

# Fenolni sustav i antioksidacijski učinak soka od višnje

---

**Mateljak, Gabrijela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:336069>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**FENOLNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKI UČINAK**  
**SOKA OD VIŠNJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**GABRIJELA MATELJAK**

**Matični broj: 69**

**Split, rujan 2020.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE**  
**PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**FENOLNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKI UČINAK**  
**SOKA OD VIŠNJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**GABRIJELA MATELJAK**

**Matični broj: 69**

**Split, rujan 2020.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY**  
**FOOD TECHNOLOGY**

**PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIOXIDANT**  
**EFFECT OF SOUR CHERRY JUICE**

**BACHELOR THESIS**

**GABRIJELA MATELJAK**

**Parent number: 69**

**Split, September 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet Split  
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Tema rada:** je prihvaćena na 28. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

**Mentor:** doc dr. sc. Danijela Skroza  
**Pomoć pri izradi:** mag. ing. agr. Martina Čagalj, doktorand

### FENOLNI SASTAV I ANTIOKSIDACIJSKI UČINAK SOKA OD VIŠNJE Gabrijela Mateljak, 69

#### Sažetak:

Zbog velike prehrambene vrijednosti i bogatog udjela bioaktivnih komponenti koje pozitivno utječu na zdravlje i održavaju normalno funkcioniranje organizma, voće čini sastavni dio ljudske prehrane. Među brojnim vrstama voća posebno se izdvaja višnja, voće poznato po velikoj količini antioksidansa. Jedna od najpoznatijih sorti višnje u Dalmaciji je višnja Maraska koja ima visoku nutritivnu vrijednost i dobar biološki učinak na ljudsko zdravlje.

U ovom radu ispitan je fenolni sastav i antioksidacijska aktivnost matičnog soka višnje Maraske i soka s dodatkom konoplje. Određivani su slijedeći parametri: boja soka, ukupni fenoli, flavonoidi i neflavonoidi (Folin-Ciocalteu metodom), antocijani (metodom izbjeljivanja s bisulfitom) te antioksidacijska aktivnost (metodom određivanja redukcijske aktivnosti - FRAP i sposobnost hvatanja molekula slobodnog radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil - DPPH).

Dodatak ekstrakta industrijske konoplje u soka od višnje nije značajno utjecao na poboljšanje antioksidacijske aktivnosti kao ni na fenolni sastav matičnog soka. Rezultati ukazuju na veći udio ukupnih fenola (5630,56 mg GAE/L) i antocijana (2858.33 mg cijanidina/L) u čistom matičnom soku u odnosu na sok s dodatkom konoplje (5486,11 mg GAE/L ukupnih fenola i 2352.58 mg cijanidina/L). Redukcijska snaga čistog soka bila je znatno veća, dok je sok s dodatkom konoplje pokazao neznatno bolju sposobnost hvatanja radikala. Dobiveni rezultati ukazuju na bogat fenolni sastav i antioksidacijski potencijal matičnog soka višnje Maraske bez dodataka i s dodatkom konoplje.

**Ključne riječi:** višnja, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost

**Rad sadrži:** 26 stranica, 11 slika, 3 tablice, 25 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Franko Burčul - predsjednik
2. Izv. prof. dr. sc. Vida Šimat - član
3. Doc. dr. sc. Danijela Skroza - član-mentor

**Datum obrane:** 28. rujna 2020.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Teslina 10 (Ruđera Boškovića 33).

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Food Technology**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Thesis subject:** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session No. 28

**Mentor:** Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor

**Technical assistance:** PhD. Student, Martina Čagalj, MSc in Marine Fishery

### PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOUR CHERRY JUICE

Gabrijela Mateljak, 69

#### Abstract:

The fruits are an integral part of human diet due to its nutritional value and large number of bioactive components with positive beneficial effect on human and normal functioning of the organism. Among numerous types of fruit, the cherries stand out as rich source of antioxidants. One of the most known in Dalmatia is Maraska cherry variety, popular for its high nutritional value and good biological effect on human health.

In this paper the phenolic composition and antioxidant activity of pure Maraska sour cherry juice and a juice with addition of hemp extract were examined. The juice colour parameters, total phenols, flavonoids and non-flavonoids (Folin-Ciocalteu method), anthocyanins (by bisulphite bleaching method) and antioxidant activity (by the method of determining the reducing activity-FRAP and the ability to capture free radical molecules 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-DPPH) were determined.

The addition of industrial hemp extract to cherry juice did not significantly improve the antioxidant activity or the phenolic composition of the pure juice. The results indicated a higher proportion of total phenolics (5630,56 mg GAE/L) and anthocyanins (2858,33 mg cyanidin/L) in pure juice compared to the juice with hemp extract (5486,11 mg GAE/L of total phenols and 2352,58 mg cyanidin/L). The reducing power of the pure juice was significantly higher, while juice with the addition of hemp extract showed a slightly better ability to capture radicals. The results confirm that the pure Maraska cherry juice, with and without hemp, is a rich source of phenolics with strong antioxidant potential that can contribute to the overall health.

**Keywords:** sour cherry, total phenolics, antioxidant activity

**Thesis contains:** 26 pages, 11 figures, 3 tables, 25 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee:

1. Assistant Professor. Franko Burčul, PhD – chair person
2. Associate Professor Vida Šimat, PhD - member
3. Assistant Professor Danijela Skroza, PhD - supervisor

**Defence date:** September 28, 2020.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Teslina 10 (Ruđera Boškovića 33).

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Danijele Skroza, u razdoblju od lipnja do rujna 2020. godine.*

*Ovaj rad je sufinanciran sredstvima projekta BioProMedFood (Reference Number: 2019-SECTION2-4).*



## **ZAHVALA**

*Veliku zahvalnost dugujem svojoj mentorici doc.dr.sc. Danijeli Skroza koja me je usmjeravala za vrijeme pisanja ovog završnog rada, te na podršci i strpljenju koje mi je pružila tijekom pisanja istog. Veliko hvala mag. ing. agr. Martini Čagalj, doktorandici koja je pomogla prilikom eksperimentalne izrade rada.*

*Na kraju hvala obitelji i prijateljima koji su mi pomogli svojom podrškom i ljubavlju da dođem do samog kraja 3. godine.*

*HVALA SVIMA!*

## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Cilj ovog završnog rada bilo je ispitati utjecaj dodatka ekstrakta industrijske konoplje na fenolni sastav i antioksidacijsku aktivnost matičnog soka od višnje Maraske.

## SAŽETAK

Zbog velike prehrambene vrijednosti i bogatog udjela bioaktivnih komponenti koje pozitivno utječu na zdravlje i održavaju normalno funkcioniranje organizma, voće čini sastavni dio ljudske prehrane. Među brojnim vrstama voća posebno se izdvaja višnja, voće poznato po velikoj količini antioksidansa. Jedna od najpoznatijih sorti višnje u Dalmaciji je višnja Maraska koja ima visoku nutritivnu vrijednost i dobar biološki učinak na ljudsko zdravlje.

U ovom radu ispitan je fenolni sastav i antioksidacijska aktivnost matičnog soka višnje Maraske i soka s dodatkom konoplje. Određivani su slijedeći parametri: boja soka, ukupni fenoli, flavonoidi i neflavonoidi (Folin-Ciocalteu metodom), antocijani (metodom izbjeljivanja s bisulfitom) te antioksidacijska aktivnost (metodom određivanja redukcijske aktivnosti - FRAP i sposobnost hvatanja molekula slobodnog radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil - DPPH).

Dodatak ekstrakta industrijske konoplje u soka od višnje nije značajno utjecao na poboljšanje antioksidacijske aktivnosti kao ni na fenolni sastav matičnog soka. Rezultati ukazuju na veći udio ukupnih fenola (5630,56 mg GAE/L) i antocijana (2858.33 mg cijanidina/L) u čistom matičnom soku u odnosu na sok s dodatkom konoplje (5486,11 mg GAE/L ukupnih fenola i 2352.58 mg cijanidina/L). Redukcijska snaga čistog soka bila je znatno veća, dok je sok s dodatkom konoplje pokazao neznatno bolju sposobnost hvatanja radikala. Dobiveni rezultati ukazuju na bogat fenolni sastav i antioksidacijski potencijal matičnog soka višnje Maraske bez dodataka i s dodatkom konoplje.

**Ključne riječi:** višnja, ukupni fenoli, antioksidacijska aktivnost

## SUMMARY

The fruits are an integral part of human diet due to its nutritional value and large number of bioactive components with positive beneficial effect on human and normal functioning of the organism. Among numerous types of fruit, the cherries stand out as rich source of antioxidants. One of the most known in Dalmatia is Maraska cherry variety, popular for its high nutritional value and good biological effect on human health.

In this paper the phenolic composition and antioxidant activity of pure Maraska sour cherry juice and a juice with addition of hemp extract were examined. The juice colour parameters, total phenols, flavonoids and non-flavonoids (Folin-Ciocalteu method), anthocyanins (by bisulphite bleaching method) and antioxidant activity (by the method of determining the reducing activity-FRAP and the ability to capture free radical molecules 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl-DPPH) were determined.

The addition of industrial hemp extract to cherry juice did not significantly improve the antioxidant activity or the phenolic composition of the pure juice. The results indicated a higher proportion of total phenolics (5630,56 mg GAE/L) and anthocyanins (2858,33 mg cyanidin/L) in pure juice compared to the juice with hemp extract (5486,11 mg GAE/L of total phenols and 2352,58 mg cyanidin/L). The reducing power of the pure juice was significantly higher, while juice with the addition of hemp extract showed a slightly better ability to capture radicals. The results confirm that the pure Maraska cherry juice, with and without hemp, is a rich source of phenolics with strong antioxidant potential that can contribute to the overall health.

**Keywords:** sour cherry, total phenolics, antioxidant activity

# SADRŽAJ

|   |     |
|---|-----|
| <b>UVOD</b> .....   | 1   |
| <b>1. OPĆI DIO</b> .....                                    | 2   |
| 1.1. Višnja.....  | 2   |
| 1.1.1. Višnja Maraska.....                                  | 4   |
| 1.2. Kemijski sastav višnje.....                            | 4   |
| 1.3. Fenoli.....  | 5   |
| 1.3.1. Fenolni sastav višnje.....                           | 6   |
| 1.3.2. Antioksidacijska svojstva soka od višnje.....        | 7   |
| 1.4. Matični sok.....                                       | 7   |
| 1.4.1. Matični sok višnje.....                              | 8   |
| <b>2. EKSPERIMENTALNI RAD</b> .....                         | 9   |
| 2.1. Materijal.....   | 9   |
| 2.2. Otapala i reagensi.....                                | 11  |
| 2.3. Aparatura.....   | 11  |
| 2.4. Određivanje boje soka.....                             | 11  |
| 2.5. Fenolni sastav.....                                    | 113 |
| 2.5.1. Određivanje ukupnih fenola.....                      | 143 |
| 2.5.2. Određivanje flavonoida i neflavonoida.....           | 14  |
| 2.5.3. Određivanje koncentracije antocijana.....            | 14  |
| 2.6. Određivanje antioksidacijske aktivnosti.....           | 15  |
| 2.6.1. FRAP metoda.....                                     | 15  |
| 2.6.2. DPPH metoda.....                                     | 16  |
| <b>3. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....                        | 18  |
| 3.1. Rezultati određivanja boje soka.....                   | 18  |
| 3.2. Rezultati određivanja fenolnog sastava.....            | 20  |
| 3.3. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti..... | 21  |
| <b>4. ZAKLJUČCI</b> .....                                   | 24  |
| <b>5. LITERATURA</b> .....                                  | 25  |

## UVOD

Uz povrće, voće čini važnu i neizostavnu komponentu u svakodnevnoj prehrani zbog svoje velike prehrambene vrijednosti. Osim komponenti koje organizmu daje energiju, voće je namirnica bogata bioaktivnim komponentama koje blagotvorno djeluju na organizam. Među brojnim vrstama voća posebno se ističe višnja, voće bogato fenolima, antocijanima, vitamina, mineralima i prehrambenim vlakanima. Osobito značajna sorta na području Dalmacije je višnja Maraska bogata određenom količinom šećera, organskim kiselinama, taninima, pektinima, mineralnim tvarima, niacinom i karotenom. Svojim brojnim biološkim svojstvima, među kojima i antioksidacijskim djelovanjem te fenolnim sastavom pozitivno djeluje na zdravlje ljudi i to na način da smanjuje mogućnost razvoja degenerativnih bolesti, pomaže pri oporavku mišića, održava krvni tlak i pH ravnotežu tijela.

Zbog svog kemijskog sastava i širokog spektra funkcionalnog djelovanja na organizam višnja ne samo da se konzumira u svježem obliku već se i prerađuje u proizvode poput sokova, marmelada, džemova i mnogih drugih. Nutritivna svojstva koja svježa namirnica posjeduje važno je u što većoj mjeri sačuvati tijekom prerade. U tom smislu matični sokovi su vrlo zanimljivi budući da se tijekom prerade ne koriste visoke temperature pa primijenjeni tehnološki procesi minimalno utječu na gubitak korisnih sastojaka, degradaciju boje, teksture i arome soka. Osim toga zahtjevi potrošača za novim i funkcionalnim proizvodima su sve veći, pa brojni proizvođači nastoje zadovoljiti takve zahtjeve proizvodnjom sokova s različitim dodacima. Na policama trgovina su brojni takvi bezalkoholni napitci poput aromatiziranih voda, ledenih čajeva ali sve više i sokova s raznim dodacima (biljnim ekstraktima, vitaminima, mineralima i dr.). Sve su to proizvodi s dodanom nutritivnom vrijednosti ili funkcionalni napitci.

Upravo radi navedenih spoznaja i podataka zanimljivo je bilo usporediti fenolni sastav i antioksidacijsku aktivnost čistog matičnog soka od višnje Maraske i soka s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. Višnja

Višnja (lat. *Prunus cerasus*) je biljna vrsta iz roda *Prunus*. Kontinentalno je voće za koje se smatra da potječe iz Zapadnog djela Azije. Smatra se da je višnja prenesena iz Rima, odakle se dalje širi cijelom Europom pa tako i u Hrvatsku. Najzastupljenija područja su cijelo sredozemno područje, Dalmacija te sjeverni kontinentalni dio Hrvatske. Široko je rasprostranjena upravo zato što podnosi sve vrste vremenskih nepogoda kao što su vjetar, niske temperature i suše zbog čega se čak uzgaja i na nadmorskim visinama do 1 500 metara.<sup>1</sup> Postoji veliki broj sorti višnje, a među najpoznatijima su: Majska, Maraska, Kraljica Hortenzija, Rekselle, Keleris<sup>14</sup>, Meteor, Kereška te Lotova.<sup>2</sup> U Dalmaciji se jako puno uzgaja višnja Maraska koja najbolje uspijeva na obroncima i blagim padinama okrenutim jugu, jugoistoku i istoku.



**Slika 1.** Višnja (*Prunus cerasus* L.)<sup>3</sup>

Plod je okrugla, svijetlo ili tamnocrvena koštunica, slatkog ili kiselkastog okusa. Plodovi sadrže vrijedne sastojke kao što su: šećeri, organske kiseline, tanini, pektini, bjelančevine, mineralne tvari i vitamin C.<sup>2</sup>

Sjemenka je eliptično spljoštena oblika i ima površinsko klijanje. Od hipokotila se razvija poliferan korijen u širinu razvijen s težnjom prema površini. Deblo je ravno i ima tamnosmeđu do crnu koru, bogatu izduženim poprečnim lenticelama u obliku leće. U godinama s puno padalina tijekom proljeća dolazi do horizontalnog i vertikalnog pucanja debla. Cvijet je s plodnicom unutra i s ortotropnim zametkom. Zanimljivo je da je nektar višnje vrlo privlačan pčelama i drugim insektima, te oplodnja ne dolazi u pitanje. List je ovisno o tipu eliptičan, s prijelaznim formama prema lancetastom, s većom ili manjom pravilnosti, a prema vrhu blago ili izrazito šiljat.<sup>4</sup> Vrijeme dozrijevanja višnje je uglavnom do početka srpnja što ovisi o biološkim osobinama sorte.



**Slika 2.** Građa višnje <sup>5</sup>



### 1.1.1. Višnja Maraska

Višnja Maraska (*Prunus cerasus var. marasca*) je autohtona Hrvatska sorta višnje koja je najvećim dijelom rasprostranjena u Dalmaciji. Uzgoj se proteže s područja sjeverne (od Zadra) do srednje Dalmacije (do Makarske).<sup>6</sup> Njena botanička obilježja odlikuju se sa krošnjom okruglog oblika, grana uspravnog rasta te ploda koji ima srcolik oblik. Plodovi su tamnocrvene boje, a sok je aromatičan.<sup>7</sup> Hranjiva vrijednost višnje Maraske potječe iz kemijskog sastava ploda, mesa, peteljki te koštice. Ukupni kemijski sastav čine: vitamini, minerali, šećeri, palmitinska, stearinska i oleinska kiselina, šećerni alkoholi, pektinske tvari, fenoli i antocijani.<sup>2</sup> Upravo zbog bogatstva kiselina koje plod višnje Maraske sadrži ona se manje koristi u svježem stanju, a više u obliku prerađenih proizvoda od kojih se izdvajaju marmelade, džemovi i sokovi.

### 1.2. Kemijski sastav višnje

Kemijski sastav višnje varira s obzirom na sortu, vrstu tla te klimatske uvjete tijekom zrenja. Karakteristike kojima se odlikuje kvaliteta ploda su boja, slatkoća, kiselost i čvrstoća. Stoga plod višnje najvećim dijelom sadrži vodu (83,15%), a ostatak čini suha tvar (16,85%). Najveći udio suhe tvari zauzimaju šećeri (glukoza i fruktoza – 10,24%) te kiseline (1,8%). Šećerni alkohol sorbitol se nalazi u koncentraciji od 16,2 – 42,2 g u 1 L soka. Od kiselina su prisutne jabučna (85–90% od ukupnog sadržaja kiselina) i limunska u mnogo manjim količinama. Plod višnje bogat je i pektinskim tvarima (0,1–0,5%).<sup>2,8,9</sup> Slatkast okus ploda višnje ovisi o količini i omjeru glukoze i fruktoze, dok s druge strane kiselost je uzrokovana prisustvom organskih kiselina. Višnju karakterizira visoka koncentracija vitamina A i  $\beta$ -karotena, također sadrži i minerale kao što su kalcij, magnezij, fosfor i kalij. Uz sve navedeno plod višnje sadrži i druge vrijedne fitonutrijente kao što je prikazano u tablici 1.

**Tablica 1.** Fitonutrijenti u višnji (u 100 g).<sup>9</sup>

| <b>Fitonutrijenti</b> | <b>Višnja</b> |
|-----------------------|---------------|
| Vitamin C             | 10 mg         |
| Niacin                | 0.4 mg        |
| Pantoteinska kiselina | 0.1 mg        |
| Vitamin A             | 1283 IU       |
| Vitamin E             | 0.1 mg        |
| Vitamin K             | 2.1 µg        |
| Beta karoten          | 770 µg        |
| Lutein+Zeaksantin     | 85 µg         |
| Ukupni fenoli         | 228.9 mg      |

IU - International unit; Za vitamin A 1 IU je biološki ekvivalent 0,3 µg retinola ili 0,6 µg β -karotena

### 1.3.Fenoli

Fenolni spojevi su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita. Njihova priroda i rasprostranjenost ovise o dijelu biljke u kojem se nalaze. Fenoli su prisutni u voću, povrću i žitaricama, a najvećim dijelom su koncentrirani u pokožici, ali i u drugim dijelovima biljke i ploda. Struktura fenolnih spojeva varira od jednostavnih molekula, kao što su fenolne kiseline, do visokopolimeriziranih spojeva, kao što su kondenzirani tanini. Osnovnu strukturu fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina pa se tako dijele na: flavonoide i neflavonoide. U fenolne spojeve ubrajaju se i tanini kao polimeri nedovoljno poznate strukture, topljivi u polarnim otapalima, trpkog i gorkog okusa koji sudjeluju u reakcijama posmeđivanja, također pomažu u bistrenju sokova, a najvažniju ulogu imaju kao antioksidansi.<sup>2,10</sup>

S obzirom na razlike u kemijskoj strukturu u flavonoide ubrajamo antocijanidine, antocijan glikozide, flavone, izoflavone, flavanone, flavonole, flavonol glikozide, procijanidine i dihidrohalkone.<sup>2,10</sup>

Jedni od najzastupljenijih fenolnih spojeva su biljni pigmenti antocijani. To su glikolizirani polihidroksi i polimetoksi derivati 2-fenilbenzopirilium kationa odnosno flavilium kationa. Razlikuju se obzirom na broj hidroksi i/ili metoksi grupa, vrsti, broju i mjestu vezanog šećera na molekulu te vrsti i broju alifatskih ili aromatskih kiselina koje su vezane na šećer. Glavni su nosioci boje plodova voća i povrća (crvena, plava do ljubičasta boja) uključujući i višnju. U pojedinim plodovima ne nalazi se samo jedan pigment, već je to redovito više pigmenata zajedno sa dominirajućim sadržajem jednog od njih, a koncentracija pigmenata utječe na intenzitet obojenja.

**Tablica 2.** Najzastupljeniji antocijani i njihove karakteristične boje <sup>2</sup>

| <b>Antocijani</b> | <b>Boja</b>       |
|-------------------|-------------------|
| Pelargonidin      | Narančasto crvena |
| Cijanidin         | Crvena            |
| Delfinidin        | Plavo-ljubičasta  |
| Peonidin          | Purpurno crvena   |
| Petunidin         | Tamno crvena      |
| Malvidin          | Plava             |

Tako npr. delfinidin daje najintenzivnije tamno plavo-ljubičasto obojenje, pelargonidin narančasto-crvenu boju, a cijanidin je klasičan primjer antocijana crvenog obojenja pronađen u cvijeću te u voću i lišću.<sup>2</sup> Boja antocijana iznimno ovisi o pH vrijednosti otopine pa su crveno obojeni pri pH vrijednosti ispod 3, a pri vrijednostima iznad 11 plavo te ljubičasto u neutralnom pH području.<sup>11</sup>

### **1.3.1. Fenolni sastav višnje**

Višnja je bogata mnogim fenolnim spojevima, osobito flavonoidima koji se nalaze u njoj pokožici. Najzastupljenija podgrupa flavonoida prisutna u višnjama su antocijani i to cijanidin-3-glukozilrutinozid, cijanidin-3-rutinozid, cijanidin-3-soforozid, pelargonidin-3-glukozid, cijanidin-3-glukozid i peonidin-3-rutinozid.<sup>9,12</sup>

Uz antocijane višnje sadrže i veliku količinu fenolnih kiselina kao npr. *p*-kumarinsku, klorogensku i dr.). Od drugih predstavnika flavonoida u višnjama su prisutni flavonoli i flavan-3-oli (epikatehin, kvarcetin-3-glukozid, kvarcetin-3-rutinozid i kaempferol-3-rutinozid), no u nešto manjoj koncentraciji u odnosu na antocijane i fenolne kiseline.<sup>9,12</sup>

### **1.3.2. Antioksidacijska svojstva soka od višnje**

Antioksidansi se mogu definirati kao bilo koji sastojak koji može odgoditi, spriječiti ili zaustaviti kvarenje hrane ili nastanak nepoželjne arome kao posljedice oksidacije. Također antioksidansi štite stanice i organizam od oštećenja koje mogu izazvati slobodni radikali. Voće je jedna od vrsta namirnica koja zadrži veliku količinu antioksidansa, osobito vitamina C i E, karotena, flavonoida i dr. spojeva. Brojne znanstvene studije ispituju antioksidacijski potencijal raznih vrsta voća i nastoje dokazati da su biološki aktivni spojevi, kao što su antocijani, jedni od najzaslužnijih komponenti voća koje doprinose zaštitnom učinku protiv kroničnih i degenerativnim bolesti.<sup>13</sup>

Višnja, zahvaljujući svom bogatom fenolnom sastavu, ima veliki antioksidacijski potencijal kojim sprječava oksidacijsko djelovanje slobodnih radikala.<sup>14</sup> Za dobar antioksidacijski učinak soka od višnje najzaslužniji su antocijani čija sposobnost antioksidacije ne opada preradom sirove višnje u koncentrate ili sokove; njegova sposobnost uništavanja slobodnih radikala ostaje ista.<sup>8</sup> Dokazano je kako su tijekom prerade svježih plodova višnje u sok udjeli polifenola i njihov antioksidacijski učinak uglavnom ostali isti. Također zagrijavanje i obrada enzimima tijekom proizvodnje soka pospješuju ekstrakciju te je viša koncentracija antocijana u soku nego u svježem plodu višnje.<sup>15</sup>

### **1.4. Matični sok**

Matični sok ili 100% prirodni sok je onaj kod kojeg se odmah nakon prešanja ili neke druge metode prerade vrši pasterizacija i punjenje u sterilizirane boce. Ovim postupkom prerade svi sastojci iz svježih plodova voća i povrća ostaju sačuvani i minimalno degradirani. Tu se ponajprije misli na brojne vitamine, minerale, kiseline ali i najvažniju, vodu iz stanica voća.<sup>16</sup>

Za preradu matičnog soka koriste se isključivo potpuno zrelo i zdravo voće ili voće koje je prethodno pripremljeno uklanjanjem oštećenih i bolesnih dijelova. Da bi se dobio sok valjane kvalitete mora se poštivati načelo čistoće od same berbe plodova do prijevoza, skladištenja, cijedenja sirovog soka te pogotovo u daljnjim procesima proizvodnje. Prije procesa proizvodnje soka voće se mora sortirati po sortama i po kvaliteti. Korištenjem sitnijih plodova postiže se veća aromatičnost zbog relativno veće površine i sadržaja aromatskih tvari u kožici. Nakon sortiranja i uklanjanja nepoželjnih tvari (lišće, dijelovi grančica, itd.) plodovi se peru ručno ili mehanički. Potom slijedi muljanje i prešanje koje je kod većih postrojenja kontinuirano od pranja do muljanja i cijedenja u prešama.<sup>17</sup>

#### **1.4.1. Matični sok višnje**

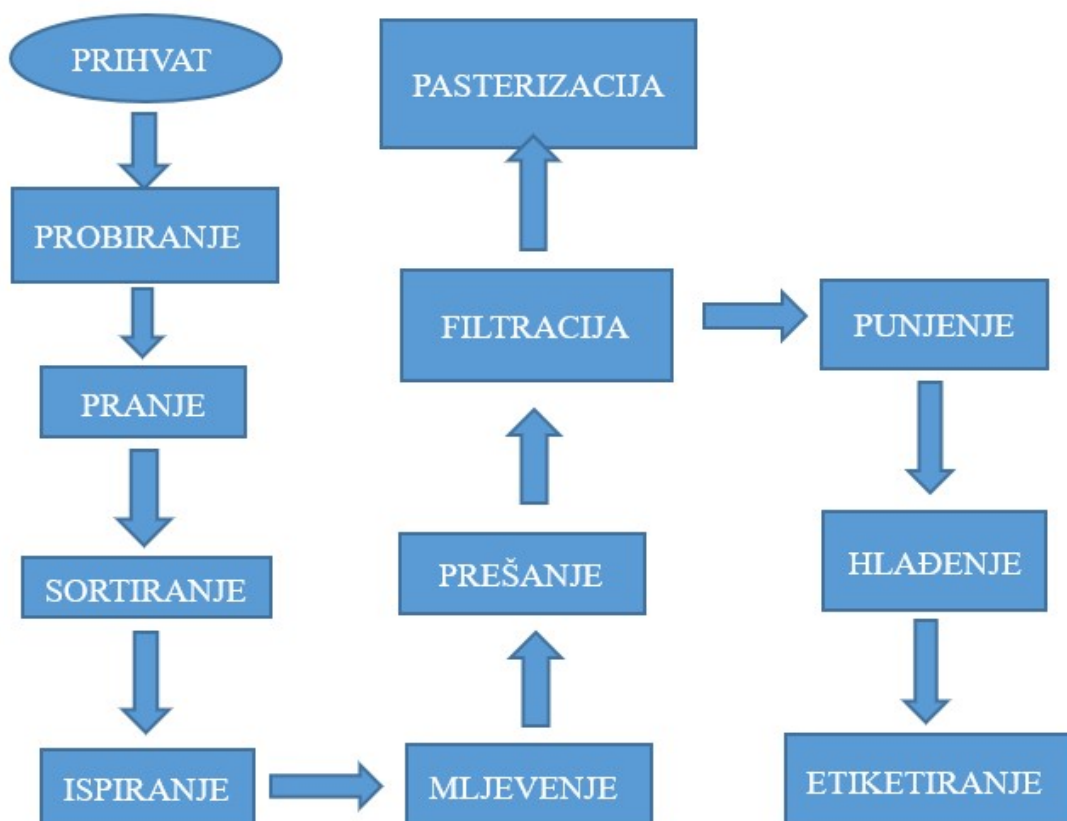
Višnja se može široko koristiti za proizvodnju sokova bilo da se prerađuje posebno ili u mješavini. Sok od višnje ima finu aromu i ugodnu kiselinu te se za njegovo dobivanje većinom koriste jako obojene sorte. Priprema ploda višnje za proizvodnju matičnog soka ne razlikuje se bitno od ostalih matičnih sokova. Međutim prilikom procesa muljanja, muljaju se zajedno sa košticom, dok se kod drugog koštunjicavog voća odvaja koštica prije muljanja. Peteljke se kod višnje također odstranjuju.<sup>17</sup>

Proces proizvodnje soka najprije započinje kod prijema sirovine s pregledom dokumentacije o sirovini i vizualnim pregledom voća. Potom se refraktometrom određuje količina šećera i suhe tvari. Nakon vaganja sirovina se unosi u rashladnu komoru sve do trenutka prerade. Prerada započinje pranjem i sortiranjem kada se voće stavlja u kadu s vodom. Nakon pranja voće ide u mlin i melje se u finu kašu. U hidrauličkoj preši voćna kaša se stišće tako da se dobije 60-70% soka. Kako bi se oslobodio taloga sok prolazi kroz vrećasti filter i odlazi u inox posudu. Pasterizacija se provodi na 80-84 °C u plinsko-električnom pasterizatoru. Na istoj temperaturi se sok puni u staklenu ili plastičnu ambalažu i vrši čepljenje. Napunjena ambalaža odlazi u kadu sa hladnom vodom gdje se vrši hlađenje do 30-35°C. Finalni proizvod se i etiketira i propisno označava, slaže u kutije i na paletama odvozi na skladištenje.<sup>2</sup>

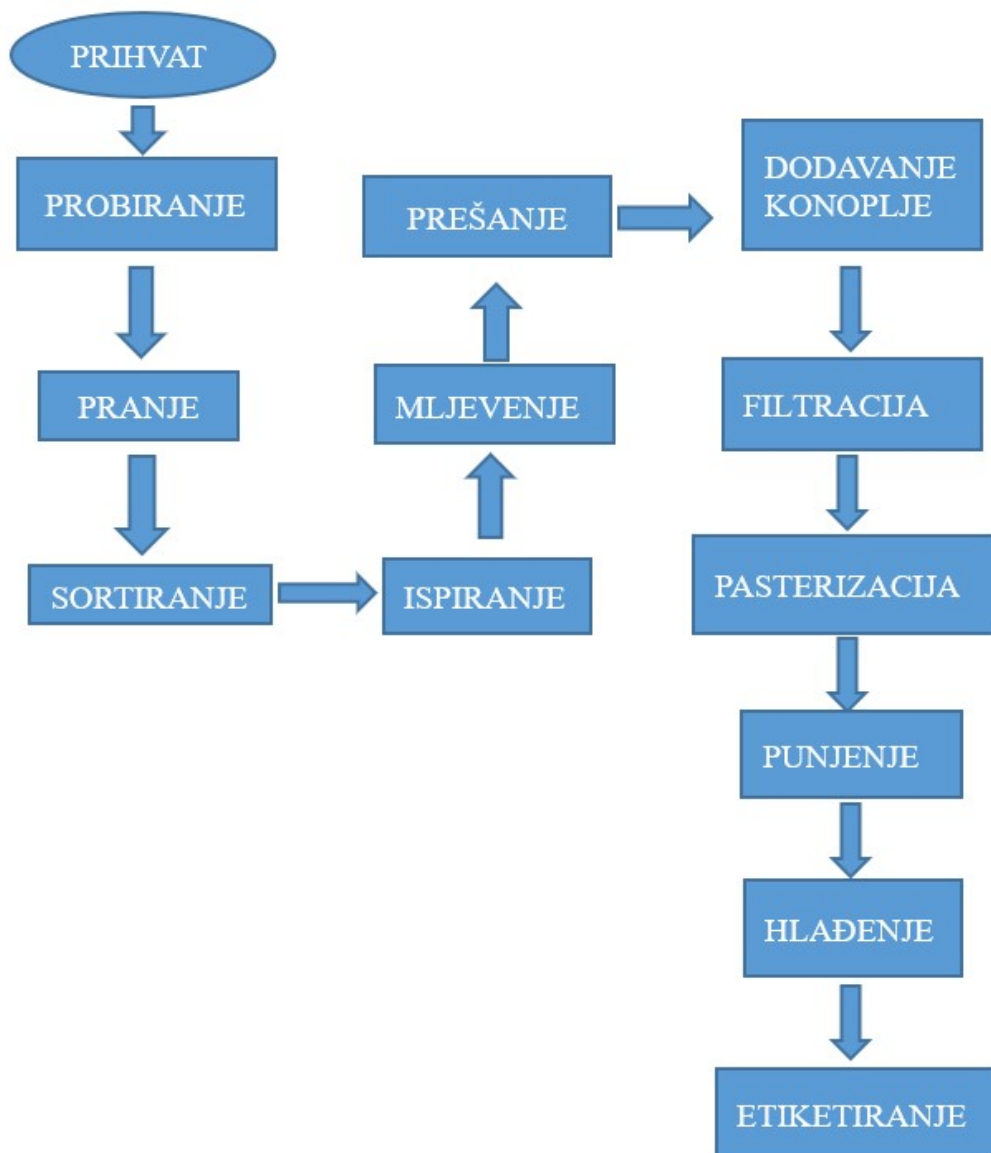
## 2. EKSPERIMENTALNI RAD

### 2.1. Materijal

U ovom radu korišten je matični sok od višnje bez dodataka (čisti sok) i matični sok od višnje s dodatkom ekstrakta industrijske konoplje (sok + konoplja). Matični sok proizveden je iz ekološki uzgojenih sorti višnji Maraske na području Dalmatinske zagore (Terra marascae-Šeastanovac). Industrijska konoplja korištena u preradi soka je također iz ekološkog uzgoja (OPG Moro Jelena, Otok Dalmatinski). Tehnološki proces proizvodnje matičnog soka s eko certifikatom proveden je u poljoprivrednoj zadruzi „Vočko“ u Pakracu. Tijek samog procesa proizvodnje prikazan je grafički na slikama 3 i 4.



**Slika 3.** Prikaz tehnološke sheme proizvodnje matičnog soka od višnje.



**Slika 4.** Tehnološka shema proizvodnje matičnog soka od višnje s dodatkom konoplje.

U tehnološkom procesu proizvodnje matičnog soka od višnje s dodatkom konoplje korišten je ekstrakt konoplje pripremljen potapanjem industrijske konoplje u sok od višnje na 65 °C tijekom 30 min nakon čega je filtriran i dodan ostatku soka.

## 2.2. Otapala i reagensi

- Folin- Ciocalteu reagens (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Natrijev acetat,  $\text{CH}_3\text{COONa} \times \text{H}_2\text{O}$  (*Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija*);
- Glacijalna octena kiselina,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$  (*Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija*);
- Klorovodična kiselina, 37%,  $\text{HCl}$  (*Pancreac, Barcelona, Španjolska*);
- TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin)  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$  (*Fluka, Sigma-Aldrich, Njemačka*);
- Željezo (III) klorid,  $\text{FeCl}_3$  (*Kemika, Zagreb, Hrvatska*);
- Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid),  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ , 97% čistoće (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Etanol p.a. (*Alkaloid AD-Skopje, Skopje, Makedonija*);
- DPPH (1,1-diphenyl-2-pikril-hidrazil radikal),  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_6$  (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Natrijev karbonat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Galna kiselina,  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$  (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Formaldehid,  $\text{CH}_2\text{O}$  (*Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)
- Natrijev disulfit,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ , *Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka*)

## 2.3. Aparatura

- Tecan MicroPlate Reader, model SUNRISE, Tecan Group Ltd., Mannedorf, Švicarska
- Spektrofotometar LAMBDA EZ201 PERKIN ELMER, UK
- Analitička vaga, Kern, Model ALS 120-4, Kingston, UK
- Mikrotitarske pločice, nesterilne, Sarstedt, Njemačka

## 2.4. Određivanje boje soka

Apsorbancije kod 420, 520 i 620 nm korištene su za određivanje intenziteta ili gustoće boje soka, za određivanje nijanse i za određivanje udjela slobodnih antocijana u soku. Prije mjerenja uzorci su adekvatno razrijeđeni sa acetatnim puferom (pH 3,5) a kod izračuna apsorbancije korišten je faktor razrjeđenja.



### **Određivanje intenziteta boje soka**

Intenzitet boje (**IB**) predstavlja količinu boje i računat je preko formule:

$$\mathbf{IB = Abs_{420\text{ nm}} + Abs_{520\text{ nm}} + Abs_{620\text{ nm}}$$

### **Određivanje nijanse boje bistrih sokova (NB)**

Nijansa boje (**NB**) je pokazatelj razvoja boje prema narančastoj nijansi. Za izračun nijanse boje koriste se apsorbancije kod 420 nm i 520 nm, prema formuli:

$$\mathbf{NB = Abs_{420\text{ nm}} / Abs_{520\text{ nm}}$$

### **Određivanje sastava boje**

Sastav boje je doprinos svake od tri pojedine komponente ukupne boje, a izražava se u % kao optička gustoća (**OG**).

Pomoću izmjerenih apsorbancija kod 420, 520 i 620 nm izračuna se postotak učešća pojedinih komponenti boje soka. Suma apsorbancija kod 420, 520 i 620 nm uzeta je kao 100 % i temeljem toga za svaku pojedinu izračunat je postotak:

$$\mathbf{OG\ 420\ (\%) = (Abs_{420\text{ nm}} / IB) \times 100}$$

$$\mathbf{OG\ 520\ (\%) = (Abs_{520\text{ nm}} / IB) \times 100}$$

$$\mathbf{OG\ 620\ (\%) = (Abs_{620\text{ nm}} / IB) \times 100}$$

### **Određivanje udjela crvene boje u soku**

Učešće crvene boje (**UCB**) ili živahnost crvene nijanse vezana je sa oblikom apsorpcijskog spektra. Učešće crvene boje u bistrim sokovima izračunato je pomoću formule (Riberau-Gayon):

$$\mathbf{UCB\ (\%) = \{ Abs_{520\text{ nm}} - [(Abs_{420\text{ nm}} + Abs_{620\text{ nm}}) / 2] \} \times 1 / Abs_{520\text{ nm}} \times 100}$$

## 2.5. Fenolni sastav

### 2.5.1. Određivanja ukupnih fenola

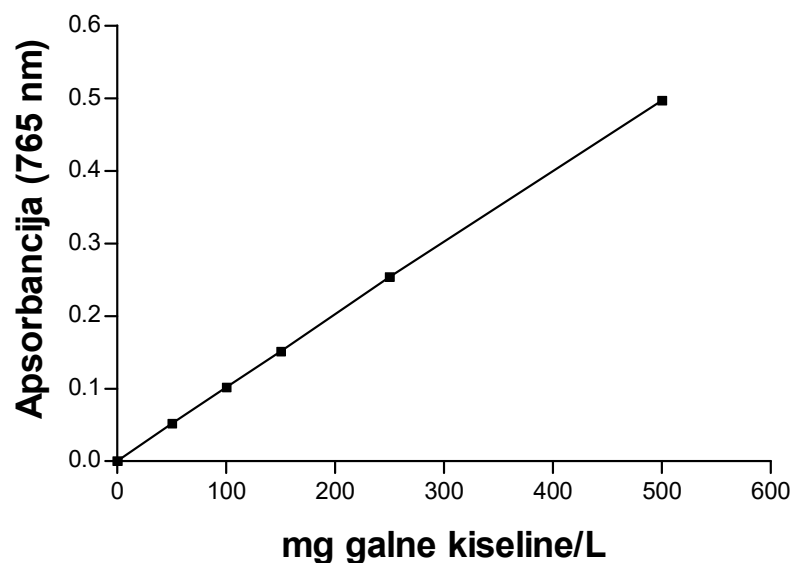
Ukupni fenoli u uzorcima soka određeni su spektrofotometrijskom metodom po Folin-Ciocalteu.<sup>18,19</sup>

#### Reagensi:

- Folin-Coicalteu reagens
- 20 %-tna otopina natrij karbonata ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- Galna kiselina - matična otopina standarda ( $\gamma = 5 \text{ mg/mL}$ )

#### Postupak:

U kivete od 10 mm otpipetirano je 25  $\mu\text{l}$  uzorka, potom dodano 1,5 ml destilirane vode i 125  $\mu\text{l}$  reagens Folin-Ciocalteu. Otopina je promiješana tipsom i nakon 1 minute dodano je 375  $\mu\text{l}$  20%-tne otopine natrij karbonata  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , te je dodano još 475  $\mu\text{l}$  destilirane vode. Ostavljeno je na sobnoj temperaturi 2 sata u mraku, a nakon toga očitana je apsorbancija na spektrofotometru na valnoj dužini od 765 nm. Dobiveni rezultati su izraženi u mg ekvivalenta galne kiseline u litri ekstrakta (mg GAE/L) pošto je standardizacija izvršena s galnom kiselinom.



Slika 5. Standardna krivulja galne kiseline za određivanje ukupnih fenola.

### 2.5.2. Određivanje flavonoida i neflavonoida

Udio flavonoida i neflavonoida određen je metodom taloženja s formaldehidom. Formaldehid reagira s flavonoidima, a kondenzirani produkti se talože i moguće ih je ukloniti filtracijom.<sup>18</sup>

#### Reagensi:

- HCl 1:4
- Otopina formaldehida,  $\gamma = 8 \text{ mg/mL}$

#### Postupak:

U falkon epruvete dodano je točno 2,5 mL uzorka soka, 2,5 mL 1:4 kloridne kiseline (HCl) i 1,25 ml otopine formaldehida ( $\text{CH}_2\text{O}$ ). Otopina je ostavljena stajati točno 24 sata na sobnoj temperaturi nakon čega je filtrirana. Kondenzirane molekule uklonjene su filtracijom, a preostale fenolne spojeve u otopini određeni pomoću metode s Folin-Ciocalteu reagensom.

Udio flavonoida izračunat je iz razlike udjela ukupnih fenola i udjela ukupnih fenola-neflavonoida nakon taloženja flavonoidnih fenola s formaldehidom. Udio flavonoida izračunati su po donjoj formuli vodeći računa o faktoru razrjeđenja i načinu pripreme reakcijske smjese s formaldehidom. Sva mjerenja rađena su najmanje u tri ponavljanja. Rezultati su prosječna vrijednost.

$$\text{Flavonoidi (mg GAE/L)} = \text{Ukupni fenoli (mg GAE/L)} - \text{Neflavonoidi (mg GAE/L)}$$

### 2.5.3. Određivanje koncentracije antocijana

Ovaj postupak određivanja antocijana se temelji na metodi izbjeljivanja bisulfita (engl. *bisulfite bleaching*).<sup>18</sup>

#### Reagensi:

- 0,1% otopina HCl u etanolu – zakiseljeni etanol
- 2% -tna otopina HCl
- 15% -tna otopina natrijeva disulfita ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ )

**Postupak:**

U falkon epruveti otpipetirano je 0,5 mL soka, dodano 0,5 mL 0,1%-tne otopine HCl u 95 %-tnom etanolu i 10 mL 2 %-tne otopine HCl. Po 5 mL ovako pripravljene smjese prenesene su u dvije epruvete. U epruvetu 1 dodano je 2 mL otopine destilirane vode, a u epruvetu 2 dodano je 2 mL 15 %-tne otopine natrijeva disulfita (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Nakon 20 minuta izmjerena je apsorbancija uzorka s destiliranom vodom (Abs1) i apsorbancija uzorka s dodatkom otopine bisulfita (Abs2) pri valnoj duljini od 520 nm u odnosu na vodu. Izračunata je razlika apsorbancija između ova dva mjerenja:

$$\text{Udio antocijana (mg/L)} = \Delta \text{ Abs}_{520} \times F$$

F - apsorbancija otopine standarda (cijanidina) poznate koncentracije.

**2.6. Određivanje antioksidacijske aktivnosti**

Antioksidacijska aktivnost određena je dvjema metodama – FRAP (engl. *Ferric Reducing Ability of Plasma*) i mjerenjem sposobnosti hvatanja molekula slobodnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala.

**2.6.1. FRAP metoda**

FRAP metoda je vrlo jednostavna spektrofotometrijska tehnika koja se bazira na sposobnosti antioksidansa da reduciraju Fe<sup>3+</sup> (feri ioni) u Fe<sup>2+</sup> (fero ioni). Nastali feri ioni (u kiselom mediju, niski pH) reagiraju s reagensom (2,4,6-tripiridil-s-triazin) dajući obojeni kompleks koji ima apsorpcijski maksimum kod 593 nm (VIS dio spektra). Što je u kontroliranom uzorku veća koncentracija antioksidansa sposobnih reducirati feri ione to će intenzitet nastalog obojenja biti veći.<sup>20</sup>

**Reagensi:**

- 300 mmol/litri ACETATNOG PUFERA, pH 3,6
- 10 mmol/litri TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazine) u 40 mmol/litri HCL
- Standardna otopina Trolox-a
- *Radni reagensi FRAPA*: se sprema po potrebi miješanjem 25 ml acetatnog pufera, 2,5 mL TPTZ otopine i 2,5 mL FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O.

**Postupak:**

U mikrotitarsku pločicu otpipetirano je 300 µL svježe pripravljene otopine FRAP reagensa i očitana je absorbancija pri 595 nm. Potom je u reagens dodano 10 µL uzorka i prati se promjena absorbancija nakon 4 minute. Promjena absorbancije, izračunata je kao razlika konačne vrijednosti absorbancije reakcijske smjese nakon 4 minute i absorbancije FRAP reagensa prije dodatka uzorka, te je uspoređena s vrijednostima dobivenim za otopinu standarda. Kao standard korišten je Trolox, a rezultati za FRAP otopina ekstrakata uspoređeni su s rezultatima za FRAP Troloxa i izraženi kao µM Trolox ekvivalenti (TE). Sva mjerenja izvršena su u 4 ponavljanja. Rezultati svih ispitivanja prikazani su kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD).

**2.6.2. DPPH metoda**

DPPH metoda - antioksidacijska sposobnost uzoraka se mjeri kao sposobnost vezivanja radikala pri čemu se koristi stabilan sintetski DPPH radikal; rezultati izraženi kao postotak inhibicije soka (% inhibicije).<sup>21</sup>

**Reagensi:**

- **Otopina DPPH radikala** priprema se otapanjem 4 mg DPPH radikala u 100 mL etanola pri čemu je dobiveno intenzivno obojena ljubičasta otopina. *Radni DPPH* pripremljen je razrjeđivanjem otopine DPPH radikala etanolom, sve dok se nije postignula absorbancija otopine 1,2 (±0,002) pri 492 nm i to neposredno prije mjerenja.

**Postupak:**

U mikrotitarske pločice otpipetiran je volumen od 290  $\mu\text{L}$  radne otopine DPPH radikala i očitana je absorbancija prije dodatka uzorka. Nakon toga, u otopinu DPPH radikala je dodano 10  $\mu\text{L}$  uzorka. Promjena absorbancije pri 492 nm očitana je nakon jednog sata. Sve analize, odnosno mjerenja izvršena su u 4 ponavljanja. Antioksidacijska aktivnost, odnosno % inhibicije DPPH radikala računa se prema izrazu:

$$\% \text{ inhibicije DPPH}\cdot = [(A C(0) - A A(t)) / A C(0)] \times 100$$

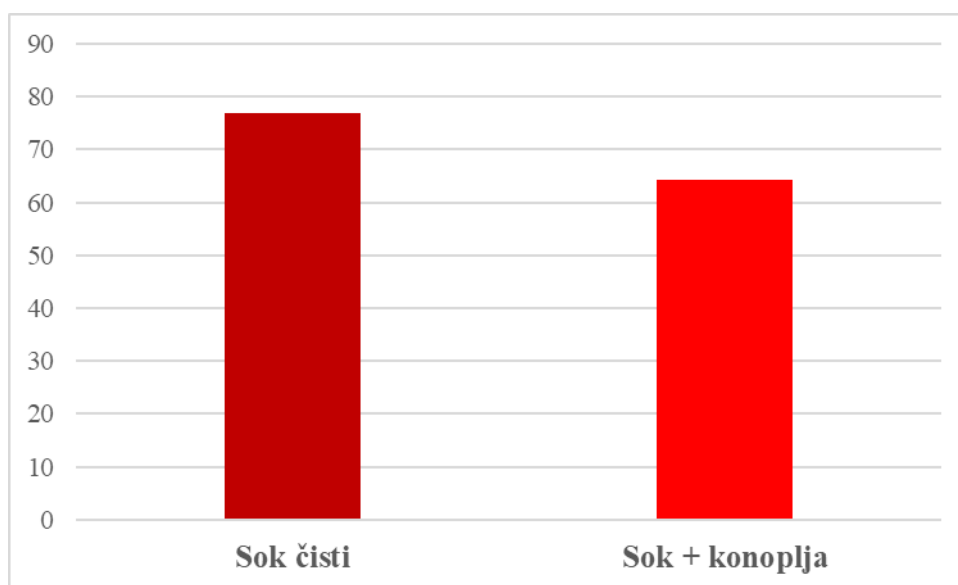
gdje je:  $A C(0)$  – absorbancija kontrole (otopina DPPH radikala) kod  $t = 0$  minuta;

$A A(t)$  – absorbancija reakcijske smjese nakon 1 h.<sup>18</sup>

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

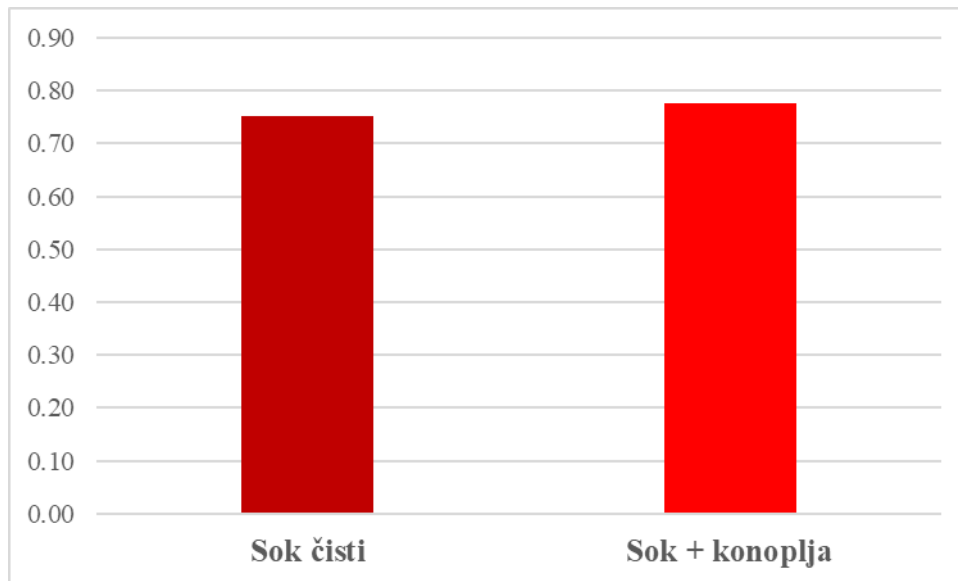
#### 3.1. Rezultati određivanja boje soka

Parametari boje soka od višnje određeni su spektrofotometrijski, a rezultati određivanja prikazani su na slikama 6-9. Iz grafičkih prikaza može se uočiti da je čisti matični sok imao najveću količinu boje (IB= 76,9), dok je nijansa boje bila veća u matičnom soku s dodatkom konoplje (NB= 0,78).

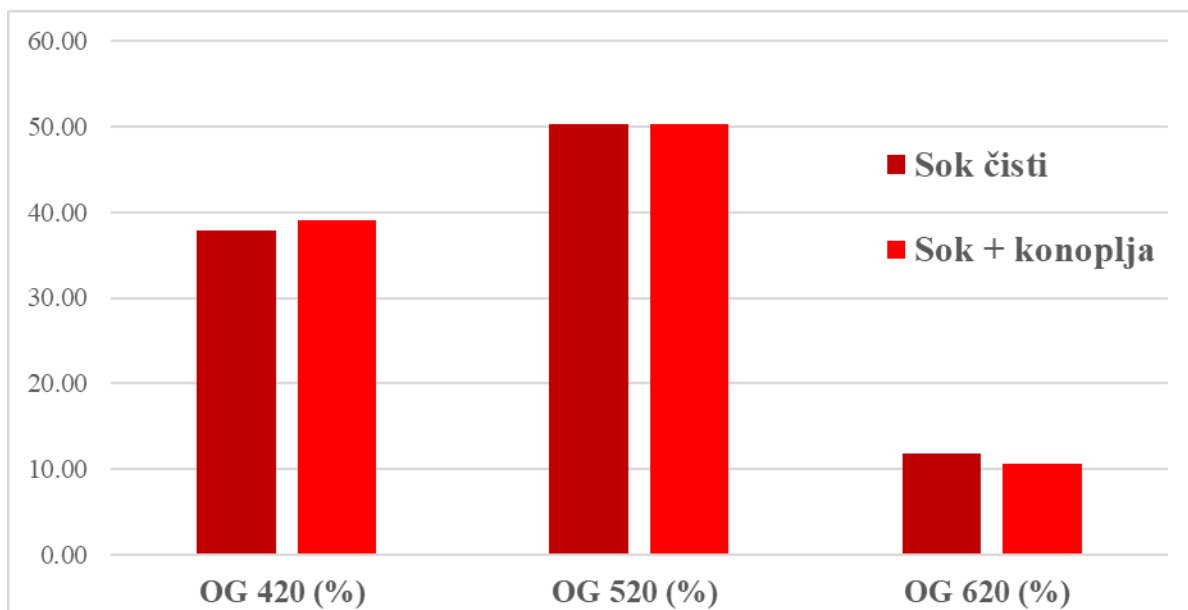


**Slika 6.** Rezultati određivanja intenziteta boje soka

Iz grafičkog prikaza optičke gustoće (Slika 8) pri različitim valnim duljinama, kao što je i očekivano, najveća OG (50%) potvrđena je pri valnoj duljini od 520 nm. Pri navedenoj valnoj duljini karakteristična je apsorpcija crvene boje, koja potječe od antocijana. Učešće plave boje (OG 620) bilo je najmanje (oko 10%) dok je udio žute boje (OG 420) bio nešto veći u soku s dodatkom konoplje. Ova mala razlika u udjelu žute boje je u korelaciji s većim vrijednostima nijanse boje soka s dodatkom konoplje obzirom da NB ukazuje na razvoj boje prema narančastoj nijansi što možemo pripisati ekstraktu industrijske konoplje.



Slika 7. Rezultati određivanja nijanse boje soka

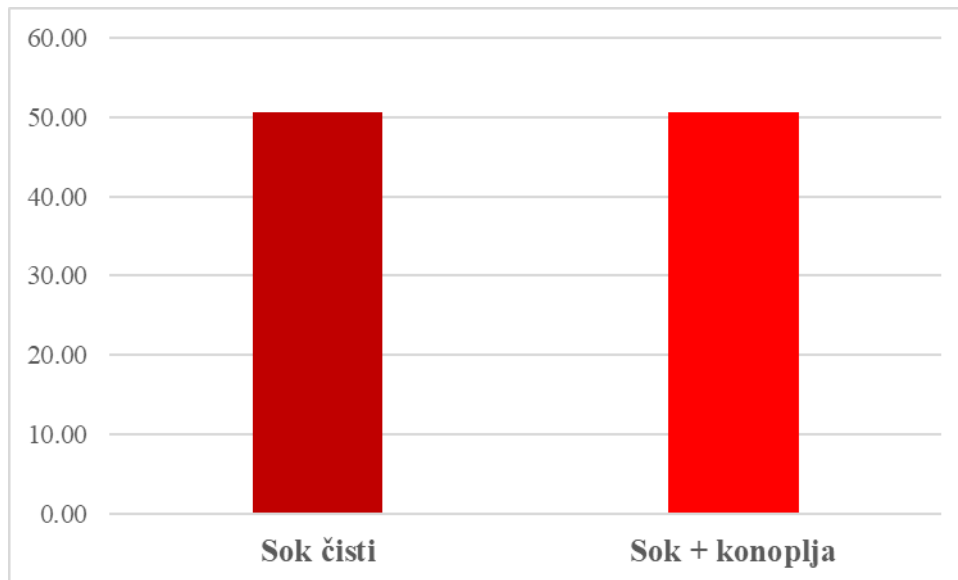


Slika 8. Rezultati određivanja optičke gustoće soka pri 420, 520 i 620 nm.

Udio crvene boje ili živahnost crvene nijanse (Slika 9) bila je gotovo jednaka u oba soka. U radu koji se bavio ispitivanjem utjecaja dodatka soka višnje na sastav i svojstva napitaka od lista masline u svrhu proizvodnje funkcionalnih napitaka također je provedena analiza boje CIELab metodom. Dobiveni parametri inteziteta boja (C - engl. *Chroma*, *Saturation*) i tona boje (H- (engl. *Hue angle*) bilu su nešto niži kod koncentriranog soka višnje u odnosu na napitak od lista masline i funkcionalnog napitka (napitak lista masline + koncentrat soka od višnje).<sup>22</sup>



Vrijednosti parametra L\* (mjera svjetlosti) bili su najmanji za koncentrirani sok od višnje obzirom da je on bio najtamnije obojen, što je u korelaciji s smanjenim vizualnim doživljajem crvene boje (H).<sup>23</sup>



**Slika 9.** Rezultati određivanja udjela crvene boje

### **3.2. Rezultati određivanja fenolnog sastava**

Rezultati određivanja fenolnog sastava prikazani su u tablici 3 i kao što je vidljivo postoji razlika u koncentracijama pojedinih fenolnih komponenti između uzoraka. Razlika u koncentraciji flavonoida nije značajna, no uočavamo da je u soku s dodatkom konoplje bio nešto manji udio neflavonoida, pa samima time i ukupnih fenola.

**Tablica 3.** Određivanje ukupnih fenola te koncentracije flavonoida, neflavonoida i antocijana.

| <b>Uzorak</b>         | <b>Ukupni fenoli<br/>(mg GAE/L)</b> | <b>Flavonoidi<br/>(mg GAE/L)</b> | <b>Neflavonoidi<br/>(mg GAE/L)</b> | <b>Antocijani<br/>(mg cijanidina /L).</b> |
|-----------------------|-------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|---|
| <b>Sok čisti</b>      | 5630,6±124,81                       | 2802,8                           | 2827,8±60,72                       | 2858,3±35,36                              |
| <b>Sok + konoplja</b> | 5486,1±87,53                        | 2886,1                           | 2600,0±66,14                       | 2352,6±7,07                               |

Udio ukupnih antocijana, određen metodom izbjeljivanja sa bisulfitom, također je bio veći u čistom matičnom soku. Brojne studije su pokazale da je sok od višnje bogat fenolima, osobito antocijanima.<sup>13,15,22,24</sup> Ferretti i sur. (2010) su u svom radu istaknuli udio fenola u soku u količini od 188,4-203,4 µg/mL, od čega su velik dio činili flavonoidi od 139,7-158,6 µg/ml.<sup>9</sup> Repaić i sur. (2015) u svojem istraživanju fenolnog sastava koncentriranog soka od višnje neposredno nakon proizvodnje, također ističu bogat udio ukupni fenoli od 17,9 mg GAE/g.<sup>15</sup> Zrinjan (2018) u svom završnom radu kojem je tema bila utjecaj dodatka soka od višnje na sastav i svojstva napitka od lista masline (funkcionalni napitak), ističe kako dodavanjem veće količine soka od višnje u napitak dolazi do povećava koncentracija ukupnih fenola. Udio ukupnih fenola u koncentriranom soku od višnje iznosio je 5,05 mg/mL, u napitku od lista masline 0,12 mg/mL, a u funkcionalnom napitku se kretao od 0,39-0,97 mg/mL. Ono što treba naglasiti da je dodatak koncentriranog soka od višnje bio jako mali, svega 2-8% na ukupnu količinu napitka.<sup>22</sup>

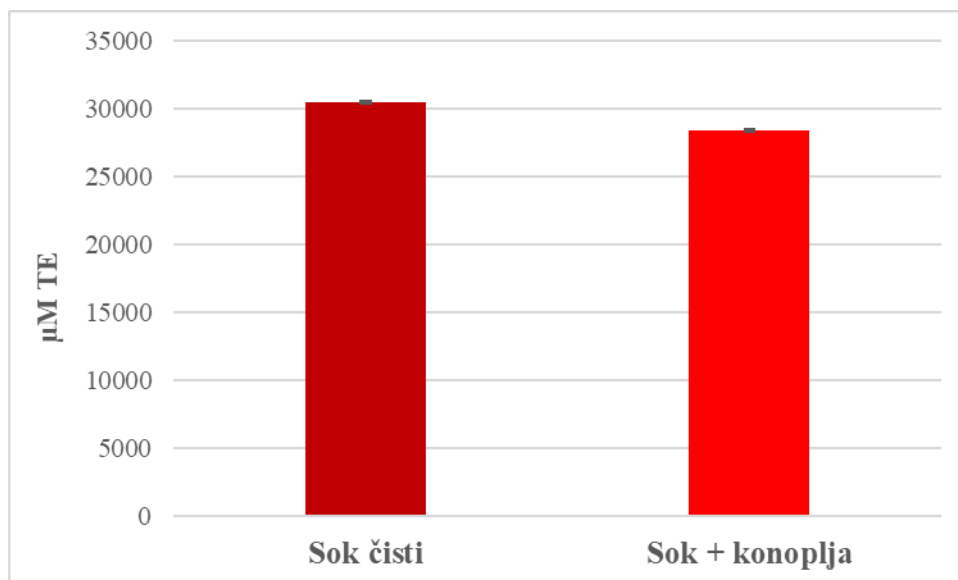
Još jedan rad se bavio istraživanjem sadržaja fenola u soka od višnje s dodacima šećera (glukoza i saharoza) i rezultati ukazuju na manji udio ukupnih fenola u čistom soku (1222,3 µg GAE/L) u odnosu na sok s dodacima (1275,2-1350,8 µg GAE/L), dok je udio antocijana bio veći u čistom soku.<sup>13</sup>

### **3.3. Rezultati određivanja antioksidacijske aktivnosti**

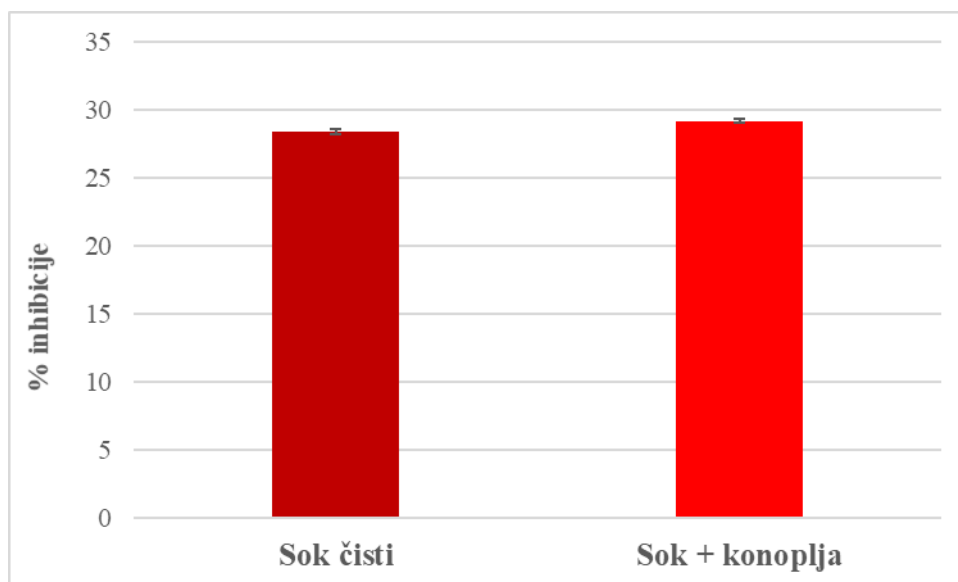
Redukcijska snaga, određena FRAP metodom, prikazana je na slici 10 i za uzorak čistog soka iznosila je 30487.18 µM TE, a za uzorak s dodatkom konoplje iznosi 28410.26 µM TE.

Za određivanje antioksidacijske aktivnosti uzoraka DPPH metodom korišteni su uzorci razrijeđeni 100 puta, a dobiveni rezultati izraženi su u vidu % inhibicije sintetskog DPPH radikala (Slika 11).

Redukcijska snaga ispitivanih sokova se malo razlikovala, ali ipak je sok s dodatkom konoplje imao nešto veći postotak inhibicije DPPH radikala (29.2%) u odnosu na čisti sok od višnje (28,4%).



**Slika 10.** Usporedni prikaz rezultata određivanja antioksidacijske aktivnosti FRAP metodom u soku od višnje i soku od višnje s dodatkom konoplje



**Slika 11.** Usporedni prikaz rezultata određivanja antioksidacijske aktivnosti DPPH metodom u soku od višnje i soku od višnje s dodatkom konoplje (standardna devijacija)

Antioksidacijski potencijal soka od višnje, bilo čistog, koncentriranog ili s dodacima pokazali su i drugi autori u svojim radovima.<sup>13,14,15,22,25</sup> Kušt (2014) je također određivao antioksidacijski kapacitet koncentriranog soka višnje Maraske neposredno nakon procesa koncentriranja i FRAP vrijednosti koje ovaj autor navodi iznosile su 0,12 mmol TE/mL, dok Zrinjan (2018) u svom završnom radu u koncentriranom soku od višnje dobiva FRAP vrijednosti od 6,3  $\mu$ mol/mL.<sup>22,25</sup>

Posebno je interesantan rad Barbarića (2015) koji ističe kako je čisti sok od višnje imao bolju redukcijsku snagu određenu FRAP metodom u odnosu na sok s dodacima šećera, dok je DPPH metodom sposobnost inhibicije bila veća kod sokova s dodacima u odnosu na čisti koncentrirani sok od višnje, što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu.<sup>13</sup>

## 4. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata i provedene rasprave može se zaključiti:

- Sok višnje obogaćen ekstraktom konoplje ima manji udio fenolnih komponenti od čistog soka, ali ne i manji antioksidacijski potencijal.
- Udio ukupnih fenola i antocijana bio je veći u čistom matičnom soku u odnosu na sok s dodatkom konoplje.
- FRAP metodom je dokazano da čisti sok višnje ima bolju redukcijsku snagu, dok je antioksidacijski kapacitet bio nešto bolji kod soka obogaćenog ekstraktom konoplje.
- Dobiveni rezultati ukazuju da su matični sok višnje Maraske i sok s dodatkom konoplje bogat izvor fenola te da imaju jak antioksidacijski potencijal.

## 5. LITERATURA

1. URL: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%A1nja> (pristupljeno: 16.9.2020)
2. Kanjer P. Fizikalno kemijska svojstva i fenolni sastav višnje i višnje Maraske tijekom zrenja (diplomski rad). Zagreb, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2007.
3. URL: [http://pinova.hr/hr\\_HR/baza-znanja/vocarstvo/vocne-vrste/visnja](http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/vocarstvo/vocne-vrste/visnja) (pristupljeno:1.9.2020)
4. URL: <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/visnja-34/> (pristupljeno :1.9.2020)
5. URL: [http://wikipedia.org/wiki/Sour\\_Cherry](http://wikipedia.org/wiki/Sour_Cherry) (pristupljeno :1.9.2020)
6. URL: [http://www.opcina-starigrad.hr/HTML/Uzgoj\\_visnje.html](http://www.opcina-starigrad.hr/HTML/Uzgoj_visnje.html) (pristupljeno:24.8.2020)
7. URL: <https://www.agroportal.hr/vocarstvo/25410> (pristupljeno: 3.8.2020)
8. Vučković M. Fizikalno – kemijski sastav i obilježja plodova višnje maraske (*Prunus cerasus* var. *marasca*) (završni rad). Knin, Hrvatska: Veleučilište "Marko Marulić" u Kninu; 2014.
9. Ferretti G, Bacchetti T, Belleggia A, Neri D. Cherry antioxidants: from farm to table. *Molecules*. 2010; 15(10): 6993-7005. doi: 10.3390/molecules15106993. PMID: 20944519; PMCID: PMC6259571.
10. Shahidi F, Naczki M. Phenolic in Food and Nutriaceuticals; CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2004.
11. Dobričević S, Žlabur N, Priručnik za vježbe iz modula Prerada voća i povrća, Zagreb, Agronomski fakultet; 2007: 20-36.
12. Kim DO, Heo HJ, Kim YJ, Yang HS, Lee CY. Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. *J Agric Food Chem*. 2005; 53(26): 9921-7. doi: 10.1021/jf0518599. PMID: 16366675.
13. Barbarić B. Utjecaj dodatka glukoze i saharoze na udio fenola i antocijana u soku od višnje, (završni rad). Osijek, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2015.
14. URL: <https://www.adiva.hr/nutricionizam/dodaci-prehrani-nutricionizam/o-njima-se-govori-na-svakom-koraku-sto-su-zapravo-antioksidansi/> (pristupljeno :3.8.2020)
15. Repajić M, Bursać Kovačević D, Putnik P, Dragović-Uzelac V, Kušt J, Čošić Z, Levaj B. Influence of cultivar and industrial processing on polyphenols in concentrated sour cherry (*Prunus cerasus* L.) juice. *Food Technol. Biotechnol* 2015; 53(2): 215–222.
16. URL: <https://www.hekanatura.hr/razlika-izmedu-soka-proizvedenog-iz-maticnog-soka-i-koncentrata/> (pristupljeno:1.8.2020)

17. URL: <https://www.tehnologijahrane.com/knjiga/prerada-voca-2#toc-iv-bezalkoholni-vonisokovi>(pristupljeno:27.7.2020)
18. Amerine MA, Ough CS. Methods for analysis of musts and wines, Pub J Wiley & Sons, 1980;181-200.
19. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phospho-molybdic-phosphotungstic acid reagents, Am J Enol Vitic 16, 1965.; 144-158.
20. Benzie, IFF, Strain, JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measurement of antioxidant power: The Frap assay. Anal Biochem. 1996; 239, 70-76.
21. Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*)  $\alpha$ -tocopherol, and BHA. J Agric Food Chem. 1997; 45: 632- 638.
22. Zrinjan A. Utjecaj dodatka soka višnje na sastav i svojstva napitka od lista masline (završni rad), Zagreb, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet; 2018.
23. Trtinjak I. Utjecaj dodatka disaharida na udio fenola i antocijana u liofiliziranim kašama višnje (diplomski rad). Osijek, Hrvatska: Prehrambeno biotehnološki fakultet u Osijeku, 2008.
24. Sokół-Łętowska A, Kucharska AZ, Szumny A, Wińska K, Nawirska-Olszańska A. Phenolic composition stability and antioxidant activity of sour cherry liqueurs. Molecules. 2018; 23(9): 2156.
25. Kušt J. Utjecaj sorte i procesa proizvodnje na parametre kvalitete i biološki aktivne spojeve soka višnje (diplomski rad). Zagreb, Hrvatska: Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu; 2014.