Metoda određivanja antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom se temelji na reakciji redukcije žuto obojenog kompleksa željezo-2,4,6-tris-2-piridil-s-triazina (TPTZ) pri čemu nastaje plavo obojeni kompleks fero-tripiridiltriazin koji ima apsorpcijski maksimum pri 593 nm (Benzie, 1996).

Aparatura i pribor:

- UV/Vis Spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka)
- Staklene kivete
- Analitička vaga Kern (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Tehnička vaga Kern (PCB 2500-2, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka)
- Električna vodena kupelj Grant (JBN5, Cambridge, Velika Britanija)
- Vortex Grant-bio (PV-1, Cambs, Velika Britanija)
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- Mikropipete Eppendorf od 200, 1000 i 5000 μ L
- Odmjerne tikvice, volumena 10 mL, 25 mL, 100 mL i 1 L
- Staklene epruvete i stalak za epruvete
- Plastična lađica za vaganje, špatula

Otapala i reagensi:

- Standard Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) (Biosynth s.r.o., Bratislava, Slovačka)
- Otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina), 1 mM

Priprema:

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 1 mM otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) tako da se odvaže 0,025 g Troloxa. Odvaga se otopi u 96 %-tnom etanolu i nadopuni etanolom u odmjerne tikvici od 100 mL.

- Klorovodična kiselina, 37 % (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- Klorovodična kiselina, 40 mM

Priprema:

Otpipetira se 330 μ L 37 %-tne klorovodične kiseline i nadopuni destiliranom vodom u odmjerne tikvici od 100 mL.

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

Priprema:

Odvaže 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.

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

Priprema:

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

- Ledena octena kiselina, $\geq 99,8\%$ (Honeywell, FlukaTM, Seelze, Njemačka)
- Natrijev acetat trihidrat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Acetatni pufer; 0,3 M; pH 3,6

Priprema:

Odvaže se 3,1 g natrijev acetat trihidrata u plastičnoj lađici za vaganje i kvantitativno prenese pomoću destilirane vode u odmjernu tikvicu volumena 1 L, u koju se potom otpipetira 16 mL ledene octene kiseline i nadopuni se destiliranom vodom do oznake.

- FRAP reagens
- Etanol, 96 % (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Etanol, 70 % (v v⁻¹)

Priprema:

U staklenoj čaši volumena 50 mL pripremi se FRAP reagens na način da se pomiješa 25 mL acetatnog pufera (0,3 M), 2,5 mL TPTZ reagensa i 2,5 mL željezova(III)klorida u omjeru 10:1:1.

Prije početka rada sve reagense (uključujući i standarde) potrebno je inkubirati na 37 °C.

- Mravlja kiselina, 98 % p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Češka)
- 1 %-tna mravlja kiselina u 70 %-tnom etanolu (v v⁻¹)

Priprema uzorka:

Postupak pripreme uzorka opisan u potpoglavlju 3.2.5.

Postupak određivanja:

U staklene epruvete redom se otpipetira 600 μ L ekstrakta i 4500 μ L FRAP reagensa, dobro se promiješa te 10 minuta termostatira na temperaturi 37 °C. Zatim se mjeri apsorbancija pri 593 nm. Slijepa proba sadržava sve osim uzorka, umjesto kojeg se dodaje otapalo u kojem je uzorak ekstrahiran. Ukoliko izmjerene apsorbancije prelaze vrijednost 1,0 ekstrakte uzoraka je potrebno razrijediti na način da izmjerene apsorbancije u razrijeđenim ekstraktima iznose od 0,1 do 0,9.

Izračunavanje

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 1 mM otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) tako da se odvaga od 0,025 g Troloxa otopi u 100 %-tnom metanolu i nadopuni metanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL.

Od ove otopine pripreme se razrjeđenja u koncentracijama 10, 25, 50, 100, 125 i 150 μM na način da se redom otpipetira 0,25; 0,625; 1,25; 2,5; 3,125; 3,75 i 5 mL u odmjerne tikvice od 25 mL, te se iste do oznake nadopune 100 %-tnim metanolom.

U staklene epruvete redom se otpipetira 600 μL otopine standarda i 4500 μL FRAP reagensa, dobro se promiješa te 10 minuta termostatira na temperaturi 37 °C (vodena kupelj od rotavapora). Zatim se mjeri apsorbancija pri 593 nm. Slijepa proba sadržava sve osim uzorka, umjesto kojeg se dodaje 100 %-tni metanol.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije nacrtava se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μM) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati. Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračuna se antioksidacijski kapacitet uzoraka određen FRAP metodom.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,005x - 0,0081$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 593 nm,

x – koncentracija Troloxa (μM)

3.2.12. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Princip određivanja:

Metoda se temelji na sposobnosti molekula antioksidanasa da reduciraju stabilni radikal kation 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS^+). U prisutnosti antioksidanasa stabilni ABTS^+ kation se reducira u ABTS^{+*} , a u reakciji se manifestira obezbojenjem plavo-zelene otopine (Re i sur., 1999).

Vrijednosti dobivene za apsorbanciju uzorka izmjerenih ABTS^+ metodom preračunavaju se primjenom baždarnog pravca te se rezultati izražavaju preko Trolox ekvivalenta.

Aparatura i pribor:

- odmjerne tikvice, volumena 5 mL, 10 mL, 25 mL i 100 mL
- mikropipete, volumena 100 μL i 1000 μL ,
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL i 10 mL,

- Staklene epruvete i stalak za epruvete,
- kivete,
- UV/VIS spektrofotometar (LLG-uniSpec 2, Spectrophotometer, Meckenheim, Njemačka),
- Analitička vaga Kern (ABJ220-4NM, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Njemačka),
- Vortex Grant-bio (PV-1, Cambs, Velika Britanija),
- Plastična ladica za vaganje, špatula

Reagensi:

- 7 mM otopina ABTS⁺ (m v⁻¹)

Priprema:

0,0192 g ABTS⁺ -a otopi se u odmjernoj tikvici od 5 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake.

- 140 mM otopina kalijeva persulfata (m v⁻¹), K₂S₂O₈

Priprema:

0,18920 g K₂S₂O₈ otopi se u odmjernoj tikvici od 5 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Priprema ABTS⁺ otopine:

Prvi dan se pomiješa 88 µL kalijeva persulfata, K₂S₂O₈ s 5 mL ABTS⁺ -a pri čemu konačna koncentracija kalijeva persulfata iznosi 2,45 mmol L⁻¹ te ova otopina predstavlja ABTS⁺ reagens. Tikvica se potom obloži aluminijskom folijom i čuva u mraku od 12 do 16 sati. Drugi dan se od pripremljenog ABTS⁺ reagensa priprema 1 %-tna ABTS⁺ otopina pri čemu se pripremljeni ABTS⁺ reagens uzima se kao 100 %-tna otopina. 1000 µL ABTS⁺ reagensa se otpipetira u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te nadopuni 96 %-tnim etanolom do oznake. Pripremljenoj otopini mjeri se apsorbancija pri 734 nm uz 96 %-tni etanol kao slijepu probu te ona treba iznositi 0,734 ± 0,02. Ukoliko je apsorbancija veća od 0,734, ABTS⁺ otopinu je potrebno razrijediti 96 %-tnim etanolom, a ukoliko je apsorbancija manja od 0,734, potrebno je nadodati ABTS⁺ reagensa te uzastopno ponavljati mjerenja dok se ne dostigne zadana apsorbancija.

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu se otpipetira 160 µL razrijeđenog fenolnog ekstrakta (priređenog za određivanje ukupnih fenola) te se doda 2 mL ABTS⁺ otopine. Apsorbancija se mjeri točno nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi u mraku uz etanol kao slijepu probu na 734 nm.

Ukoliko izmjerene apsorbance ekstrakata prelaze vrijednost od 513 nm potrebno je ekstrakte razrijediti.

Izračunavanje:

Rezultati se mogu prikazati kao % inhibicije putem formule [3] ili pomoću jednadžbe baždarnog dijagrama:

$$I (\%) = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100 \quad [3]$$

gdje je:

A_0 – apsorbancija ABTS⁺ otopine

A_s – apsorbancija uzorka

Izrada baždarnog pravca:

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 1 mM otopina Troloxa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) tako da se odvaže 0,025 g Troloxa. Odvaga se otopi u 96 %-tnom etanolu i nadopuni etanolom u odmjernoj tikvici od 100 mL.

Od 1 mM otopine Troloxa pripreme se razrijeđenja u koncentracijama 25, 50, 100, 200 i 300 μ M na način da se redom otpipetira 0,625; 1,25; 2,5; 5 i 7,5 mL u odmjerne tikvice od 25 mL, te se iste do oznake nadopune 96 %-tnim etanolom.

U staklene epruvete redom se otpipetira 160 μ L otopine standarda i 2 mL ABTS⁺ otopine. Apsorbancija se mjeri točno nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi u mraku uz etanol kao slijepu probu na 734 nm.

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije nacrtava se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μ M) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati. Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračuna se antioksidacijski kapacitet uzoraka određen ABTS metodom.

Na temelju podataka dobivenih u ovom radu jednadžba baždarnog pravca glasi:

$$y = -0,0015x + 0,5143$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 734 nm

x – koncentracija ABTS⁺ otopine

3.2.13. Senzorska evaluacija ekstra džema od jagode

Od 6 pripremljenih ekstra džemova od jagode, izabran je uzorak s najvećim bioaktivnim potencijalom za senzorsko ocjenjivanje metodom kvantitativne deskriptivne analize.

Kvantitativna deskriptivna analiza (QDA) je senzorska metoda ocjenjivanja koja se koristi za detaljnu i objektivnu procjenu senzorskih karakteristika proizvoda. Ova metoda omogućava identifikaciju, kvantifikaciju i opis specifičnih svojstava proizvoda (npr. boja, miris, okus, tekstura) koristeći obučeni panel senzorskih ocjenjivača (Bursać i sur., 2007).

Ocijenjeno je ukupno 12 senzorskih deskriptora: intenzitet crvene boje, miris na jagodu, strani miris, aroma po jagodi, aroma na kuhano, strana aroma, slatkoća, kiselost, harmoničnost, strani okus, homogenost i čvrstoća. Svako senzorsko svojstvo ocijenjeno je prema intenzitetu brojčanim vrijednostima od 1 do 7, pri čemu se najslabije izražena svojstva ocijenjena najnižim, a najjače izražena svojstva najvišim vrijednostima, a u ocjenjivanju je sudjelovalo 12 senzorskih ocjenjivača. Prikupljeni podaci (intenziteti atributa) su prikazani grafički (npr. spider dijagrami) za vizualizaciju senzorskog profila proizvoda.

3.3. OBRADA REZULTATA

Eksperimentalni podaci dobiveni ovim istraživanjem obrađeni su u programu Microsoft Excel. Rezultati su prikazani kao srednja dvaju paralelnih određivanja $\pm$ standardna devijacija. Grafički su prikazane ovisnosti pH vrijednosti, udjela topljive suhe tvari, vrijednosti indeksa posmeđivanja, masenih udjela hidroksimetilfurfurala, ukupnih fenola, ukupnih flavonoida, hidroksicimetnih kiselina, ukupnih flavonola, kondenziranih tanina, antocijana, kao i vrijednosti ukupnog antioksidacijskog kapaciteta, određenog FRAP i ABTS metodama, o udjelima vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) u 6 uzoraka ekstra džema od jagoda sa sniženom energetsom vrijednošću te ovisno o korištenom šećeru (saharoza, fruktoza) u pripremi džemova. Također, grafički su prikazani (tzv. „paukovom mrežom“) i rezultati senzorske analize odabranog ekstra džema od jagode sa sniženom energetsom vrijednošću.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom eksperimentalnom istraživanju, pripremljeno je i ispitano 6 uzoraka ekstra džemova od jagoda sa sniženom energetsom vrijednošću koji su sadržavali različite udjele vodenog ekstrakta lista planike (0 %, 15 % i 30 %) te različite šećere (saharoza vs. fruktoza). Cilj rada je bio utvrditi utjecaje dodataka različitih šećera, kao i dodatka različitih udjela vodenog ekstrakta lista planike na bioaktivni sastav i antioksidacijski potencijal gotovih proizvoda.

4.1. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA EKSTRA DŽEMOVA OD JAGODE

Ispitan je utjecaj dodatka različitih šećera (saharoza i fruktoza) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na pH vrijednost i vrijednosti topljive suhe tvari (SSC), indeksa posmeđivanja (BI) i hidroksimetilfurfurala (HMF) u 6 uzoraka ekstra džemova od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti, a dobiveni rezultati prikazani su grafički na slici 1.

Prema dobivenim rezultatima najveću pH vrijednost imao je ekstra džem od jagode pripremljen s fruktozom i 30 % ekstrakta planike, a najmanju pH vrijednost uzorak s fruktozom i 15 % ekstrakta planike. Usporedbom uzoraka pripremljenih sa saharozom, može se uočiti da najmanju pH vrijednost ima uzorak bez dodanog ekstrakta planike (0 %), a veću i ujednačenu pH vrijednost su imali uzorci s 15 i 30 % ekstrakta planike. Usporedbom uzoraka s dodanom fruktozom ne uočava se isti trend, te je najmanju pH vrijednost imao uzorak s 15 %, a najveću uzorak s 30 % ekstrakta planike. Može se uočiti porast pH vrijednosti s porastom udjela dodanog ekstrakta planike koji ima višu pH vrijednost od svježje jagode. Curi i sur. (2016) izvijestili su da je sortu *Albion* karakterizirala pH vrijednost od 3,09. Prema Šic Žlabur i sur. (2020) prosječna pH vrijednost lista planike (*Arbutus unedo L.*) iznosila je 5,06 neovisno o lokalitetu uzgoja. Prema ovim bi podacima, dodatak ekstrakata mogao biti zaslužan za povišenje pH vrijednosti džemova u usporedbi s džemovima bez ekstrakta (uz iznimku uzorka s 15 % ekstrakta i fruktozom). Nije uočen trend ni kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim korištenim šećerom. U uzorcima bez ekstrakta planike (0 %), višu vrijednost pH imao je ekstra džem s dodanom fruktozom; u ekstra džemovima s ekstraktom planike od 15 %, višu vrijednost pH imao je ekstra džem s dodanom saharozom, a u ekstra džemovima s ekstraktom planike od 30 %, višu vrijednost pH imao je ekstra džem sa dodanom fruktozom. Hyvönen i Törmä (1983) ispitivali su šećere, šećerne alkohole i umjetna sladila kao zamjene za saharozu u džemu od jagoda. Dobiveni rezultati upućuju da je džem s 40 % saharoze imao manju pH vrijednost od džema s 40 % fruktoze. Jribi i sur. (2021) ispitivali

su formulacije kontrolnih džemova i džemova od jagoda s niskim sadržajem šećera. Kontrolni džem s 600 g saharoze imao je manju pH vrijednost od džema sa 300 g saharoze + 200 g fruktoze. Rezultati navedenih istraživanja u skladu su s rezultatima ovog rada (uz iznimku džemova s 15 % ekstrakta).

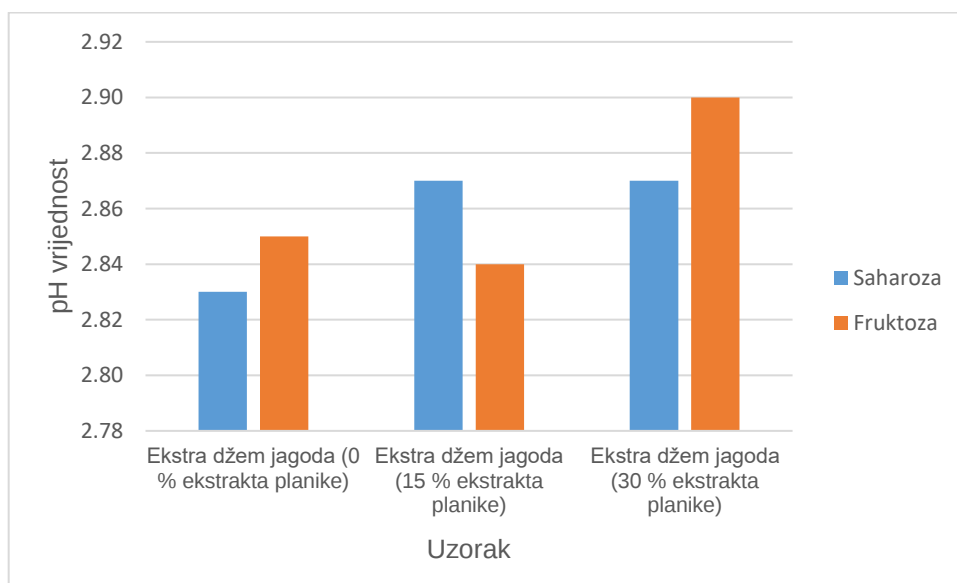
Promotri li se rezultati za SSC, najveća vrijednost određena je u uzorku s fruktozom i 30 % ekstrakta planike, a najmanja u uzorku sa saharozom i 30 % ekstrakta planike. Kako je topljiva suha tvar u prvom redu određena udjelom šećera i organskih kiselina, njezin se porast može objasniti porastom udjela ukupnog šećera u plodu uz istodobno smanjenje udjela organskih kiselina odnosno rastom pH vrijednosti (Luka Batur, 2021; Šturm i sur., 2003). U ovom radu, porastom pH vrijednosti, SSC se povećala jedino u uzorku džema s 30 % ekstrakta i fruktozom. Usporedbom uzoraka sa saharozom, može se uočiti da se udio SSC smanjio s povećanjem udjela ekstrakta planike u džemu, pri čemu je ekstra džem s 30 % dodanog ekstrakta imao najmanji SSC, a ekstra džem bez dodanog ekstrakta (0 %), najveći SSC. U uzorcima s fruktozom, uočljiv je suprotan trend gdje se SSC povećava s većim udjelom ekstrakta planike u džemu. Ekstra džem s 30 % udjela ekstrakta planike imao je najveći SSC, dok je ekstra džem bez ekstrakta planike (0 %) imao najmanji SSC. Nije uočen trend ni kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim korištenim šećerom. Kod ekstra džemova s ekstraktom planike od 15 i 30 %, viši udio SSC imali su ekstra džemovi s dodanom fruktozom, dok je u uzorcima bez ekstrakta planike (0 %), veći SSC imao ekstra džem sa saharozom. Prema Jribi i sur. (2021), kontrolni džem sa 600 g saharoze imao je veću SSC vrijednost od džema sa 300 g saharoze + 200 g fruktoze. Rezultati ovog rada nisu u skladu s time, osim uzoraka džemova bez dodatka ekstrakta. Razlog tome bi mogao biti taj što je fruktoza slađa i više topljiva od glukoze ili saharoze (Hallfrisch, 1990) pa je porastom ukupnog udjela šećera u džemu, rasla i vrijednost SSC.

Nadalje, najveću vrijednost BI imao je ekstra džem s 30 % ekstrakta i šećerom saharozom, a najmanju vrijednost uzorak s 15 % ekstrakta i dodanom fruktozom. Usporedbom ekstra džemova pripremljenih sa saharozom, može se uočiti da se vrijednost BI povećavala s većim udjelom ekstrakta planike u uzorcima, pa je tako najveću vrijednost imao ekstra džem s 30 %, a najmanju ekstra džem bez ekstrakta planike (0 %). Usporedbom uzoraka pripremljenih s fruktozom, nije uočen trend, pa je najveću BI vrijednost imao uzorak bez ekstrakta (0 %), a najmanju uzorak s 15 % ekstrakta planike. Nije uočen trend ni kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim korištenim šećerom. U uzorcima ekstra džema bez dodanog ekstrakta planike (0 %), veću vrijednost BI imao je uzorak s dodanom fruktozom. Ova tvrdnja je u skladu s Nayaka i sur. (2022) gdje je najveći BI u koži guave zabilježen u uzorku koji je sadržavao fruktozu, u odnosu na uzorke sa saharozom i glukozom. U uzorcima ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 15 %, veću vrijednost BI imao je uzorak s

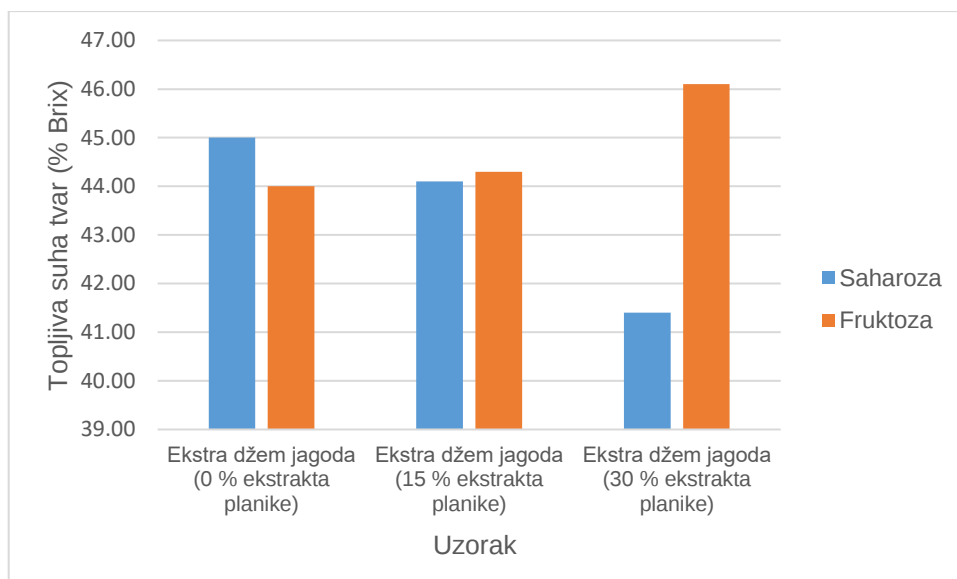
dodanom saharozom, a u uzorcima ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 30 %, veću vrijednost BI imao je uzorak s dodanom saharozom. Oh i sur. (2006) istraživali su učinak pH na neenzimatsku reakciju posmeđivanja uzrokovanu obradom γ -zračenjem. Razvoj smeđe boje ozračenih otopina šećera i glicina bio je veći u sustavu pufera nego u deioniziranoj destiliranoj vodi s višim pH, što je u skladu samo s džemovima s dodanim ekstraktom od 30 % u ovom radu. Također, vrijednost intenziteta tamnjenja kretala se sljedećim redoslijedom: saharoza $\geq$ fruktoza > glukoza što je u skladu s rezultatima ovog rada (uz iznimku džemova bez ekstrakta). Prema Yun i sur. (2023), SSC vrijednost ($^{\circ}$ Brix) bila je manja za LSJ- džem od nara bez dodanog šećera, u odnosu na HSJ- džem od nara s 200 g kg⁻¹ dodanog šećera (saharoza). Vrijednost BI bila je za LSJ manja nego za HSJ. pH vrijednost za LSJ bila je manja nego za HSJ. BI vrijednost se povećala s višom vrijednosti SSC i višim pH. Rezultati ovog rada suprotni su tvrdnji za BI i SSC, a u skladu su sa tvrdnjom za BI i pH (uz iznimku uzoraka džemova s 30 % ekstrakta). Karseno i sur. (2017) promatrali su učinak pH i temperature na intenzitet tamnjenja kokosovog šećera i njegovu antioksidacijsku aktivnost. Otkrili su da se povećanjem početnog pH soka dodatno povećao intenzitet tamnjenja kokosovog šećera, što je u skladu sa svim džemovima, uz iznimku džemova s 30 % ekstrakta. García-Viguera i sur. (1999) su izvijestili da bi degradacija i gubitak crvene boje džema od jagoda mogla biti posljedica Maillardovog i neenzimskog tamnjenja. Maillardova reakcija je neenzimska reakcija posmeđivanja koja zahtijeva reducirajuće šećere i amino spojeve kao reaktante (Manzocco i sur., 2011; Jaeger, 2010). Kokosov sok sadrži saharozu koja se lakše hidrolizira u glukozu i fruktozu (reducirajuće šećere) kada se zagrijava u uvjetima niskog pH (Karseno i sur., 2017), tj. dodatak saharoze povećava BI, što je u skladu s rezultatima ovog rada (uz iznimku džemova bez ekstrakta).

U proizvodnji želiranih proizvoda, cilj je u što većoj mjeri očuvati nutritivna svojstva voća, a prekomjerna količina HMF-a može signalizirati degradaciju pojedinih sastojaka. Prema dobivenim rezultatima, najveća HMF vrijednost je određena u uzorku s 30 % ekstrakta planike i dodanom fruktozom, a najmanja u uzorku s 15 % ekstrakta i dodanom saharozom. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenih sa saharozom, nije uočen trend, pa je najveći udio HMF-a imao ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 30 %, a najmanji onaj s dodanim ekstraktom planike od 15 %. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenima sa šećerom fruktozom, nije uočen sličan trend, te je najveći udio HMF-a određen u uzorku s 30 % ekstrakta, a najmanji u uzorku s 15 % ekstrakta. Uočen je trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelima ekstrakata, a različitim korištenim šećerom. Od uzoraka ekstra džemova a istim dodanim udjelom ekstrakta planike, veći udio HMF-a imao je uzorak s fruktozom u usporedbi sa uzorkom uz dodanu saharozu. Prema Nayaka i sur. (2022) guava koža s fruktozom imala je najvišu vrijednost reducirajućeg šećera u usporedbi sa saharozom i

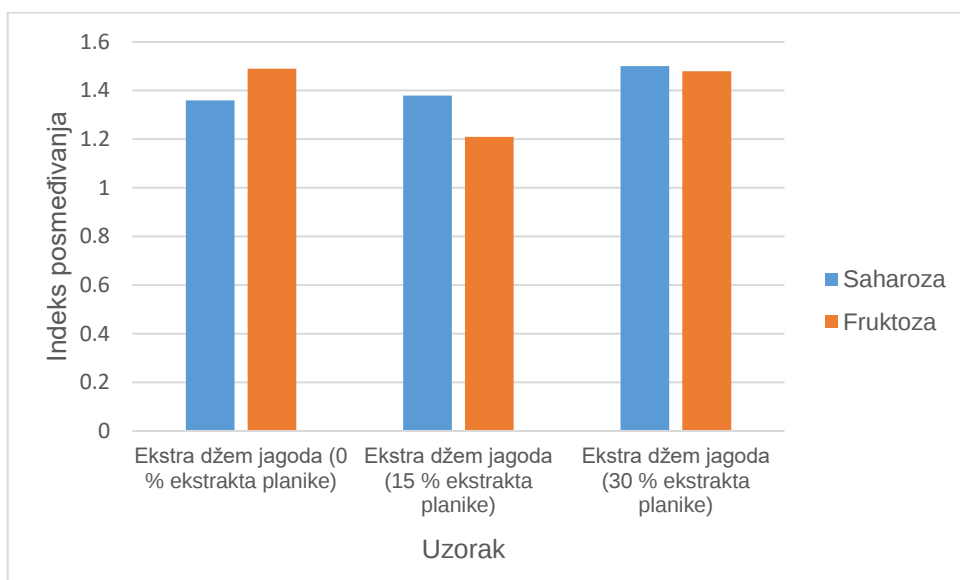
glukozom, a kako su reducirajući šećeri potrebni za Maillardovu reakciju, mogu pridonijeti stvaranju HMF-a. Sukladno tome, rezultati ovog rada su u skladu s navedenim istraživanjem. HMF je derivat furana koji nastaje trostrukom dehidracijom heksoza (uglavnom glukoze) (Becerra i sur., 2022). Prema Shen i sur. (2021) vrijednosti formiranog furana u džemovima od jagode s dodatkom fruktoze bile su više u usporedbi s džemovima od jagode s dodatkom glukoze i saharoze. Kako je HMF derivat furana, više vrijednosti furana mogu dati više vrijednosti HMF-a. Prema tome, rezultati ovog rada gdje su džemovi s fruktozom imali veću vrijednost HMF-a za razliku od džemova sa saharozom, su u skladu sa Shen i sur. (2021). Također, uočeno je da su uzorci ekstra džemova, neovisno o tipu šećera, najviše vrijednosti HMF-a imali uz dodatak 30 % ekstrakta, a najmanje vrijednosti uz 15 % ekstrakta. HMF nastaje dehidracijom šećera ili Amadori preuređenjem u Maillardovoj reakciji (Zhang i sur., 2016). Prema Karseno i sur. (2017), broj Maillardovih reakcija raste s povećanjem pH. Stoga je stvaranje smeđeg obojenja bilo manje pri niskom početnom pH, nego pri visokom početnom pH slatkog soka kokosove palme. Kako je HMF pokazatelj neenzimskog posmeđivanja (Kus i sur., 2005), rezultati usporedbe džemova s dodanom fruktozom te rezultati za džemove s 0 % i 30 % ekstrakta ovog rada u skladu su s navedenom tvrdnjom Karseno i sur. (2017). Türkyılmaz i sur. (2023) ispitali su povećanje stabilnosti boje soka od nara mjerenje udjela HMF-a kroz kopigmentaciju s polifenolnim kiselinama. Dodavanje polifenolnih kiselina (galne, kafeinske i ferulinske kiseline) smanjilo je brzinu stvaranja HMF-a. Rezultati tog istraživanja u skladu su s rezultatima ovog rada gdje je usporedbom džemova s dodanim ekstraktima uočeno da su džemovi s višim sadržajem HCK posljedično imali i manji sadržaj HMF-a. Sadržaj dobivenih vrijednosti za HCK u džemovima prikazan je na slici 2.



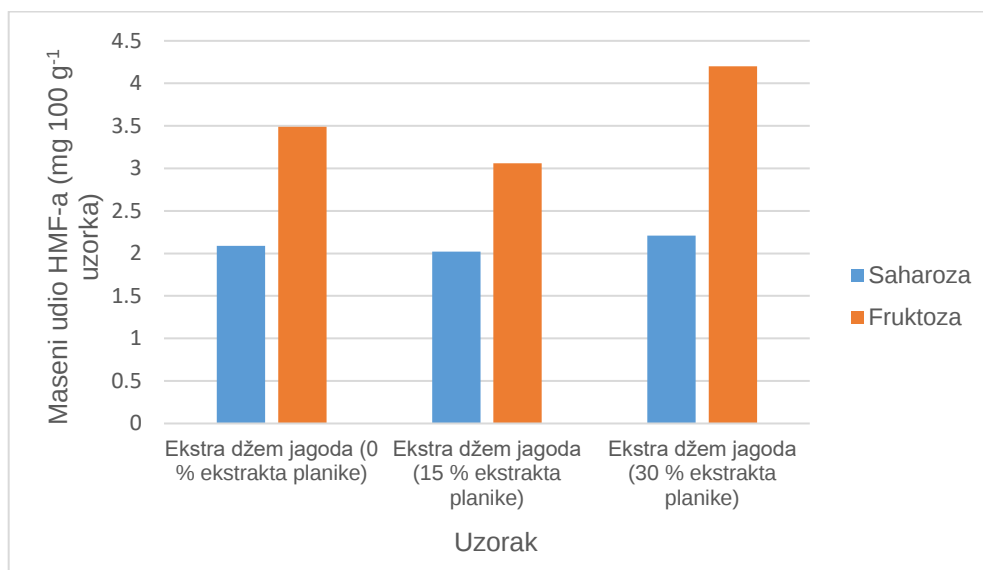
a)



b)



c)



d)

SLIKA 1. Utjecaj dodatka različitih šećera (saharoza i fruktoza) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na: a) pH, b) SSC, c) BI i d) HMF ekstra džemovima od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti

4.2. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA BIOAKTIVNE SPOJEVE U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE

U ovom radu ispitan je utjecaj dodatka različitih šećera (saharoza i fruktoza) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na ukupne fenole (TPC), flavonoide (FLA), hidroksicimetne kiseline (HCK), flavonole (FL) i kondenzirane tanine (CT) u 6 uzoraka ekstra džemova od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti. Dobiveni rezultati prikazani su grafički na slici 2. Najveći maseni udio TPC određen je u uzorku s dodatkom ekstrakta planike od 15 % i šećerom fruktozom, dok je najmanji maseni udio TPC-a imao uzorak s dodatkom ekstrakta planike od 15 % i sa saharozom. Šic Žlabur i sur. (2020) promatrali su biološki potencijal lišća planike (*Arbutus unedo* L.) i otkrili značajno visoke vrijednosti TPC (prosječna vrijednost 2157,01 mg GAE 100 g⁻¹ TM). Rezultat džema s 15 % ekstrakta i fruktozom je u skladu s rezultatima Wojdylo i sur. (2008) gdje se dodatkom 10 % aronije u džem od jagode, sadržaj TPC-a povišio u usporedbi s kontrolnim džemom bez dodataka. Među uzorcima ekstra džemova sa saharozom, najveći udio TPC-a imao je uzorak bez dodanog ekstrakta planike (0 %), a najmanji uzorak s 15 % ekstrakta. Usporedbom uzoraka s fruktozom, utvrđeno je da je najveći maseni udio TPC-a određen u uzorku s 15 % ekstrakta, a najmanji s 30 % ekstrakta. Uočen je trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerom. Prema tome, veći maseni udio TPC-a imali su uzorci ekstra džemova s

fruktozom u usporedbi s uzorcima uz dodanu saharozu. Lončarić i sur. (2018) istraživali su utjecaj interakcija fenol-šećer i galne kiseline u prisutnosti šećera na antioksidativno djelovanje soka od nara. Dodavanjem saharoze, u gotovo svim je uzorcima utvrđeno smanjenje TPC. Ako se usporede džemovi sa saharozom s džemovima s fruktozom, dobiveni rezultati su u skladu s tim trendom. Lee i sur. (2014) mjerili su TPC u vinu, te je utvrđeno da je vino koje je sadržavalo 10 % saharoze imalo veći TPC od onog sa 10 % fruktoze što nije u skladu s rezultatima ovog rada, a moglo objasniti korištenjem različite sirovine i metode prerade. Dobiveni rezultati su djelomično u skladu s istraživanjem Nguyen i sur. (2023) koji su promatrali učinak pH u vidu tri različita tretmana ($\text{pH}=7$, $\text{pH}<7$, $\text{pH}>7$) na TPC tri različita ekstrakta gorušice te ustanovili da se TPC značajno povećao ($p<0,05$) u tretmanima s nižom razinom pH (acidifikacija s octom i neutralna obrada). Takav je trend uočen usporedbom uzoraka džemova s fruktozom i uzoraka sa saharozom i 15 % ekstrakta. Seo i sur. (2016) otkrili su da su džemovi s najvišim sadržajem ANT imali i najviši TPC, što nije u skladu s rezultatima u ovom radu gdje je otkriven obrnuti trend, vjerojatno zbog korištenja različitih sirovina različitog kemijskog sastava. Također, blagi porast TPC-a pronađen je u džemovima gdje je saharoza zamijenjena koncentratom soka od bijelog grožđa u usporedbi s onima sa saharozom. U ovom radu, viši sadržaj TPC-a, imali su džemovi s fruktozom u usporedbi s onima sa saharozom. Prema Karseno i sur. (2017), TPC se u kokosovom šećeru povećao zbog povišenog pH, što je u skladu s rezultatima ovog rada (uz iznimku džemova s 15 % ekstrakta). Prema istraživanju Miraballes i sur. (2019), u džemovima od jagoda obogaćenim ekstraktom *Acca sellowiana*, uzorak bez dodanog ekstrakta pokazao je značajan TPC koji dolazi iz pulpe jagode (Chaves i sur., 2017), što se slaže s rezultatima u ovom radu. Također, povećanjem dodanog volumena ekstrakta, povećao se TPC uzoraka, što nije u skladu s rezultatima ovog rada, vjerojatno zbog korištenja različitih ekstrakta različitog kemijskog sastava.

Što se tiče rezultata za FLA, najveći maseni udio određen je u uzorku s 15 % ekstrakta uz dodatak fruktoze, dok je najmanji maseni udio određen u uzorku bez dodanog ekstrakta planike (0 %) sa dodanom saharozom. Prema Bebek Markovinović i sur. (2022) jedan od glavnih sastojaka u ekstraktima lišća planike (*Arbutus unedo* L.) bili su FLA; razine ukupnih FLA (izraženih kao % kvercetina) izmjerene u lišću planike kretale su se od 0,52 do 2,14 % (Jurica i sur., 2017). Banas i sur. (2018) džemove od ogrozda s niskim udjelom šećera obogatili su dodatkom crne aronije, bazge, japanske dunje, sjemenki lana i pšeničnih klica. Primijenjeni dodaci uzrokovali su statistički značajno ($p<0,05$) povećanje ukupnih FLA, što je u skladu s rezultatima ovog rada (uz iznimku džema s 30 % ekstrakta i fruktozom). Rezultati Banas i sur. (2018) su pokazali da je džem s 15 % dodatka aronije imao najveći sadržaj FLA i TPC, što je u skladu s rezultatima za džem s 15 % ekstrakta i fruktozom ovog rada. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenim sa saharozom, nije uočen trend, te je najveći maseni udio FLA-

a imao uzorka s dodanim ekstraktom planike od 15 %, a najmanji ekstra džem bez dodanog ekstrakta planike (0 %). Usporedbom uzoraka pripremljenih sa fruktozom, nije uočen trend, pa je najveći maseni udio FLA-a imao ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 15 %, a najmanji maseni udio FLA-a ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 30 %. Nije uočen trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerom. Prema tome, veći maseni udio FLA-a imali su uzorci s dodanom fruktozom bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i s dodatkom 15 % ekstrakta u usporedbi s uzorcima s dodanom saharozom. Seo i sur. (2016) utvrdili su blagi porast FLA u džemovima gdje je saharoza zamijenjena koncentratom soka od bijelog grožđa u usporedbi s onima sa saharozom. U ovom radu, viši sadržaj FLA imali su džemovi s fruktozom u usporedbi s onima sa saharozom (uz iznimku džema s 30 % ekstrakta). Uzorak ekstra džema s dodatkom ekstrakta planike od 30 % i saharozom imao je veći maseni udio FLA-a u usporedbi s uzorkom uz 30 % ekstrakta i fruktozom. Također, uočeno je da su ekstra džemovi sa fruktozom i saharozom najveći maseni udio FLA-a postigli s dodatkom ekstrakta planike od 15 %. Prema Banas i sur. (2018) vrijednosti ukupnih FLA bile su u pozitivnoj korelaciji sa vrijednostima dobivenim za TPC, što je u skladu uspoređivanjem džemova s fruktozom te usporedbom džemova s dodanim ekstraktima neovisno o šećerima (osim džema s 30 % ekstrakta).

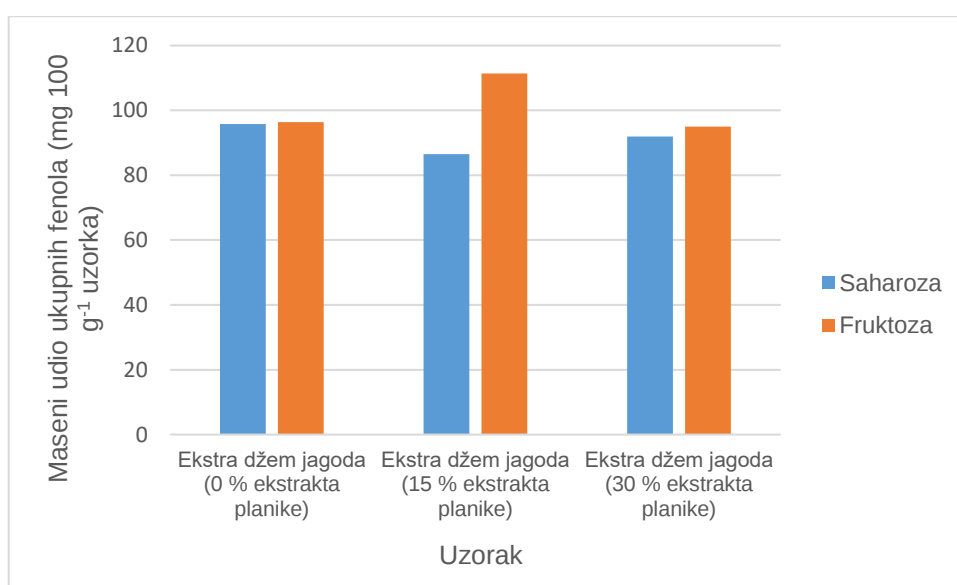
Što se tiče rezultata za HCK, najveći maseni udio imao je uzorak s dodatkom ekstrakta planike od 15 % i šećerom saharozom, dok je najmanji maseni udio HCK-a imao uzorak bez dodanog ekstrakta planike (0 %) i šećerom saharozom. Rezultati se slažu (uz iznimku džema s 30 % ekstrakta i fruktozom) s istraživanjem Wojdylo i sur. (2008) gdje se dodatkom 10 % aronije u džem od jagode, sadržaj polifenolnih kiselina povećao u usporedbi s kontrolnim džemom bez dodataka. Usporedbom uzoraka sa saharozom, nije uočen trend, a najveći maseni udio HCK-a imao je ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 15 %, dok je najmanji udio određen u uzorku bez dodanog ekstrakta planike (0 %). Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenih sa fruktozom, nije uočen trend, najveći maseni udio HCK-a imao je ekstra džem s 15 % ekstrakta, a najmanji uzorak s 30 % ekstrakta. Nije uočen trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerom. Prema tome, veći maseni udio HCK-a imali su uzorci ekstra džemova s dodanom saharozom uz 15 % i 30 % dodanog ekstrakta i šećer fruktozu. Uzorak ekstra džema bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i dodanom fruktozom imao je veći maseni udio HCK-a u usporedbi s uzorkom bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i dodanom saharozom. Također, uočeno je da su ekstra džemovi s fruktozom, kao i oni sa saharozom, najveći maseni udio HCK-a postigli uz dodatak ekstrakta planike od 15 %. Prema Bebek Markovinović i sur. (2022) jedan od glavnih sastojaka u ekstraktima lišća planike (*Arbutus unedo* L.) bile fenolne kiseline. Jurica i sur. (2017) su prvi put odredili ukupni sadržaj fenolnih kiselina u ekstraktima lišća, koji je iznosio je 1,48 %, izražen

kao % ružmarinske kiseline. Prema Banas i sur. (2018) obogaćivanje džema od ogrozda biljnim sastojcima rezultiralo je povećanjem razina HCK, osim razine kafeinske kiseline u džemu s pšeničnim klicama. U ovom radu, obogaćivanje džemova s ekstraktima, također je rezultiralo povećanjem razine HCK (uz iznimku uzorka džema s 30 % ekstrakta i fruktozom).

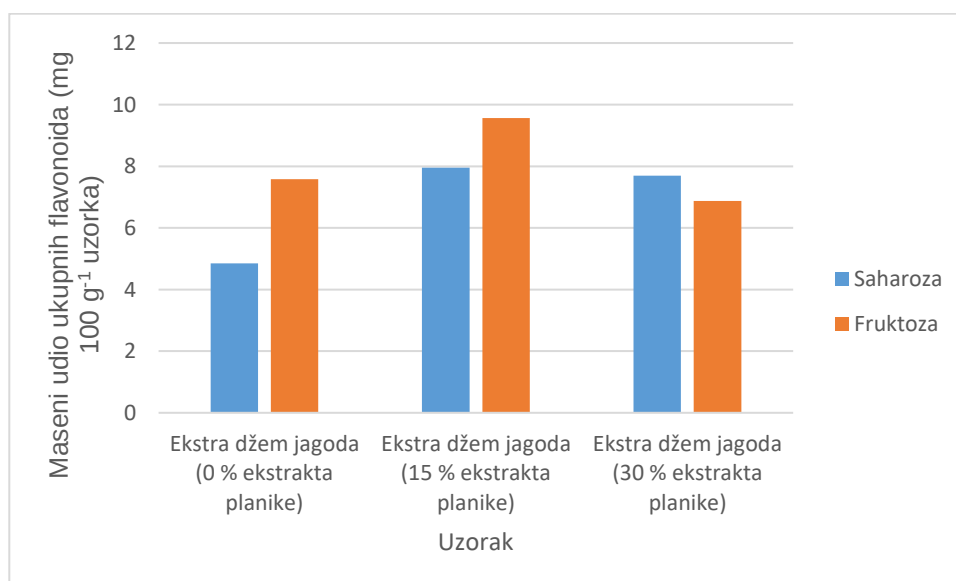
Što se tiče rezultata za FL, najveći maseni udio imao je uzorak ekstra džema s dodatkom ekstrakta planike od 30 % i šećerom saharozom, dok je najmanji maseni udio FL-a imao uzorak s 30 % ekstrakta i šećerom fruktozom. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenima sa šećerom saharozom, uočen je trend; maseni udjeli FL-a povećavali su se s povećanjem udjela ekstrakta planike. Usporedbom džemova s dodanom saharozom, rezultati su u skladu s rezultatima Wojdylo i sur. (2008) gdje se dodatkom 10 % aronije u džem od jagode sadržaj FL povisio u usporedbi s kontrolnim džemom bez dodataka. Također, usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenih sa fruktozom, uočen je trend; maseni udjeli FL-a smanjivali su se s povećanjem udjela ekstrakta planike u ekstra džemovima. Ipak, nije uočen trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerom. Prema tome, veći maseni udio FL-a imali su uzorci ekstra džemova sa saharozom i ekstraktom planike od 15 % i 30 % u usporedbi s ekstra džemovima uz dodanu fruktozu. Uzorak ekstra džema bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i sa fruktozom imao je veći maseni udio FL-a u usporedbi s ekstra džemom bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i s dodanim šećerom saharozom. Jagode uključuju FLA (tj. ANT, flavanole i FL) (Giampieri, i sur., 2017). Kako FL pripadaju skupini FLA, pozitivna korelacija između FLA i FL u džemovima s 0 i 30 % ekstrakata, neovisno o šećeru mogla bi se time objasniti.

Što se tiče rezultata za CT, najveći maseni udio određen je u uzorku bez dodanog ekstrakta planike (0 %) i šećerom saharozom, dok je najmanji maseni udio imao uzorak s 30 % ekstrakta i šećer fruktozu. Dobiveni rezultati nisu u skladu s istraživanjem Wojdylo i sur. (2008) gdje se dodatkom 10 % aronije u džem od jagode, sadržaj CT u džemovima povećao u usporedbi s kontrolnim džemom bez dodataka, vjerojatno zbog različitog kemijskog sastava korištenih sirovina te različite metode pripreme dodataka. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenima sa šećerom saharozom, uočen je trend, te su se maseni udjeli CT-a smanjivali s povećanjem udjela ekstrakta planike u ekstra džemovima. Prema tome, najveći maseni udio CT-a imao ekstra džem bez dodanog ekstrakta planike (0 %), dok je najmanji maseni udio CT-a imao ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 30 %. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenim sa fruktozom, vidljivo je da su se maseni udjeli CT-a smanjivali s povećanjem udjela ekstrakta planike u ekstra džemovima, pa je najveći maseni udio CT-a imao ekstra džem bez dodanog ekstrakta planike (0 %), dok je najmanji maseni udio CT-a imao ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 30 %. Nije uočen trend kod usporedbe ekstra džemova s istim udjelom ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerom. Prema tome, veći

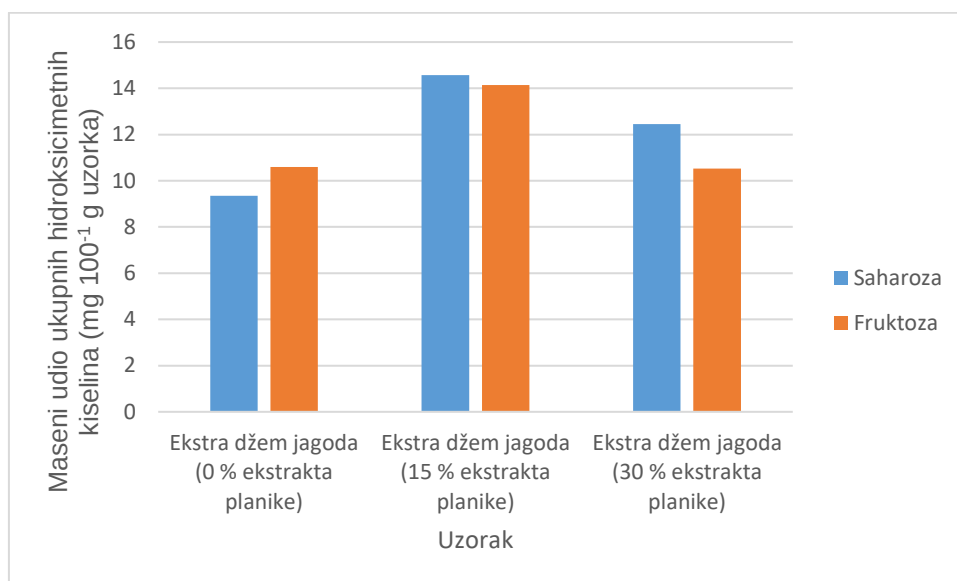
maseni udio CT-a imali su uzorci sa saharozom bez dodatka ekstrakta planike (0 %) i s dodanim ekstraktom planike od 30 % u usporedbi s ekstra džemovima s dodanim šećerom fruktozom. Uzorak ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 15 % i s dodanim šećerom fruktozom imao je veći maseni udio CT-a u usporedbi s ekstra džemom s dodanim ekstraktom planike od 15 % i s dodanim šećerom saharozom. Također, uočeno je da su ekstra džemovi s dodanom fruktozom i saharozom, najveći maseni udio CT-a postigli bez dodatka ekstrakta planike (0 %), a najmanji maseni udio s dodatkom ekstrakta planike od 30 %. CT se prema stupnju polimerizacije dijele na oligomerne CT i polimerne CT (Dixon i sur., 2005). Sukladno tome, povećanje sadržaja CT-a s povećanjem sadržaja FLA usporedbom džemova s 15 i 30 % ekstrakta, neovisno o šećerima, moguća je posljedica toga što CT pripadaju FLA.



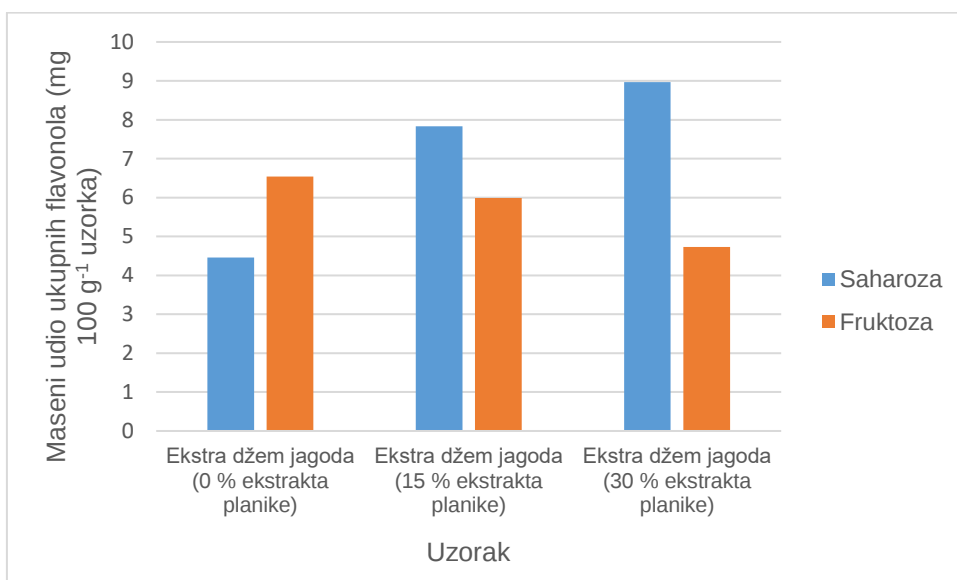
a)



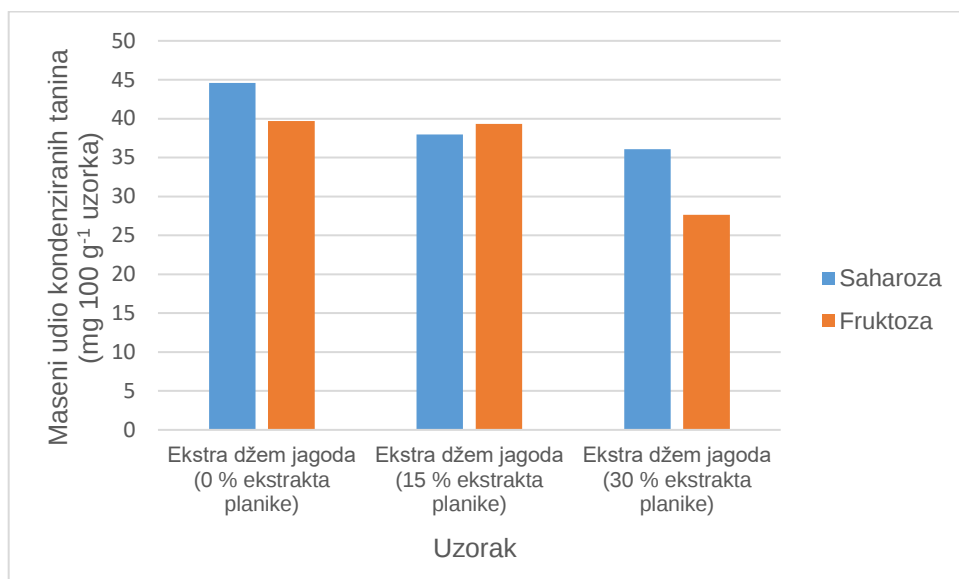
b)



c)



d)



e)

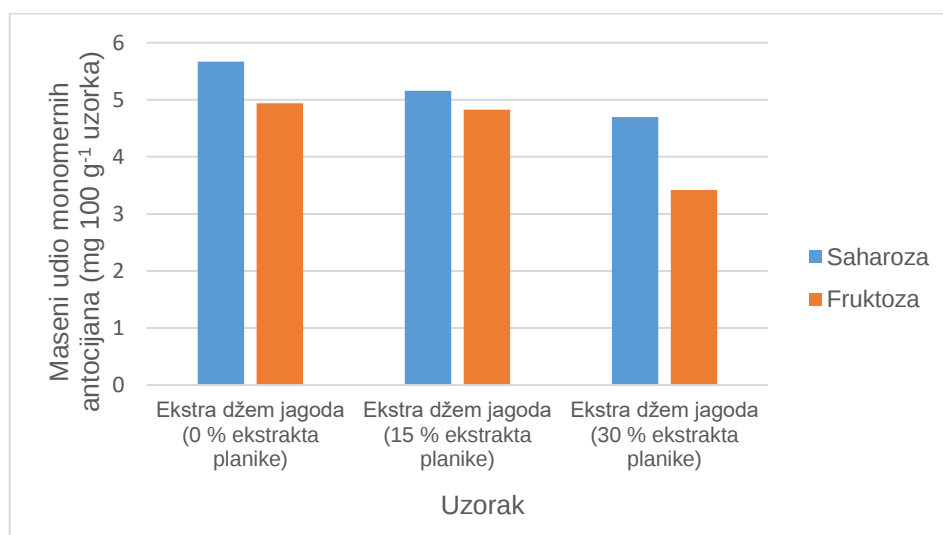
SLIKA 2. Utjecaj dodatka različitih šećera (saharoze i fruktoze) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na: a) TPC, b) FLA, c) HCK , d) FL i e) CT u ekstra džemovima od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti.

4.3. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA PIGMENTE U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE

Ispitan je utjecaj dodatka različitih šećera (saharoza i fruktoza) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na monomerne antocijane (ANT) u 6 uzoraka ekstra džemova od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti. Dobiveni rezultati prikazani su grafički na slici 3.

Najveći maseni udio ANT imao je uzorak ekstra džema bez dodanog ekstrakta planike (0 %) i šećerom saharozom, dok je najmanji maseni udio ANT-a imao uzorak ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 30 % i šećerom fruktozom. U svim uzorcima, neovisno o dodanom šećeru, vidljivo je da su se maseni udjeli ANT smanjivali s povećanjem udjela ekstrakta planike. Rezultati nisu u skladu s rezultatima Wojdylo i sur. (2008) gdje se dodatkom 10 % aronije u džem od jagode, sadržaj ANT povisio u usporedbi s kontrolnim džemom bez dodataka, moguće zbog različitog kemijskog sastava sirovina korištenih kao dodatak džemovima te načina pripreme tih dodataka. Nadalje, usporede li se ekstra džemovi s istim udjelima ekstrakta planike, neovisno o dodanom šećeru, veći maseni udio ANT određeni su u uzorcima ekstra džemova s saharozom u odnosu na iste sa fruktozom. Prema rezultatima ovog rada, džemovi s fruktozom imali su manje vrijednosti ANT u usporedbi s onima sa

saharozom što je u skladu s istraživanjem Moldovan i David (2020) koji su promatrali utjecaj različitih zaslađivača na stabilnost antocijana iz drijena (*Cornus mas* L.). Bile su pripremljene četiri formulacije soka od drijena i korišteni su šećeri (fruktoza i saharoza) i umjetna sladila. Nakon 12 dana skladištenja soka na 25 °C, sok s fruktozom imao je najniži sadržaj i stabilnost ANT. Türkyılmaz i sur. (2023) su utvrdili snažnu korelaciju ($r = 0,872$) između brzine razgradnje ANT i koncentracije HMF-a u soku od nara bez dodatka polifenolnih kiselina (ferulinske, kafeinske i galne kiseline). Povećanje koncentracije HMF-a tijekom skladištenja uzrokovalo je bržu razgradnju ANT. Rezultati tog istraživanja u skladu su s rezultatima ovog rada gdje su džemovi su višim sadržajem HMF-a imali manji sadržaj ANT. Dorris i sur. (2018) istražili su da gubitak ANT doprinosi padu BI tijekom ubrzanog starenja soka od grožđa što je u skladu s džemovima s 15 i 30 % ekstrakta, gdje je džem s manjim sadržajem ANT imao manji sadržaj BI.



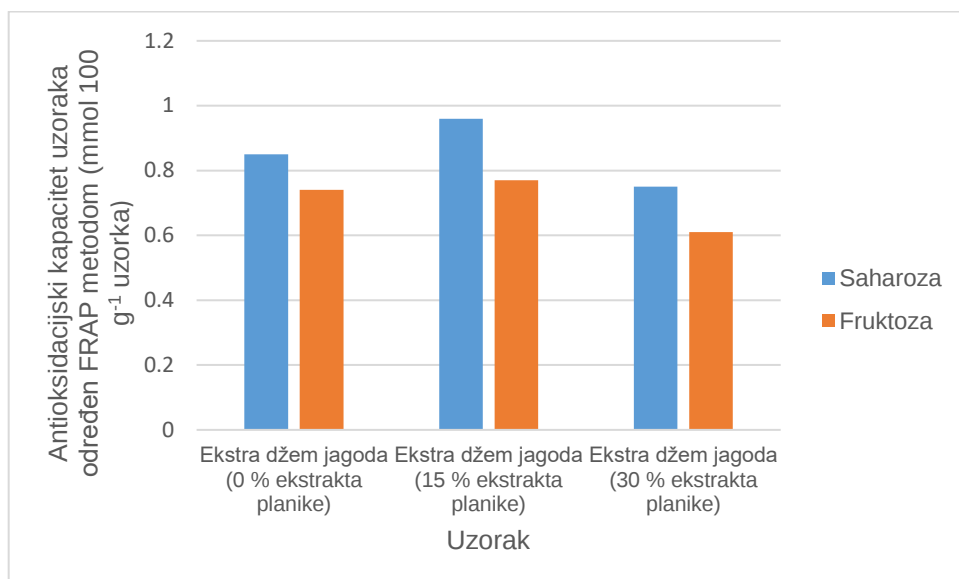
SLIKA 3. Utjecaj dodatka različitih šećera (saharoze i fruktoze) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na ANT u ekstra džemovima od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti.

4.4. UTJECAJ DODATKA RAZLIČITIH ŠEĆERA I UDJELA VODENOG EKSTRAKTA PLANIKE NA ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET U EKSTRA DŽEMOVIMA OD JAGODE

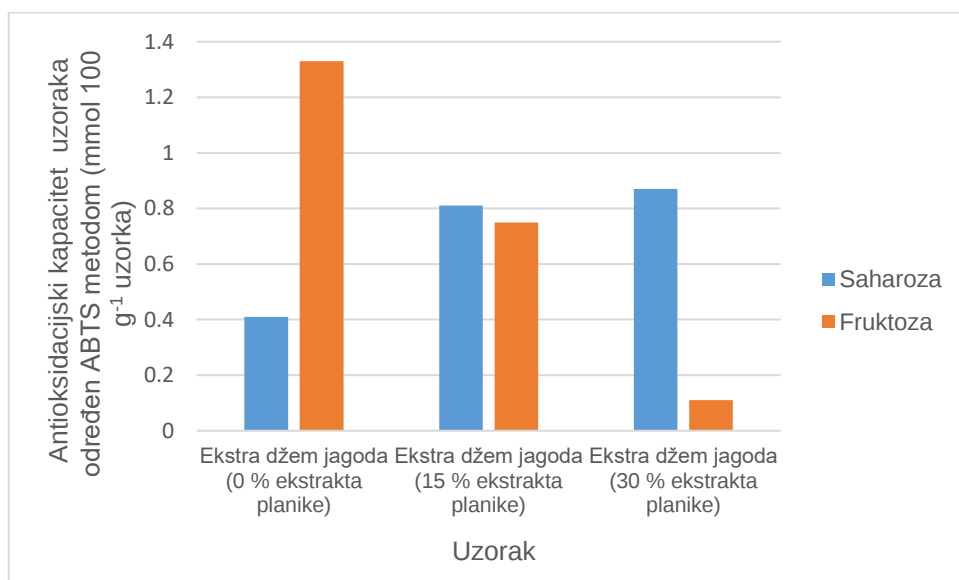
Ispitan je utjecaj dodatka različitih šećera (saharoza i fruktoza) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na antioksidacijski kapacitet u 6 uzoraka ekstra džemova od jagode

sa sniženom energetsom vrijednosti. Dobiveni rezultati prikazani su grafički na slici 4. Što se tiče antioksidacijskog kapaciteta određenog FRAP metodom, najveću vrijednost imao je uzorak ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 15 % i šećerom saharozom, dok je najmanju vrijednost imao uzorak ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 30 % i šećerom fruktozom, čime se potvrđuje utjecaj šećera, kao i dodatka ekstrakta na vrijednost antioksidacijskog kapaciteta. Usporedbom uzoraka pripremljenih sa saharozom, najveće FRAP vrijednosti imao je ekstra džem s 15 % ekstrakta, a najmanje FRAP vrijednosti određene su u ekstra džemu s dodanim ekstraktom planike od 30 %. Usporede li se uzorci s dodanom fruktozom, najveće FRAP vrijednosti imao je ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 15 %, a najmanji ekstra džem s dodanim ekstraktom planike od 30 %. Među uzorcima ekstra džemova s istim udjelima ekstrakta planike, veće FRAP vrijednosti imao je uzorak sa saharozom u usporedbi sa istim uz dodanu fruktozu. Vezano uz vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta određenog ABTS metodom, najveću vrijednost imao je uzorak ekstra džema bez dodanog ekstrakta planike (0 %) i šećerom fruktozom, dok je najmanju vrijednost imao uzorak ekstra džema s dodanim ekstraktom planike od 30 % i šećerom fruktozom. Usporedbom uzoraka sa saharozom, ABTS vrijednosti su se povećavale s povećanjem udjela ekstrakta planike u ekstra džemovima. Prema tome, najveću ABTS vrijednost je imao ekstra džem s 30 % ekstrakta, a najmanju ekstra džem bez dodanog ekstrakta planike (0 %). Šic Žlabur i sur. (2020) su promatrali biološki potencijal lišća planike (*Arbutus unedo* L.) i otkrili su da s obzirom na visok udio različitih bioaktivnih spojeva, lišće sadrži visoke vrijednosti antioksidativnog kapaciteta (prosječna vrijednost za lišće određena ABTS metodom 2237,16 $\mu\text{mol TE kg}^{-1}$). Sukladno tome, dodatkom ekstrakata u džemove s dodanom saharozom, povećale su se i ABTS vrijednosti u odnosu na džem bez ekstrakata. Prema Banas i sur. (2018) svaki dodatak različitih biljnih sirovina (15 % aronije; 15 % bazge; 8 % japanske dunje; 3 % lanenih sjemenki; 3 % pšeničnih klica) u džemove, povećao je vrijednost ABTS-a u odnosu na kontrolu, što je u skladu s usporedbom džemova sa saharozom u ovom radu. Usporedbom uzoraka ekstra džemova pripremljenim s fruktozom, ABTS vrijednosti su se smanjivale s povećanjem udjela ekstrakta planike u ekstra džemovima. Kod uzoraka ekstra džemova s dodanim udjelom ekstrakta planike od 15 i 30 %, veću vrijednost antioksidacijskog kapaciteta imali su ekstra džemovi s dodanom saharozom u usporedbi s ekstra džemovima pripremljenim s fruktozom. Rezultati ovog rada su u skladu s rezultatima Morelli i sur. (2003), izuzev uzorka džema bez dodanog ekstrakta određivano ABTS metodom. Naime, autori su proučavali šećere (maltozu, saharozu, fruktozu, glukozu, deoksiribozu i sorbitol) i dokazali da su šećeri s više OH ostataka imali veću aktivnost hvatanja slobodnih radikala. Najveću aktivnost u inhibiciji dali su disaharidi maltoza i saharoza. Uočeno je da je među uzorcima bez dodanog udjela ekstrakta planike (0 %), veću vrijednost antioksidacijskog kapaciteta imao ekstra džem s dodanom fruktozom u

usporedbi s uzrocima uz dodanu saharozu. Lončarić i sur. (2018) su uočili pozitivnu korelaciju FRAP vrijednosti s ANT ($r=0,793$) što je u skladu s dobivenim rezultatima ovog rada usporede li se ekstra džemovi s istim udjelima ekstrakta planike, a različitim dodanim šećerima. Dobiveni rezultati su djelomično u skladu s istraživanjem Mendes Rodrigues i sur. (2017) gdje je visok antioksidacijski kapacitet džema od borovnice bio rezultat visokog udjela ANT. Dobiveni rezultati FRAP vrijednosti svih džemova s istim udjelima ekstrakta, a različitim dodanim šećerima u ovom radu, pokazali su pozitivnu korelaciju s vrijednostima ANT. Kod ABTS vrijednosti svih džemova s istim udjelima ekstrakta, a različitim dodanim šećerima, uočena je iznimka kod džemova bez dodanog ekstrakta koja nisu korelirali s ANT. S druge strane, ABTS vrijednosti su bile u korelaciji s ANT usporedbom džemova s fruktozom. Dobiveni rezultati nisu u skladu s istraživanjem Souza i sur. (2012) koji su otkrili da je pulpa voća marola imala najveći TPC te posljedično, najveću antioksidacijsku aktivnost mjereno ABTS metodom. Rezultati istraživanja Wojdylo i sur. (2008) pokazali su da su FRAP i ABTS vrijednosti korelirale sa sadržajem CT. Dobivena FRAP vrijednost korelirala je sa sadržajem CT, što je u skladu s dobivenim rezultatima (uz iznimku džemova s 15 % ekstrakta). ABTS vrijednosti su također bile u korelaciji sa sadržajem CT usporedbom uzoraka džemova s fruktozom i kod džemova s 30 % ekstrakta. Od FLA i FLA srodnih spojeva, pronađeni FL u čaju su najjači prirodni antioksidansi (Vinson i sur., 1995). Rezultati dobiveni ABTS metodom su u pozitivnoj korelaciji s rezultatima FL. U istraživanju koje su proveli Seo i sur. (2016), rezultati su pokazali da je najmanje FRAP vrijednosti imao džem s najmanjim TPC, ANT i FLA za razliku od rezultata ovog rada gdje je najmanju FRAP vrijednost imao džem samo s najmanjim sadržajem ANT. Također, prema Banas i sur. (2018), vrijednosti FRAP-a imale su pozitivnu korelaciju s vrijednostima FLA i TPC, što je bilo u skladu usporedbom džemova samo s fruktozom i usporedbom džemova samo sa saharozom za FLA te usporedbom džemova samo s fruktozom za TPC. Prema Karseno i sur. (2017), antioksidacijska aktivnost kokosovog šećera povećavala se s povećanjem početnog pH kokosovog soka, što je u skladu s rezultatima za ABTS kod džemova s 0 i 15 % ekstrakta u ovom radu.



a)



b)

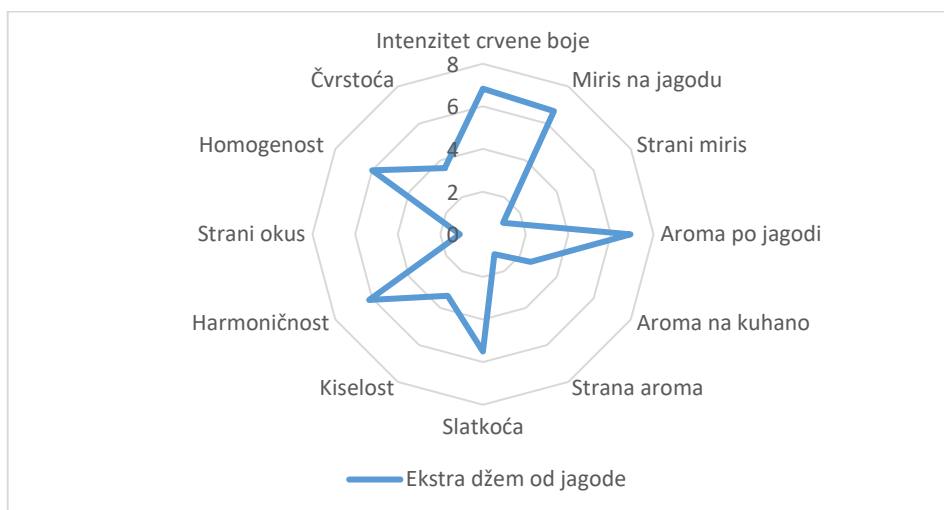
SLIKA 4. Utjecaj dodatka različitih šećera (saharoze i fruktoze) te udjela vodenog ekstrakta planike (0 %, 15 % i 30 %) na antioksidacijski kapacitet: a) određen FRAP metodom, b) određen ABTS metodom u ekstra džemovima od jagode sa sniženom energetsom vrijednosti.

4.5. SENZORSKA ANALIZA

Od 6 pripremljenih ekstra džemova od jagode, odabran je ekstra džem s najpogodnijim rezultatima analiza stabilnosti bioaktivnih spojeva i antioksidacijskog kapaciteta, s dodanim ekstraktom planike od 15 % uz fruktozom, za provedbu senzorskog ocjenjivanja primjenom

kvantitativne deskriptivne analize, a rezultati su prikazani grafički tzv. „paukovom mrežom” na slici 5.

Svako senzorsko svojstvo ocijenjeno je prema intenzitetu brojčanim vrijednostima od 1-7, gdje je najslabiji intenzitet ocjenjivanog svojstva označen s najnižom, a najjači intenzitet s najvišom ocjenom. Grafički prikaz rezultata podrazumijeva da je intenzitet određene karakteristike najniži u centru, a povećava se prema obodu tzv. „mreže”. Izabrani senzorski deskriptori prema kojima se vršila senzorska analiza odnosili su se na boju (intenzitet crvene boje), miris (miris na jagodu, strani miris), aromu (po jagodi, na kuhano, strana aroma), okus (slatkoća, kiselost, harmoničnost, strani okus) i teksturu (homogenost, čvrstoća). Najnižu ocjenu, tj. najniži intenzitet ocjenjivači su redom pripisali svojstvima: stranom okusom, stranoj aromi, stranom mirisu i aromi na kuhano koji su pozicionirani u centru „paukove mreže”. Najvišu ocjenu, tj. najjači intenzitet ocjenjivači su pripisali svojstvima kako slijedi: aroma po jagodi, intenzitet crvene boje, miris na jagodu, harmoničnost, homogenost i slatkoća. Prema dobivenim rezultatima, nadalje je vidljivo da je srednji intenzitet pripisan je svojstvima čvrstoći i kiselosti. Sukladno dobivenim rezultatima može se zaključiti da je ocjenjivani uzorak ekstra džema senzorski vrlo privlačan, obzirom su mu vodeća senzorska svojstva ocijenjena najvišim ocjenama. Rezultati senzorske analize ovog rada, bili su slični, posebno po svojstvima najjačeg intenziteta, s rezultatima istraživanja Bursać Kovačević i sur. (2007) koji su proveli kvantitativnu deskriptivnu senzorsku analizu niskokaloričnih džemova od tri različite sorte jagode. U uzorcima s dodatkom fruktoze, najjači intenzitet ocjenjivači su pripisali svojstvima: boji, slatkom okusu i homogenosti. Srednje intenzivni parametri bili su: viskoznost, harmoničnost, voćni okus i miris. Najmanje intenzivni parametri bili su: neugodan okus, neugodan miris, kiselkast okus i cvjetni okus. Vilela i sur. (2015) proveli su kvantitativnu deskriptivnu analizu džema od jagoda, u kojem je saharoza zamijenjena fruktozom. Najjači intenzitet pripisan je sljedećim parametrima: ukusnosti, boji, slatkom okusu, karakterističnom okusu i razmazivosti. Srednje intenzivni parametri bili su: svjetlina, elastičnost, ljepljivost i kohezivnost. Najmanje intenzivni parametri bili su: oporost, lomljivost, žvakanje, grudavost, aroma kuhanog voća, kiselkasti okus i gorki okus. Rezultati senzorske analize ovog rada u skladu su sa opisanom senzorskom analizom.



SLIKA 5. Rezultati senzorske analize ekstra džema od jagode (udio dodanog vodenog ekstrakta planike od 15 % i s dodanim šećerom fruktozom).

5. ZAKLJUČCI

1. Jagoda je bogat izvor bioaktivnih spojeva visokog antioksidacijskog potencijala, čime značajno doprinosi zdravlju potrošača, a njezina prerada omogućuje produženje dostupnosti i očuvanje nutritivnih vrijednosti.
2. Najveći sadržaj bioaktivnih spojeva, uključujući ukupne polifenole, flavonoide i hidroksicimetne kiseline, postignut je uz dodatak 15 % ekstrakta lista planike u funkcionalnim ekstra džemovima od jagode
3. Upotreba fruktoze kao zaslađivača u proizvodnji džemova može rezultirati povoljnijim senzorskim i nutritivnim karakteristikama u usporedbi sa saharozom.
4. Najveći antioksidacijski potencijal i sadržaj polifenola postignut je u ekstra džemu s fruktozom i 15 % dodatka ekstrakta lista planike.
5. Senzorska analiza pokazala je da je ekstra džem s dodatkom 15 % ekstrakta lista planike i fruktozom bio najbolje ocijenjen u pogledu ukupne prihvatljivosti. Ovaj džem imao je optimalnu ravnotežu okusa, boje i teksture, što ga čini najprivlačnijim za potrošače. Dodavanje ekstrakta lista planike pridonijelo je poboljšanju nutritivnih i senzorskih karakteristika bez narušavanja organoleptičkih svojstava proizvoda.
6. Istraživanje je pokazalo da prerada jagoda u funkcionalni ekstra džem i dodatak ekstrakta planike imaju pozitivan učinak na stabilnost bioaktivnih spojeva tijekom proizvodnje
7. Primjena inovativnih rješenja u proizvodnji funkcionalnih ekstra džemova otvara mogućnosti za razvoj novih proizvoda sa smanjenim kalorijskim vrijednostima i poboljšanim nutritivnim svojstvima.

6. LITERATURA

- Aaby K, Ekeberg D, Skrede G (2007) Characterization of Phenolic Compounds in Strawberry (*Fragaria×ananassa*) Fruits by Different HPLC Detectors and Contribution of Individual Compounds to Total Antioxidant Capacity. *J Agric Food Chem* **55** (11), 4395–4406. <https://doi.org/10.1021/jf0702592>
- Adarsh Krishna S, Singh N, Sagar P (2024) Formulation and Optimization of Chia-based Strawberry Jam: A Functional Food Innovation. *Asian J Food Res Nutr* **3** (2), 381–389. <https://www.journalajfrn.com/index.php/AJFRN/article/view/140>
- Amorim FL, de Cerqueira Silva MB, Cirqueira MG, Oliveira RS, Machado BAS, Gomes RG, i sur. (2019) Grape peel (*Syrah* var.) jam as a polyphenol-enriched functional food ingredient. *Food Sci Nutr* **7** (5), 1584-1594. <https://doi.org/10.1002/fsn3.981>
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Supplement, 15. izd., AOAC-Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington.
- Aversa R, Petrescu RVV, Apicella A, Petrescu FIT (2016) We are Addicted to Vitamins C and E-A Review. *Am J Eng Appl Sci* **9** (4), 1003–1018. <https://doi.org/10.3844/ajeassp.2016.1003.1018>
- Baj T, Sieniawska E (2017) Chapter 13 - Vitamins. U: Badal S, Delgoda R (ured.) Pharmacognosy Fundamentals, Applications and Strategies, 1. izd., Academic Press, str. 281–292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00013-5>
- Banaś A, Korus A, Tabaszewska M (2018) Antioxidant properties of low-sugar strawberry jam enriched with plant raw materials. *J Food Sci Technol* **55** (1), 408-417. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2952-6>
- Batur L (2021) Utjecaj tehnologije pulsirajućeg električnog polja na stabilnost fenolnih spojeva u sokovima od jagode tijekom skladištenja (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:598235>
- Bebek Markovinović A, Brčić Karačonji I, Jurica K, Lasić D, Skendrović Babojelić M, Duralija B i sur. (2022) Strawberry Tree Fruits and Leaves (*Arbutus unedo* L.) as Raw Material for Sustainable Functional Food Processing: A Review. *Horticulturae* **8** (10), 881. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100881>
- Becerra ML, Prieto GA, Rendueles M, Diaz M (2022) Biological transformations of furanic

platform molecules to obtain biomass-derived furans: a review. *Biomass Conv Bioref* **14** (21), 26611–26629. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03535-5>

Benzie IFF (1996) An automated, specific, spectrophotometric method for measuring ascorbic acid in plasma (EFTSA). *Clin Biochem* **29** (2), 111-116. [https://doi.org/10.1016/0009-9120\(95\)02013-6](https://doi.org/10.1016/0009-9120(95)02013-6)

Brandao TM, Carvalho EE, Lima JP, Carmo EL, Elias HH, Martins GD i sur. (2020) Effects of thermal process in bioactive compounds of mixed Brazilian cerrado fruit jam. *Food Sci Technol Int* **41**. <https://doi.org/10.1590/fst.28020>

Breitfellner F, Solar S, Sontag G (2003) Radiation induced chemical changes of phenolic compounds in strawberries. *Radiat Phys Chem* **67** (3-4), 497–499. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(03\)00092-6](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(03)00092-6)

Breitfellner, F, Solar, S, Sontag G (2002) Effect of γ -Irradiation on Phenolic Acids in Strawberries. *J Food Sci* **67** (2), 517–521. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10629.x>

Buchweitz M, Speth M, Kammerer DR, Carle R (2013) Stabilisation of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) anthocyanins by different pectins. *Food Chem* **141** (3), 2998-3006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.117>

Bursać Kovačević D, Putnik P, Dragović-Uzelac V, Pedisić S, Režek Jambrak A, Herceg Z (2016) Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. *Food Chem* **190** (1), 317-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.099>

Bursać Kovačević D, Vahčić N, Levaj B, Dragović-Uzelac V, Biško A (2007) The influence of cultivar on sensory profiles of fresh and processed strawberry fruits grown in Croatia. *Flavour Fragr J* **22** (6), 512–520. <https://doi.org/10.1002/ffj.1833>

Cedeño-Pinos C, Marcucci MC, Bañón S (2021) Contribution of Green Propolis to the Antioxidant, Physical, and Sensory Properties of Fruity Jelly Candies Made with Sugars or Fructans. *Foods* **10** (11), 2586. <https://doi.org/10.3390/foods10112586>

Chandler CK, Folta K, Dale A, Whitaker VM, Herrington M (2011) Strawberry Fruit Breeding, 8. izd., Springer, Boston, str. 305–325.

Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal* **10** (3), 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>

- Chaves VC, Calvete EO, Reginatto FH (2017) Quality properties and antioxidant activity of seven strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) cultivars. *Sci Hortic* **225** (10), 293-298. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.013>
- Curi PN, de Sousa Tavares B, de Almeida AB, Pio R, Peche PM, de Souza VR (2016) Influence of Subtropical Region Strawberry Cultivars on Jelly Characteristics. *J Food Sci* **81** (6), S1515-S1520. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13325>
- Dixon RA, Xie DY, Sharma SB (2005) Proanthocyanidins--a final frontier in flavonoid research? *New Phytol* **165** (1), 9-28. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01217.x>
- Dorris MR, Voss DM, Bollom MA, Krawiec-Thayer MP, Bolling BW (2018) Browning Index of Anthocyanin-Rich Fruit Juice Depends on pH and Anthocyanin Loss More Than the Gain of Soluble Polymeric Pigments. *J Food Sci* **83** (4), 911-921. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14106>
- Dujmović Purgar D, Duralija B, Vokurka A, Todorčić M, Židovec V (2017) The Genus *Fragaria* in Croatia. *Erwerbs-Obstbau* **59** (3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/s10341-017-0318-x>
- Dzhanfezova T, Barba Espin G, Müller R, Jørnsgård B, Hegelund J, Madsen B i sur. (2020) Anthocyanin profile, antioxidant activity and total phenolic content of a strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch) genetic resource collection. *Food Biosci* **36** (1), 100620. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100620>
- FAO (2022) FAO- Food and Agriculture Organization <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Pristupljeno 13.07.2024)
- Featherstone S (2016) Jams, jellies, and related products, A Complete Course in Canning and Related Processes, 14. izd., Woodhead Publishing, str. 313-349. <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-679-1.00009-X>
- Garcia-Viguera C, Zafrilla P, Romero F, Abellan P, Artes F, Tomas-Barberan FA (1999) Color Stability of Strawberry Jam as Affected by Cultivar and Storage Temperature. *J Food Sci* **64** (2), 243–247. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15874.x>
- Giampieri F, Forbes-Hernandez TY, Gasparri M, Afrin S, Cinciosi D, Reboledo-Rodriguez P i sur. (2017) The healthy effects of strawberry bioactive compounds on molecular pathways related to chronic diseases. *Ann N Y Acad Sci* **1398** (1), 62-71. <https://doi.org/10.1111/nyas.13373>

- Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M (2012) The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* **28** (1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.009>
- Grzelak-Błaszczuk K, Karlińska E, Grzęda K, Rój E, Kołodziejczyk K (2017) Defatted strawberry seeds as a source of phenolics, dietary fiber and minerals. *LWT - Food Sci Technol*, **84** (10), 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.014>
- Hallfrisch J (1990) Metabolic effects of dietary fructose. *FASEB J* **4** (9), 2652–2660. <https://doi.org/10.1096/fasebj.4.9.2189777>
- Hossain A, Begum P, Salma Zannat M, Hafizur Rahman M, Ahsan M, Islam SN (2016) Nutrient composition of strawberry genotypes cultivated in a horticulture farm. *Food Chem* **199** (1), 648–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.056>
- Howard LR, Clark JR, Brownmiller C (2003) Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *J Sci Food Agric* **83** (12), 1238–1247. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1532>
- Hyvönen LE, Törmä R (1983) Examination of Sugars, Sugar Alcohols, and Artificial Sweeteners as Substitutes for Sucrose in Strawberry Jam. Product Development. *J Food Sci* **48** (1), 183–185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb14820.x>
- Jaeger H, Janositz A, Knorr D (2010) The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. *Pathol Biol (Paris)* **58** (3), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.09.016>
- Jribi S, Ouhaibi M, Boukhris H, Damergi C, Debbabi H (2021) Formulations of low-sugar strawberry jams: quality characterization and acute post-prandial glycaemic response. *J Food Meas and Charact* **15** (6), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00747-z>
- Jurica K, Gobin I, Kremer D, Čepo DV, Grubešić RJ, Karačonji IB i sur. (2017) Arbutin and its metabolite hydroquinone as the main factors in the antimicrobial effect of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves. *J Herb Med* **8** (1), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.03.006>
- Karseno K, Wuryatmo E, Yanto T, Setyawati R, Haryanti P (2017) Effect of pH and temperature on browning intensity of coconut sugar and its antioxidant activity. *Food Res* **2** (1), 32–38. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).175](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).175)

- Korus J, Juszczak L, Ziobro R, Witczak M, Grzelak K, Sójka M (2011) Defatted strawberry and blackcurrant seeds as functional ingredients of gluten-free bread. *J Texture Stud* **43** (1), 29-39. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00314.x>
- Kovačević DB, Levaj B, Dragović-Uzelac V (2009) Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content in Strawberry Fruit and Jam. *Agric Conspec Sci* **74** (3), 155-159. <https://hrcak.srce.hr/47349>
- Kus S, Gogus F, Eren S (2005) Hydroxymethyl Furfural Content of Concentrated Food Products. *Int J Food Prop* **8** (2), 367–375. <https://doi.org/10.1081/JFP-200060257>
- Kuşçu A, Bulantekin Ö (2020) Determination of phenolics, organic acids, minerals and volatile compounds of jujube (*Ziziphus jujuba* miller) jam produced by under vacuum evaporation compared with open pan method. *J Food Meas Charact* **15** (2), 1127–1138. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00713-9>
- Lee EJ, Nomura N, Patil BS, Yoo KS (2014) Measurement of total phenolic content in wine using an automatic Folin–Ciocalteu assay method. *Intl J Food Sci and Tech* **49** (11), 2364-2372. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12557>
- Levaj B, Bursać Kovačević D, Bituh M, Dragović-Uzelac V (2012) Influence of Jam Processing Upon the Contents of Phenolics and Antioxidant Capacity in Strawberry fruit (*Fragaria ananassa* × Duch.). *CJFST* **7** (7), 18-22. <https://hrcak.srce.hr/82765>
- Lončarić A, Pichler A, Rašić N, Vukoja I, Leventić A, Kopjar M (2018) Influence of phenol and sugar interactions on antioxidant activity of pomegranate juice. *Acta Aliment* **47** (2), 203–209. <https://doi.org/10.1556/066.2018.47.2.9>
- Lorenzo JM, Munekata PE, Putnik P, Bursać Kovačević D, Muchenje V, Barba FJ (2018) Sources, chemistry and biological potential of ellagitannins and ellagic acid derivatives. *Stud Nat Prod Chem* **60**, 189–221. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64181-6.00006-1>
- Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli M, Lerici C (2011) Review of nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed food. *Trends Food Sci Technol* **11** (9), 340-346. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00014-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00014-0)
- Miller K, Feucht W, Schmid M (2019) Bioactive Compounds of Strawberry and Blueberry and Their Potential Health Effects Based on Human Intervention Studies: A Brief Overview. *Nutrients* **11** (7), 1510. <https://doi.org/10.3390/nu11071510>

- Miraballes M, Martínez M, Gámbaro A (2019) Strawberry jams enriched with *Acca sellowiana* extract. *Food Sci Technol Int* **25** (6), 497-503. <https://doi.org/10.1177/1082013219835318>
- Moldovan BE, David L (2020) Influence of Different Sweeteners on the Stability of Anthocyanins from Cornelian Cherry Juice. *Foods* **9** (9), 1266. <https://doi.org/10.3390/foods9091266>
- Morelli R, Russo-Volpe S, Bruno N, Lo Scalzo R (2003) Fenton-Dependent Damage to Carbohydrates: Free Radical Scavenging Activity of Some Simple Sugars. *J Agric Food Chem* **51** (25), 7418–7425. <https://doi.org/10.1021/jf030172q>
- Naeem MN, Fairulnizal MN, Norhayati MK, Zaiton A, Norliza AH, Syuriahti WZ i sur. (2017) The Nutritional Composition of Fruit Jams in the Malaysian market. *J Saudi Soc Agric Sci* **16** (1), 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.03.002>
- Nayaka VS, Tiwari DR RB, Narayana CK, Kozhummal R, Azeez S, Vasugi C i sur. (2022) Comparative effect of different sugars instigating non-enzymatic browning and Maillard reaction products in guava fruit leather. *J Hortic Sci* **17** (1), 174-183. <https://doi.org/10.24154/jhs.v17i1.1387>
- Newerli-Guz J, Śmiechowska M, Drzewiecka A, Tylingo R (2023) Bioactive Ingredients with Health-Promoting Properties of Strawberry Fruit (*Fragaria x ananassa* Duchesne). *Molecules* **28** (6), 2711. <https://doi.org/10.3390/molecules28062711>
- Nguyen T, Nandasiri R, Fadairo O, Eskin MNA (2023) The effect of pH on the phenolic content and antioxidant properties of three different mustard extracts. *J Food Sci* **88** (7), 2882-2901. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16655>
- Ogori AF, Amove J, Evi-Parker P, Sardo G, Okpala COR, Bono G i sur. (2021) Functional and sensory properties of jam with different proportions of pineapple, cucumber, and Jatropha leaf. *Food raw Mater* **9** (1), 192–200. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-1-192-200>
- Oh S, Lee Y, Kim J, Kim J, Lee J, Kim MR i sur. (2006). Effect of pH on non-enzymatic browning reaction during γ -irradiation processing using sugar and sugar-glycine solutions. *Food Chem* **94** (3), 420-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.034>
- Ornelas-Paz JD, Yahia EM, Ramírez-Bustamante N, Pérez-Martínez JD, Escalante-Minakata MD, Ibarra-Junquera V i sur. (2013) Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. *Albion*) at six stages of ripening. *Food chem* **138** (1), 372-81. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.006>

Özbek T, Sahin-Yesilcubuk N, Demirel B (2019) Quality and Nutritional Value of Functional Strawberry Marmalade Enriched with Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) *J Food Qual* **2019**, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2019/2391931>

Pravilnik (2019) Pravilnik o voćnim džemovima, želeima, marmeladama, pekmezu te zaslađenom kesten pireu. Narodne novine 84, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_09_84_1726.html Pristupljeno 27. travnja 2024.

Pravilnik (2013) Pravilnik o izmjenama i dopunama Pravilnika o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama. Narodne novine 42, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_04_42_804.html Pristupljeno 27. travnja 2024.

Pravilnik (2011) Pravilnik o dopuni Pravilnika o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama. Narodne novine 113, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2011_10_113_2218.html Pristupljeno 27. travnja 2024.

Pravilnik (2010) Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama. Narodne novine 84, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_07_84_2402.html Pristupljeno 27. travnja 2024.

Rababah T, Al-Mahasneh M, Aludatt M, Ereifej K, Kilani I, Almajwal A i sur. (2014) Effect of jam processing on physicochemical properties of different fruits during storage. *J Sci Food Agric* **91** (6), 1096-1102. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4289>

Rababah T, Aludatt M, Al-Mahasneh M, Yang W, Feng H, Ereifej K i sur. (2012) Effect of jam processing and storage on phytochemical and physichemical properties of cherry at different temperatures. *J Food Process Preserv* **38** (1), 247-254. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00770.x>

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* **26** (9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB (2004) Lutein and Zeaxanthin and Their Potential Roles in Disease Prevention. *J Am Coll Nutr* **23** (6), 567S-587S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2004.10719427>

Rodrigues LM, de Souza DF, da Silva EA, de Oliveira TO, de Lima JP (2017) Physical and chemical characterization and quantification of bioactive compounds in berries and berry jams. *Semin Ciênc Agrár* **38** (4), 1853-1864. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n4p1853>

- Sadowska A, Świdorski F, Hallmann E (2020) Bioactive, Physicochemical and Sensory Properties as Well as Microstructure of Organic Strawberry Powders Obtained by Various Drying Methods. *Appl Sci* **10** (14), 4706. <https://doi.org/10.3390/app10144706>
- Seo JY, Jang JH, Kim JS, Kim EJ, Kim JS (2016) Development of low-sugar antioxidant jam by a combination of anthocyanin-rich berries. *Appl Biol Chem* **59** (2), 305–312. <https://doi.org/10.1007/s13765-016-0152-0>
- Shen M, Liu L, Zhang F, Yujie J, Huang Z, Xie JH i sur. (2021) Effects of Processing Parameters on Furan Formation in Canned Strawberry Jam. *Food Chem* **358** (1), 129819. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129819>
- Shinwari KJ, Rao PS (2018) Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. *Trends Food Sci Technol* **75**, 181-193. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.002>
- Singh G, Kachwaya DS, Kumar R, Vikas G, Singh L (2018) Genetic variability and association analysis in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch). *Electron J Plant Breed* **9** (1), 169-182. <https://doi.org/10.5958/0975-928X.2018.00021.2>
- Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J (2015) Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *Int J Mol Sci* **16** (10), 24673-24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Souza VR, Pereira PA, Queiroz F, Borges SV, Carneiro JD (2012) Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. *Food Chem* **134** (1), 381-386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.191>
- Sun BS, Ricardo-da-Silva JM, Spranger I (1998) Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric Food Chem* **46**(10), 4267-4274. <https://doi.org/10.1021/jf980366j>
- Šić Žlabur J, Bogdanović S, Voća S, Skendrović Babojelić M (2020) Biological Potential of Fruit and Leaves of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) from Croatia. *Molecules* **25** (21), 5102. <https://doi.org/10.3390/molecules25215102>
- Šturm K, Koron D, Štampar F (2003) The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. *Food Chem* **83** (3), 417-422. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00124-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00124-9)
- Tarola AM, Van de Velde F, Salvagni L, Preti, R (2013) Determination of Phenolic Compounds in Strawberries (*Fragaria ananassa* Duch) by High Performance Liquid Chromatography with

Diode Array Detection. *Food Anal. Methods* **6** (1), 227–237. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9431-5>

Tavra I (2016) Usporedba tradicionalnog i industrijskog postupka proizvodnje džema od smokve i aronije (diplomski rad), Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, Split. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:504307>

Topolska K, Florkiewicz A, Filipiak-Florkiewicz A (2021) Functional Food—Consumer Motivations and Expectations. *Int J Environ Res Pub Health* **18** (10), 5327. <https://doi.org/10.3390/ijerph18105327>

Türkyılmaz M, Hamzaoglu F, Çiftci RBA, Özkan M (2023) Increase in colour stability of pomegranate juice against 5-hydroxymethylfurfural (HMF) through copigmentation with phenolic acids. *J Sci Food Agric* **103** (15), 7836–7848. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12866>

Turturica M, Oancea AM, Rapeanu G, Bahrim G (2015) Anthocyanins: Naturally occurring fruit pigments with functional properties. *Ann Univ Dunarea Jos Galati Fascicle VI: Food Technol* **39** (1), 9–24. <https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/food/article/view/1557>

Vilela A, Matos S, Abraão AS, Lemos AM, Nunes FM (2015) Sucrose Replacement by Sweeteners in Strawberry, Raspberry, and Cherry Jams: Effect on the Textural Characteristics and Sensorial Profile—A Chemometric Approach. *J Food Process* **2015** (5), 1–14. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/749740>

Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM, Jang J (1995) Plant Flavonoids, Especially Tea Flavonols, Are Powerful Antioxidants Using an in Vitro Oxidation Model for Heart Disease. *J Agric Food Chem* **43** (11), 2800–2802. <https://doi.org/10.1021/jf00059a005>

Vukoja J, Pichler A, Kopjar M (2019) Stability of Anthocyanins, Phenolics and Color of Tart Cherry Jams. *Foods* **8** (7), 255. <https://doi.org/10.3390/foods8070255>

Warner R, Wu BS, MacPherson S, Lefsrud M (2021) A Review of Strawberry Photobiology and Fruit Flavonoids in Controlled Environments. *Front Plant Sci* **12**, 611893. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.611893>

Wojdyło A, Oszmiański J, Bober I (2008) The effect of addition of chokeberry, flowering quince fruits and rhubarb juice to strawberry jams on their polyphenol content, antioxidant activity and colour. *Eur Food Res Technol* **227** (4), 1043–1051. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0818-x>

Yuan B, Danao MG C, Stratton JE, Weier SA, Weller CL, Lu M (2018) High pressure processing (HPP) of aronia berry purée: Effects on physicochemical properties, microbial counts, bioactive compounds, and antioxidant capacities. *Innov Food Sci Emerg Technol* **47**, 249–255.

<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.009>

Yun Y, Li J, Pan F, Zhou Y, Feng X, Tian J i sur. (2023) A novel strategy for producing low-sugar pomegranate jam with better anthocyanin stability: Combination of high-pressure processing and low methoxyl & amidated pectin. *LWT* **179** (3),114625. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114625>

Zhang Z, Zou Y, Wu T, Huang C, Pei K, Zhang G i sur. (2016) Chlorogenic acid increased 5-hydroxymethylfurfural formation when heating fructose alone or with aspartic acid at two pH levels. *Food chem* **190** (1), 832-835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.041>

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

A handwritten signature in black ink, reading "Mihaela Šmic". The signature is written in a cursive style with a horizontal line underneath it.

Vlastoručni potpis