

Utjecaj načina hlađenja te sastava atmosfere na antioksidacijski kapacitet zapakiranih plodova malina tijekom skladištenja

Kordić, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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:159:821714>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno - biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

Marija Kordić

6351/PT

**UTJECAJ NAČINA HLADNJA TE SASTAVA ATMOSFERE NA
ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITET ZAPAKIRANIH PLODOVA
MALINA TIJEKOM SKLADIŠTENJA**

ZAVRŠNI RAD

Modul: Kemija i tehnologija voća i povrća

Mentor: prof. dr. sc. Branka Levaj

Zagreb, 2015.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Završni rad

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

Utjecaj načina hlađenja te sastava atmosfere na antioksidacijski kapacitet zapakiranih plodova malina tijekom skladištenja

Marija Kordić

6351/PT

Sažetak: Cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj načina hlađenja te sastava atmosfere tijekom sedam dana skladištenja pri tri temperature na antioksidacijski kapacitet ploda maline.

Ispitivan je način hlađenja vakuumom i konvencionalno hlađenje u hladnjaku. Skladištenje se provodilo na tri temperature: 1°C, 5°C i 10°C, nakon čega su uzorci zapakirani u vrećice s normalnom atmosferom i modificiranom atmosferom, te čuvani na istim temperaturama i analizirani prvi, četvrti i sedmi dan. Antioksidacijski kapacitet određen je DPPH metodom. Rezultati su pokazali kako modificirana atmosfera pozitivno utječe na očuvanje antioksidacijskog kapaciteta. Viši antioksidacijski kapacitet pokazuju maline čuvane na 5°C i 10°C nego na 0°C.

Ključne riječi: maline, skladištenje, hlađenje, modificirana atmosfera, antioksidacijski kapacitet, DPPH

Rad sadrži: 27 stranica, 7 slika, 5 tablica, 26 literaturnih navoda, 0 priloga

Izvorni jezik: hrvatski

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

Mentor: *prof.dr.sc. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: Sanja Lončarić, mag.ing.

Rad predan: Rujan, 2015

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory of Food Preserving and Fruit and Vegetable Processing

Effect of way of cooling and atmosphere composition on the antioxidant capacity of packed raspberries during storage

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of way of cooling and composition of the atmosphere on the antioxidant capacity of raspberry during seven days of storage. Vacuum cooling and normal cooling in the refrigerator was used. Cooling is carried out at three temperatures: 1 °C, 5 °C and 10 °C, after which the samples were packed in bags with ambient atmosphere and MAP, and stored and analyzed in the first, fourth and seventh day. Antioxidant capacity was determined by DPPH method. The results showed that the modified atmosphere has a positive effect on the preservation of antioxidant capacity. The higher antioxidant capacity showed raspberry stored at 5 °C and 10 °C than at 0 °C.

Keywords: raspberries, storage, cooling, modified atmosphere, antioxidant capacity, DPPH

Thesis contains: 27 pages, 7 pictures, 5 tables, 26 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the faculty of Food Technology and Biotechnology, Kal'ileva 23, Zagreb

Mentor: *PhD. Branka Levaj, Full Professor*

Technical support and assistance: *Sanja Lončarić, mag.ing*

Thesis delivered: Rujan, 2015

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Malina	2
2.2. Botaničke karakteristike	4
2.3. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost maline	6
2.4. Antioksidansi	8
2.5. Hlađenje:.....	10
2.6. Modificirana atmosfera (MA):	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Materijal.....	13
3.2. Priprema uzoraka - Hlađenje, pakiranje i luvanje uzoraka.....	13
3.3. Metoda rada.....	15
3.3.1. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom	15
4. REZULTATI.....	18
4.1. Rezultati antioksidacijskog kapaciteta.....	18
5. RASPRAVA	21
6. ZAKLJUČAK	24
7. LITERATURA.....	25

1. UVOD

Maline su dobar izvor prirodnih antioksidanasa, bogate su vitaminima i mineralnim tvarima, te antocijanima, flavonoidima i fenolnim kiselinama. Zbog ugodne arome i okusa te velike biološke, a male energetske vrijednosti, malina ima široku primjenu u ljudskoj prehrani, a posjeduje i određena ljekovita svojstva. Plodovi se mogu koristiti u svježem, smrznutom ili prerađenom stanju.

Antioksidansi su skupina različitih prirodnih spojeva koji u organizmu čovjeka igraju važnu ulogu zaštite od štetnog djelovanja slobodnih radikala. Slobodni radikali su nestabilne i jako reaktivne molekule zato što imaju jedan ili više nesparenih elektrona. Dokazano je da antioksidansi imaju pozitivian učinak na zdravlje čovjeka tako što inhibiraju razvoj degenerativnih bolesti (Alzheimer, artritis itd.), smanjuju rizik od nastanka raka, usporavaju procese starenja, a imaju i brojne druge pozitivne učinke. U malinama su najzastupljeniji antioksidansi koji pripadaju skupini fenolnih spojeva.

Hlađenje je najbrže i najjeftinije primjenjivana metoda kratkotrajnog konzerviranja za razne vrste namirnica. Hlađenje (eng. chilling, cooling) je postupak konzerviranja namirnica držanjem na temperaturi od (najjeftinije) 4 do 6°C. Ovom metodom se najmanje mijenjaju izvorna svojstva namirnice. Provodi se do temperatura koje predstavljaju temperaturu smrzavanja staničnog soka namirnice. Izbor najprikladnijeg načina hlađenja ovisi o vrsti namirnice, brzini kojom se želi provesti hlađenje, temperaturi i trajanju čuvanja odnosno transporta.

Poznato je da se mnogi antioksidansi hrane značajno gube tijekom procesiranja hrane (sterilizacije, pasterizacije, dehidratacije), ali i tijekom skladištenja te rukovanjem hrane kod kuće kuhanjem. U ovom radu ispitati će se kako način hlađenja i sastav atmosfere utječu na antioksidacijski kapacitet maline tijekom skladištenja 7 dana pri tri temperature (1,5 i 10°C).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Malina

Malina (*Rubus* sp.) je višegodišnja biljka koja pripada skupini bobil'astog voća. Bobil'asto voće se konzumira zbog svoje atraktivne boje i posebnog okusa, a smatra se jednim od najbogatijih izvora prirodnih antioksidansa (Manganaris i sur., 2013.). Ustanovljeno je da je antioksidativna aktivnost maline za 50% veća od antioksidativne aktivnosti jagode, 10 puta veća od rajčice i 3 puta veća od kivija (Beekwilder i sur., 2005.).

Botanička klasifikacija maline (USDA, 2015.) :

Carstvo: *Plantae*

Odjeljak: *Spermatophyta* (sjemene)

Pododjeljak: *Angiosperme* (golosjemenjače)

Divizija: *Magnoliophyta* (cvjetnice)

Razred: *Magnoliopsida* (dikotiledoni)

Red: *Rosales*

Porodica: *Rosaceae* (ruže)

Potporodica: *Rosoideae*

Rod: *Rubus* L.

Vrsta: *Rubus idaeus* L (Američka crvena malina)



Slika 1: Malina

Povijest uzgoja

Malina se spominje još u kameno i bronzano doba. Potjele iz Sjeverne Azije i Istočne Europe. Vjeruje se da je prvo pronađena na planini Ida u Grčkoj, tako su joj Rimljani dali i ime *Idaeus* što u prijevodu znači "sa planine Ida". U vrijeme Rimljana i Grka upotrebljavana je kao lijek. Smatra se da su upravo Rimljani zaslužni za njeno pojavljivanje u Europi.

Maline su se masovno počele uzgajati u XIX stoljeću, kada su se planskom selekcijom i hibridizacijom izdvojile i stvorile visokoproduktivne i visokokvalitetne sorte. U XX stoljeću dogodila se masovna proizvodnja kultiviranih sorti (Vollweiler, 2005). Kultivirane sorte, uglavnom potječu od europske crvene maline (*R. idaeus vulgatus* Arrh.), američke crvene maline (*R. idaeobatus strigosus* Michx.) i crne maline (*R. idaeobatus occidentalis*) (Pritts, 2003.).

Vrste:

Do danas je poznato 195 vrsta malina, među kojima su najvažnije:

Europska malina (*Rubus idaeobatus idaeus* L., sin., *R. idaeus* L., *R. idaeus vulgatus* Arrh.; $2n=14$), rasprostranjena u Europi i Aziji.

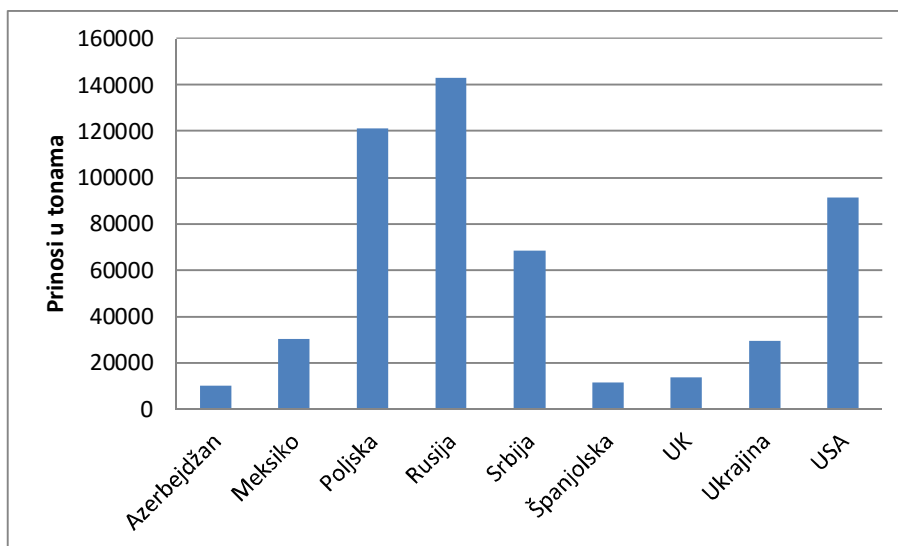
Crvena malina (*R. idaeus strigosus* Michx.-Michx., sin. *R. idaeus* L., *R. Idaeus* var. *Strigosus* Maxim., *R. idaeus* subsp. *Strigosus* Focke; $2n=14$), rasprostranjena u Sjevernoj Americi i Aziji.

Crna malina (*R. Idaeus occidentalis* L.), rasprostranjena u Sjevernoj Americi.

Ljubičasta malina (*Rubus idaeus* ssp. *Neglectus* Peck), rasprostranjena u Sjevernoj Americi, prirodni je hibrid između *R. strigosus* i *R. occidentalis* (Vollweiler, 2005).

Svjetska proizvodnja malina

Prema podacima FAOSTAT-a za 2013. godinu, najveći svjetski proizvođač malina je Rusija s proizvedenih 143 000 t, zatim Poljska sa 121 040 t, Sjedinjene Američke Države sa 91 300 t, Srbija sa 68 458 t, Meksiko 30 411 t, Ukrajina 29 500 t, Španjolska 11 700 t, Azerbejdžan 10 000 t. To je prikazano u grafu ispod. Hrvatska je prema FAOSTAT-u 2013. godine imala proizvodnju približno 1000 t maline.



Slika 2: Najveći proizvođači malina u 2013. godini

2.2. Botaničke karakteristike

Malina je zeljasta biljka niskog rasta. Rodi odmah poslije sadnje, a punu rodnost doseže u trećoj godini. Može rađati jednom ili više puta godišnje. Živi u prosjeku 8-14 godina, a doseže starost i do 20 godina. Sadni materijal malina može se razvrstati u tri kvalitetne grupe: elitnu, specijalnu i standardnu. Sadi se od listopada do travnja zrelim sadnicama, a u lipnju zelenim. Najbolje joj odgovara nadmorska visina od 400-800 m. Podnosi niske zimske temperature do -26 °C. Ona ne ponosi jako suhe i tople predjele. Malina se lako i brzo razmnožava i svake godine rodi. Donosi rod već prve godine po sadnji a već u trećoj godini može dati prinos i do 10.000-15.000 kg/ha.

Dozrijeva krajem lipnja ili 25-30 dana od početka cvjetanja. Beru se kada je plod dobio karakterističnu boju sorte, lako se odvaja od lože i ne gnječi se. Treba ju brati svakog drugog ili trećeg dana, jer se time povećava prinos i to ujutro za vrijeme hladovine ili za oblačna vremena (Vollčević, 2005).

2.3. Kemijski sastav i nutritivna vrijednost maline

Prema istraživanjima bobičasto voće, zbog količine prisutnih antioksidansa, vitamina, minerala, vlakana i drugih prisutnih fiziološki aktivnih tvari, značajno utječe na održavanje zdravlja. Kemijski sastav bobica ima veliki utjecaj na njihov izgled boju, miris te okus. Ova vrsta voća ima sladak okus, voćni miris, te mekanu i sočnu konzistenciju. Kemijski sastav ploda svake sorte je uvelike pod utjecajem okolišnih čimbenika, zrelosti i uvjetima skladištenja (Castrejon, 2008., Giovanelli, Buratti 2009., Bobina i sur, 2012.).

Kao i drugo svježe voće malina sadrži najviše vode koje ima 85,75%, zatim šećera 4,42 g (USDA, 2015). Vrijedan je izvor prehrambenih vlakana kojih sadrži 6,5 g/100 g maline. Energetska vrijednost joj je 52 kcal/100g, što je jako nisko.

Tablica 1: Kemijski sastav u 100 g svježeg ploda maline (USDA, 2015)

Sastav	Jedinica	Vrijednost u 100g
Voda	g	85,75
Energija	kcal	52
Proteini	g	1,20
Ukupni lipidi	g	0,65
Ugljikohidrati	g	11,94
Vlakno	g	6,5
Šećeri	g	4,42

Maline su dobar izvor vitamina, pogotovo vitamina C (100g malina može osigurati 50% potrebnog dnevnog unosa vitamina C) (Haffner i sur., 2002., Pantelidis i sur., 2007). Prosječan sastav vitamina svježeg ploda maline prikazan je u tablici 2.

Tablica 2: Sastav vitamina svježeg ploda maline (USDA, 2015)

VITAMINI	Jedinica	Vrijednost u 100g
Vitamin C	mg	26,2
Tiamin	mg	0,032
Riboflavin	mg	0,038
Niacin	mg	0,598
Vitamin B6	mg	0,055
Folat, DFE	µg	21
Vitamin B12	µg	0,00
Vitamin A, RAE	µg	2
Vitamin A IU	IU	33
Vitamin E	mg	0,87
Vitamin D(D2+D3)	µg	0,0
Vitamin D	IU	0
Vitamin K	µg	7,8

Prema USDA podacima za mineralni sastav, malina je najbogatija kalijem, također je bogata kalcijem, magnezijem, željezom (tablica 3).

Tablica 3. Mineralni sastav svježeg ploda maline (USDA, 2015.)

MINERALI	Jedinica	Vrijednost u 100g
Kalcij, Ca	Mg	25
Željezo, Fe	Mg	0,69
Magnezij, Mg	Mg	22
Fosfor, P	Mg	29
Kalij, K	Mg	151
Natrij, Na	Mg	1
Cink, Zn	Mg	0,42

2.4. Antioksidansi

Antioksidansi su spojevi koji u biološkim sustavima neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala, nabijenih molekula koje u vanjskoj ljusci imaju jedan ili više nesparenih elektrona, zbog čega su jako reaktivni pa u teži da postignu stabilnu konfiguraciju narušavaju stabilnost drugih molekula (Percival, 1998). Tvari kao što su vitamin C, E, karotenoidi, fenolni spojevi, estrogene biljnog podrijetla imaju antioksidativnu sposobnost (Gey i sur., 1991., Ziegler, 1991., Gaziano i sur., 1992).

Antioksidacijski spojevi u hrani imaju važnu ulogu prilikom zaštite zdravlja. Znanstveni dokazi upućuju na to da antioksidansi smanjuju rizik od bolesti kao što su tumori i srčane bolesti (Prakash i sur., 2011), pa je poželjno unositi antioksidanse hranom.

Maline su odličan izvor prirodnih antioksidansa, polifenolnih spojeva te obiluju i imaju jedinstven sadržaj elagitanina i antocijana što ih razlikuje od ostalih vrsta bobastiog voća (Kähkönen i sur, 2001). Elagitanini su odgovorni za 58% antioksidativnog kapaciteta maline (Bobinaite i sur, 2012).

Polifenolni spojevi su najvažnija grupa sekundarnih biljnih metabolita, široko rasprostranjeni u biljkama, sjemenkama, povrću i mezikarpu voća i povrća, kori drveća, lišću i cvijeću te hitaricama. Karakterizira ih prisutnost više fenolnih jedinica. Do danas je poznato više od 8000 različitih struktura fenolnih spojeva, a prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na flavonoide i fenolne kiseline (Pandey i Rizvi, 2009). Polifenolni spojevi malina značajno pridonose ukupnom antioksidacijskom kapacitetu što je u organizmu izraženo kao antiupalno, antialergijsko te antikancerogeno djelovanje (Jakobek i sur, 2008).

Antocijani pripadaju grupi spojeva poznatih pod nazivom flavonoidi (McGhie, Walton 2007). Obuhvaćaju grupu od preko 500 različitih spojeva koja su odgovorna za crvenu, ljubičastu i plavu boju mnogih biljaka a posebno voća, povrća i hitarica. U prirodi je poznato šest osnovnih struktura antocijana: pelargonidin, cijanidin, delphinidin, peonidin, petunidin i malvidin, a razlikuju se po broju i vrsti supstituenata na postraničnom benzenskom prstenu što utječe i na razlike u boji (Belitz i sur. 2004).

Za određivanje antioksidacijskog kapaciteta razvijen je velik broj metoda koje se temelje na različitim mehanizmima djelovanja obrambenog sustava antioksidansa, poput uklanjanja ili inhibicije slobodnih radikala.

Jedna od najpoznatijih metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti koja je korištena u ovom radu je:

DPPH (radikal 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil-1-hidrata slobodnih radikala) metoda. To je brza, jednostavna i jeftina metoda koja se koristi za mjerenje ukupnog antioksidacijskog kapaciteta. Temelji na sposobnosti ekstrakta da smanji aktivnost DPPH radikala pri čemu dolazi do sparivanja nesparenog elektrona. Reakcija se očita promjenom boje iz ljubičaste u nutu, što je popraćeno padom apsorpcije pri 517 nm (Prakash i sur., 2001).

Utjecaj uvjeta skladištenja na prisutnost antioksidansa u malinama

Maline su lako kvarljivo voće, što je izraženo truljenjem, gubitkom tvrdosti i tamnjenjem boje. Zbog toga se treba skladištiti pri niskim temperaturama. Nekoliko je studija pokazalo da uz niske temperature, primjena kontrolirane ili modificirane atmosfere također može produžiti rok valjanosti crvenih malina (Mölder i sur, 2010)

U istraživanju u kojem su maline skladištene na 0, 10, 20 i 30°C kroz 8 dana kako bi se odredio utjecaj temperature skladištenja na antioksidacijsku aktivnost dokazano je povećanje antioksidacijskog kapaciteta pri temperaturama većim od 0°C i s prolaskom više vremena skladištenja, što je također bilo popraćeno povećanjem koncentracije ukupnih fenola i antocijana (Klat i sur, 1999).

2.5. Hlađenje:

Hlađenje je nužan postupak prilikom procesa proizvodnje gdje su sirovine lako kvarljive namirnice kao što su: jagodasto, bobilaasto voće itd. Sniženjem temperature usporavaju se kemijske promjene u namirnicama, bilo da su posljedica aktivnosti autohtonih enzima ili drugih kemijskih agensa, bilo da nastaju djelovanjem mikroorganizama. Poznato je da se sniženjem temperature za 10°C veća kemijskih i biokemijskih reakcija usporava za 2 do 3 puta. Prema tome, usporavaju se metabolizam živih tkiva, odnosno različiti procesi kao što je npr. dozrijevanje voća, kao i procesi katalizirani enzimima u mrtvim tkivima, te smanjuje aktivnost i rast mikroorganizama. Konzerviranje hlađenjem se realizira na temperaturama do iznad točke smrzavanja staničnog soka. Izbor (optimalne) temperature hlađenog skladištenja vrši se prema vrsti namirnice (kod voća i prema sorti), eventualno prema fiziološkom stanju i svojstvima, namjeni i roku uporabe. U pravilu potrebno je provesti ohlađivanje pokvarljivih namirnica što brže na odgovarajuću temperaturu i održavati (po potrebi) tu temperaturu tijekom transporta, skladištenja i prodaje do krajnje upotrebe. Osim temperature važno je tokom hlađenja održavati i određenu relativnu vlažnost zraka. Ukoliko je relativna vlažnost atmosfere u kojoj se nalazi namirnica niska dolazi do dehidracije, gubitka na težini, smeđuranja i slično. Suviše visoka relativna vlažnost pogoduje razvitku plijesni i drugih mikroorganizama. Najčešće se primjenjuje relativna vlažnost zraka između 85 i 95 %.

Daljnje povećanje trajnosti nekih namirnica može se postići hlađenim skladištenjem u kontroliranoj atmosferi, tj. u atmosferi sa sniženom koncentracijom kisika i povećanom koncentracijom CO₂ u odnosu na zrak.

Kod voća i povrća često se primjenjuje tzv. predhlađenje, kako bi se postigla veća trajnost prilikom transporta i manipulacije, te izbjegla fluktuacija temperature kod unošenja u rashladne komore. Predhlađenje se ostvaruje strujom hladnog zraka, prskanjem ili uranjanjem u hladnu vodu, suhim ledom ili kratkotrajnom primjenom vakuuma (Jačič, 2010).

Vakuum hlađenje:

Princip vakuum hlađenja se temelji na brzom isparavanju vlage sa površine i unutrašnje strane proizvoda. Kad voda ispari, proizvod treba apsorbirati toplinu kako bi održali visoku razinu energije u molekularnom kretanju u plinovitoj fazi. Količina potrebne energije naziva se latentna toplota. Zbog oslobađanja latentne topline isparavanja, temperatura namirnice pada

Temperatura pri kojoj voda počinje isparavati izravno ovisi o okolnom tlaku pare. Na atmosferskom tlaku od 1atm, voda isparava na 100°C, ali voda može isparavati na nižoj temperaturi kada se tlak smanji ispod 1atm (Sun i Zheng, 2006).

Prednosti

Vakuum hlađenje ima nekoliko prednosti. Proizvodi mogu biti ohlađeni u veoma kratkom vremenu. Zbog brzine hlađenja, vakuum hlađenje donosi mnogo dodatnih prednosti, dolazi do povećanja trajnosti, smanjenja potrošnje energije, smanjenja mikrobiološkog rasta za kuhano meso. Brzina vakuum hlađenja ne ovisi o veličini proizvoda nego o poroznosti, što čini vakuum prikladan za velike količine proizvoda. Osim toga, vakuum hlađenje je higijenski povoljnije, budući da zrak ulazi u vakuum komoru na kraju procesa. Također, moguća je precizna kontrola temperature prilikom vakuum hlađenja

Mane

Unatoč navedenim izvrsnim prednostima, vakuum hlađenje također ima svoje nedostatke. Vakuum hlađenje je vrlo specifičan proces, koji je primjenjiv samo na vlažnim proizvodima s poroznom strukturom. Budući da se vakuum hlađenje postiže samo kroz isparavanje vode, samo proizvodi koji sadrže slobodnu vodu se mogu hladiti vakuumom (Sun i Zheng, 2006).

2.6. Modificirana atmosfera (MA):

Kontrolirana ili modificirana atmosfera (CA, MA) su pojmovi koji se odnose na dodavanje ili uklanjanje plinova iz prostorija, spremnika za transport ili ambalaže manjih dimenzija, kojim se regulira razina kisika, ugljikovog dioksida, dušika, etilena, itd., kako bi se postigao sastav atmosfere različit od onoga u normalnoj atmosferi (zraku). Pojam modificirane atmosfere se koristi kada sastav atmosfere nije u potpunosti «kontroliran», na primjer pri pakiranju u plastične filmove, dok se pojmom kontrolirana atmosfera označava upravljanje i održavanje sastava plinova u određenim granicama koncentracije. Modificirana atmosfera se postiže sniženjem udjela kisika (O_2) i povećanjem udjela ugljikovog dioksida (CO_2) ili dušika (N_2) (Lovrić, 2003).

Modificirana atmosfera može se postići aktivno ili pasivno. Aktivna modifikacija podrazumjeva ubrizgavanje smjese plinova određenog sastava prije zatvaranja ambalaže. Pasivna modifikacija - može se postići procesom disanja voća ili povrća (Zagory i Kader, 1988.).

Prednosti korištenja modificirane atmosfere uključuju smanjeno disanje, proizvodnju etilena i osjetljivost na etilen; smanjenje omekšavanja proizvoda i promjene sastava, ublažavanje određenih fizioloških promjena i smanjuje propadanje (Kader, Zagory, Kerbel i Wang 1989).

Pakiranje u modificiranoj atmosferi (MA) je tehnološki postupak u kojem se neki prehrambeni proizvod omata nepropusnim, odnosno slabo propusnim (ambalažnim) materijalom (folijom), pri čemu je zrak zamijenjen odgovarajućom smjesom plinova, kako bi se produžila trajnost proizvoda. Uloga smjese plinova je u smanjenju intenziteta disanja, rasta mikroorganizama i usporavanju enzimske aktivnosti ovisno o vrsti proizvoda (Lovrić, 2003).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijal

Za istraživanje je upotrijebljena malina sorte Tullamen.

Za pakiranje maline korištene su vrećice (Dora-Pak d.o.o., Hrvatska) sastavljene od **dvoslojne folije**, odnosno poliamida, **PA**, (koji djeluje kao nepropusni materijal) i polietilena, **PE**, koji osigurava termozavarivanje vrećice (PE/PA vrećice).

Kao modificirana atmosfera je korištena mješavina plinova 20%CO₂/ 5%O₂/ 75%N₂ (MAP) u boci nabavljenoj od dobavljača Messer Croatia Plin d.o.o.

Masa malina u pakovini je bila 150g.

Tablica 4. Karakteristike vrećica korištenih za pakiranje ohlađene maline

(PA 20/PE 70):

Karakteristike	Prazne
Debljina ukupna (µm)	90
Dimenzije vrećice (mm)	225x250

3.2. Priprema uzoraka - Hlađenje, pakiranje i čuvanje uzoraka

Maline nisu prane prije hlađenja i pakiranja budući da su preosjetljive.

Hlađenje se provodilo na dva načina:

Hlađenje voća u vakuumu do 10°C, jer je za daljnje sniženje temperature bilo potrebno povećati vakuum što je izazivalo nepoželjnu dehidraciju plodova. Nakon hlađenja uzorci su zapakirani u vrećice s normalnom atmosferom i MAP-om, nakon čega su vrećice s voćem pohranjivane u iste hladnjake kao i konvencionalno ohlađeno voće.

Hlađenje u hladnjaku na temperaturu 1°C, 5°C i 10°C, nakon čega su uzorci zapakirani u vrećice s normalnom atmosferom i MAP-om. Kao kontrolni uzorak korišten je uzorak nezapakiranog voća izložen atmosferi okoline hladnjaka.

Pakiranje je provedeno u:

a) normalnoj atmosferi (zraku) ñ pasivna atmosfera (21%O₂/1%CO₂ (+Ar)/78%N₂);

b) modificiranoj atmosferi sastava 5%O₂/20%CO₂/75%N₂.

Pakiranje u modificiranoj atmosferi je provedeno u specijalnoj komori za pakiranje u MAP-u (DORADO, JUNIOR DIGIT) povezanoj s bocom s plinom odreĎenog sastava.

Skladištenje pripremljenih uzoraka provedeno je u hladnjacima pri temperaturama od 1°C, 5°C i 10°C tijekom 7 dana. Analize su provoĎene prvi, ñetvrti i sedmi dan.

Tablica 5. Plan istraĥivanja

Naĥin hlaĎenja	Sastav atmosfere	Temp. skladištenja (°C)	Dani analize (odreĎivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom) tijekom skladištenja		
Konvencionalno hlaĎenje-nezapak.	Zrak	1	1	4	7
		5			
		10			
Konvencionalno hlaĎenje (C)	Zrak	1			
		5			
		10			
	MA	1			
		5			
		10			
Vakuum hlaĎenje VC	Zrak	1			
		5			
		10			
	MA	1			
		5			
		10			

3.3. Metoda rada

3.3.1. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal zbog nesparenog elektrona postiže apsorpcijski maksimum u vidljivom dijelu spektra (517 nm) i ljubičaste je boje. Promjena ljubičaste boje u hitu posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa, stvarajući reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005; Braca i sur., 2001).

Aparatura i pribor:

1. Spektrofotometar (UV UNICAM HELIOS •)
2. Staklene kivete
3. Tehnička vaga Mettler (točnosti $\pm 0,01\text{g}$)
4. Analitička vaga Kern ABT 220-4M
5. Povratno hladilo
6. Tronožac
7. Plamenik
8. Azbestna mrežica
9. Erlenmeyerova tikvica sa žlifom volumena 250 mL
10. Filter papir
11. Stakleni lijevci
12. Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
13. Odmjerne tikvice, volumena 100 mL i 1 L
14. Menzura, volumena 200 mL i 1 L
15. Epruvete
16. Stalak za epruvete
17. Plastična latica za vaganje

Reagensi:

1. 0,5 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)

2. 100 % -tni metanol
3. Mravlja kiselina

Priprema reagensa

0,5 mM otopina DPPH

0,02 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) odvađa se u plastičnoj latici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tkvici od 100 mL.

Priprema ekstrakata

Od 2 g uzorka pripremi se 10 ml ekstrakta. Ekstrakcija se provodi u ultrazvučnoj kupelji koja je prethodno zagrijana na 50°C. Otapalo za ekstrakciju je 1 % otopina mravlje kiseline u 80 % metanolu. Dobiveni ekstrakt se centrifugira 10 minuta pri 5500 okretaja/min, dekantira i nadopuni do 10 ml otapalom za ekstrakciju. Dobiveni ekstrakt se skladišti do analize na -18°C u atmosferi inertnog plina.

Postupak određivanja

U epruvetu se otpipetira 2 mL ekstrakata, 2 mL metanola te 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbanacija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu.

Za svaki pojedini uzorak rađene su dvije paralele.

Izmjerene apsorbanacije nisu prelazile vrijednost 1,0 pa ekstrakte uzoraka nije bilo potrebno razrjeđivati. Poželjne vrijednosti apsorbanacije iznose od 0,1 do 0,9.

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 100 mL 0,02 M otopine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) iz koje se pripreme razrjeđenja u

koncentracijama 0, 25, 50, 100, 200 i 300 μ M na način da se u odmjerne tikvice volumena 50 mL redom otpipetira 0; 6,25; 125; 250; 500 i 750 μ L alikvot otopine troloxa te do oznake nadopuni 100%-tnim metanolom.

U epruvetu se otpipetira redom 200 μ L odgovarajuće otopine Troloxa, 3,8 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Sadržaj se promiješa i ostavi stajati 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

Izračunavanje

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije otopina Troloxa nacrtana se baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μ M) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati.

Na temelju dobivenih rezultata, jednačina pravca glasi:

$$Y = - 0,00123814 \times X + 1,2031$$

$$R^2 = 0,9965$$

Iz pripadajuće jednačine pravca izračunava se antioksidacijski kapacitet (X) ekstrakta na temelju izmjerenih apsorbancija određenih DPPH metodom.

gdje je:

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

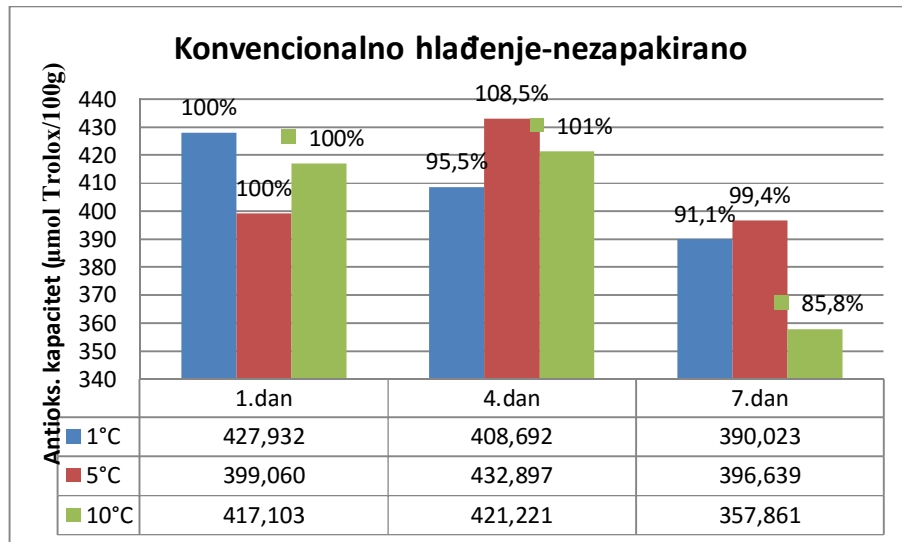
X = ekvivalent Troloxa (μ mol/L)

1,2031 = odsječak pravca na osi Y

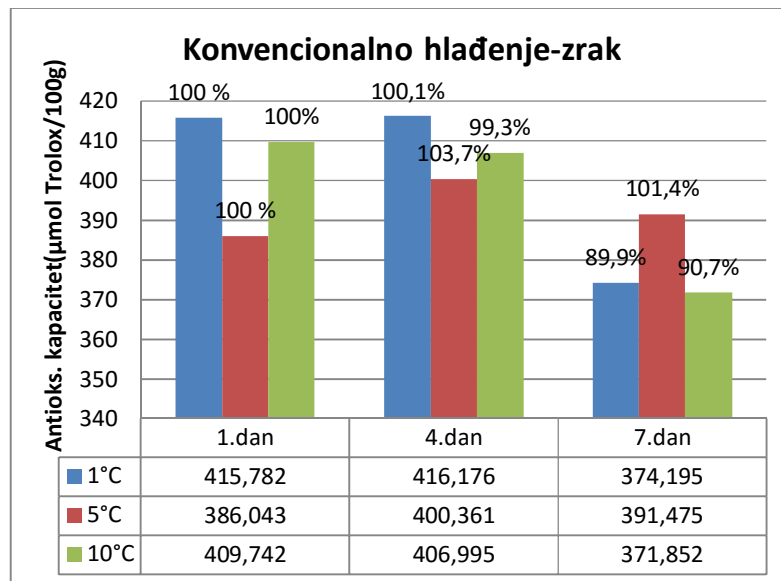
Antioksidacijska aktivnost uzorka μ mol Troloxa/100g uzorka preračunava se uzevši u obzir odvaguzorka i razrjeđenje.

4. REZULTATI

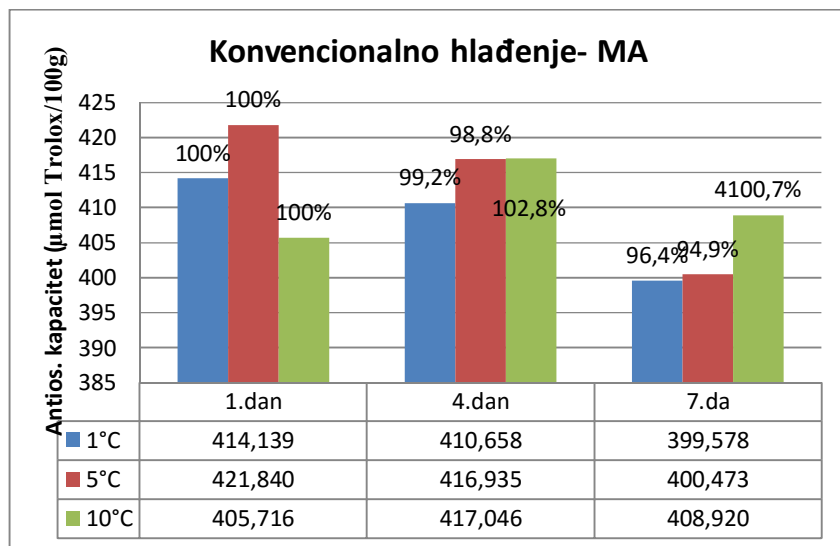
4.1. Rezultati antioksidacijskog kapaciteta



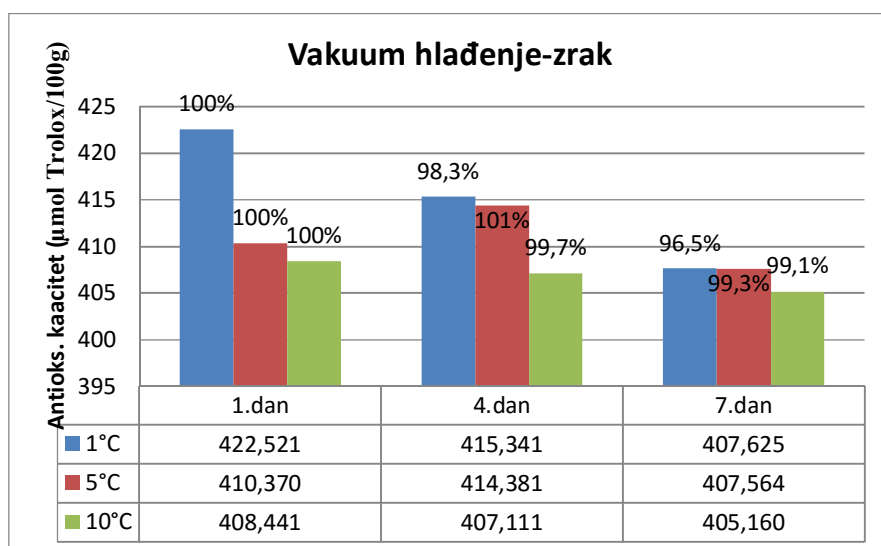
Slika 3: Antioksidacijski kapacitet nezapakiranih malina tijekom skladištenja



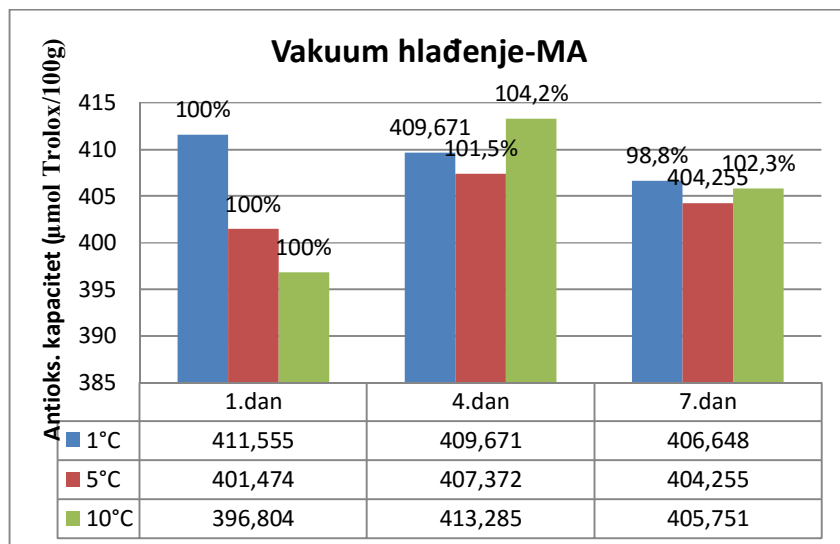
Slika 4: Antioksidacijski kapacitet konvencionalno hlađenih zapakiranih malina tijekom skladištenja



Slika 5. Antioksidacijski kapacitet konvencionalno hlađenih malina zapakiranih u MA tijekom skladištenja



Slika 6. Antioksidacijski kapacitet vakuum-hlađenih, zapakiranih malina tijekom skladištenja



Slika 7. Antioksidacijski kapacitet vakuum-hlađenih, zapakiranih malina u MA tijekom skladištenja

5. RASPRAVA

Iz rezultata dobivenih ovim istraživanjem vidi se da antioksidacijski kapacitet kroz 7 dana skladištenja mijenja od $427,931 \text{ } \mu\text{mol}/100\text{g}$ (1.dan skladištenja pri 1°C -nezapakirane maline) do minimalne vrijednosti $357,860 \text{ } \mu\text{mol}/100\text{g}$ (3 dan skladištenja pri 10°C -nezapakirane maline), pri čemu je maksimalna vrijednost postignuta pri 5°C u konvencionalno hlađenim nezapakiranim malinama.

Konvencionalno hlađenje n nezapakirane maline : u prvom periodu skladištenja je došlo do povećanja antioksidacijskog kapaciteta kod 5 i 10°C , dok je kod 1°C došlo do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta. U drugom periodu je došlo do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta i to sve više s povećanjem temperature.

Konvencionalno hlađenje n pakirane maline u atmosferi zraka: u prvom periodu skladištenja nije došlo do promjene antioksidacijskog kapaciteta, osim kod 5°C gdje je došlo do malog povećanja. U drugom periodu skladištenja došlo je do sniženja antioksidacijskog kapaciteta.

Konvencionalno hlađenje n pakirane maline u MA: antioksidacijski kapacitet kontinuirano pada pri 7 dana pri 1 i 5°C , dok pri 10°C raste pa pada temperature prvom periodu raste a u drugom periodu pada.

Vakuum-hlađenje n pakirane maline u atmosferi zraka: pri 1 i 10°C došlo je do kontinuiranog sniženja antioksidacijskog kapaciteta, dok je pri 5°C u prvom periodu došlo do povećanja, a u drugom do sniženja antioksidacijskog kapaciteta i to većeg s porastom temperature.

Vakuum-hlađenje n pakirane maline u MA: u prvom periodu skladištenja pri 5 i 10°C došlo je do rasta antioksidacijskog kapaciteta, a u drugom periodu skladištenja došlo je do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta i to većeg s porastom temperature. Pri 1°C došlo je do kontinuiranog sniženja antioksidacijskog kapaciteta.

Ukupno gledajući i utjecaj temperature primjećuje se da pri 1°C kontinuirano dolazi do sniženja antioksidacijske aktivnosti plodova dok pri 5 i 10°C u većini uzoraka dolazi prvo do porasta, a zatim sniženja. Najveća određena vrijednost nakon 7 dana skladištenja bila je u plodovima konvencionalno hlađenim pakiranim u MA i skladištenim pri 10°C . Također su

vrlo visoke vrijednosti 7. Dana određene u vakuum hlađenim plodovima pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C, te u vakuum hlađenim plodovima pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C, te u vakuum hlađenim plodovima pakiranim u MA i skladištenim pri 1°C.

Mullen i suradnici(2002) su istraživali utjecaj hlađenja i skladištenja na fenole, elagitanine, flavanoide i antioksidacijski kapacitet crvene maline. Istraživanje je pokazalo kako skladištenje pri niskim temperaturama nije imalo utjecaja na antioksidacijski kapacitet. Maline su skladištene na 4°C u periodu od 3 dana, te na 18°C kroz 24h. Kada su maline bile skladištene pri 4°C 3 dana i na 18°C 24h, razina antocijanina je bila ne promijenjena dok je se razina vitamina C malo snizila, a razina elagitanina lagano povećala. Zaključeno je da nema razlika u antioksidacijskom kapacitetu između maline koja je skladištena pri niskim temperaturama i one koja je skladištena pri povišenim temperaturama.

Kalt i suradnici(1999) su istraživali utjecaj temperature skladištenja maline na antioksidacijski kapacitet i ukupne fenole, antocijane i askorbinsku kiselinu. Maline su bile skladištene na 0, 10, 20 i 30°C. Rezultati su pokazali porast antioksidacijskog kapaciteta prilikom skladištenja na temperaturama višim od 0°C, što je rezultiralo porastom koncentracije fenola i antocijana, a došlo je do sniženja koncentracije askorbinske kiseline. Rezultati su također pokazali da su na antioksidacijski kapacitet maline najviše utjecali antocijani i fenoli, dok askorbinska kiselina nema velikog utjecaja na antioksidacijski kapacitet.

U radu koji su objavili Moor i suradnici(2009) cilj je bio odrediti utjecaj modificirane atmosfere na kvalitetu maline Polka. Maline skladištene u normalnoj atmosferi su služile kao kontrolni uzorak. Maline su skladištene 3 dana na 1,6°C, onda se pola vrećica prebacilo u modificiranu atmosferu na 6°C, a pola je ostalo još 3 dana na 1,6°C. Istraživanje je pokazalo da modificirana atmosfera pozitivno utječe na ožuvanje boje i također na ožuvanje antioksidacijskog kapaciteta.

Naši rezultati za sedam dana su pokazali da postoji razlika između konvencionalno hlađenih malina ili u vakuumu te skladištenih pri različitim temperaturama i u različitim uvjetima. Antioksidacijski kapacitet je kontinuirano pao kroz sedam dana prilikom skladištenja pri 1°C dok pri 5 i 10°C u većini uzoraka dolazi prvo do porasta, a zatim sniženja. U vakuum hlađenim plodovima sedmog dana uočene su vrlo male razlike antioksidacijskog kapaciteta neovisno o temperaturi skladištenja i atmosferi u pakiranjima. U konvencionalno hlađenim malinama uočen je veći utjecaj i temperature skladištenja i atmosfere u pakiranju s tim da su niže temperature imale negativan učinak, a modificirana atmosfera pozitivan. U nezapakiranim konvencionalno hlađenim plodovima neovisno o temperaturi skladištenja određene su najmanje vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta.

6. ZAKLJUČAK

Prema izmjerenim podacima za antioksidacijski kapacitet plodova maline koji su hlađeni različitim metodama prije pakiranja u različitim uvjetima i skladišteni kroz sedam dana pri tri temperature može se zaključiti:

- Vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta bile su od 427,931 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (1.dan skladištenja pri 1°C-nezapakirane maline) do 357,860 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (3 dan skladištenja pri 10°C-nezapakirane maline).
- Najslabija sačuvanost antioksidacijskog kapaciteta sedmog dana određena je u nezapakiranim plodovima neovisno o temperaturi skladištenja.
- Najbolja sačuvanost antioksidacijskog kapaciteta sedmog dana skladištenja je pri 10°C za konvencionalno hlađenje u uvjetima modificirana atmosfere (408,920 $\mu\text{mol}/100\text{g}$), a približne vrijednosti određene su i vakuum hlađenim plodovima i to pakiranim u atmosferi zraka i skladištenim pri 1 i 5°C (407,625 i 407,564 $\mu\text{mol}/100\text{g}$), te pakiranim u MA i skladištenim pri 1 °C (407,648 $\mu\text{mol}/100\text{g}$).
- U konvencionalno hlađenim malinama viša temperatura skladištenja i modificirana atmosfera imaju pozitivan utjecaj na antioksidacijski kapacitet, dok u vakuum hlađenim plodovima nije uočen veći utjecaj ni temperature niti atmosfere skladištenja.

7. LITERATURA

1. Bobinaitis R., Viskelis P., Venskutonis, P. R. 2012. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars, *Food Chem.* **132**,1495-1501.
2. Castrejón A., Eichholz I., Rohn S., Kroh L. W., Huyskens-Keil S. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening, *Food Chem.* **109**, 564-572.
3. FAOSTAT (2015.) Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics division < <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>> Pristupljeno 27,07,2015
4. Gaziano, J.M., Manson, J.E., Buring, J.E., Hennekens, C.H. (1992) Dietary antioxidants and cardiovascular disease, *Ann. New York Acad Sci.* **669**, 249-259.
5. Gey, K.F., Puska, P., Jordan, P. and Moser, U.K. (1991) Inverse correlation between plasma Vitamin E and mortality from ischemic-heart-disease in cross cultural epidemiology. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 326-334.
6. Giovanelli G., Buratti S. 2009. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties, *Food Chem.* **112**, 903-908.
7. Haffner, K.; Rosenfeld, H.J., Skrede, G., Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, Vol.24, pp. 279-289, ISSN 0925-5214.
8. Jakobek L. i su., Antioksidacijska aktivnost polifenola iz borovnice i jagode, *Pomologia Croatica* Vol.14-2008., br 1
9. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL. (1999) Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food. Chem.* **47**,4638-44. DOI: 10.1021/jf990266t
10. Lovrić, T. (2003.): *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*, Hinus, Zagreb
11. Manganaris G. A., Goulas V., Vicente A. R. and Terry L.A. (2014) Berry antioxidants: small fruits providing large benefits, *J. Agric. Food. Chem.*, **94**,825-833
12. McGhie TK, Walton MC.(2007) The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding., *Mol. Nutr. Food. Res.* **51**,702-13.

13. Mölder, Moor, Tõnutare and Põldma (2010) Postharvest quality of 'Glen Ample' raspberry as affected by storage temperature and modified atmosphere packaging., *J. Fruit Ornament. Plant Res.* **19**, 145-153
14. Moor, U., et al. "The effect of modified atmosphere storage on the postharvest quality of the raspberry 'Polka'." *ISSN 1406-894X* 12.3 (2009): 745-752.
15. Mullen W, Stewart, A. J., Lean E. J. (2002) Effect of Freezing and Storage on the Phenolics, Ellagitannins, Flavonoids, and Antioxidant Capacity of Red Raspberries, *J. Agric. Food Chem.* **50**, 5197-5201; DOI: 10.1021/jf020141f
16. Pandey K. B. and Rizvi S. I., 'Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease,' *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2**, 270-278, 2009.
17. Pantelidis, G.E.; Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. and Diamantidis, Gr. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chem.* **102**, 777-783, ISSN 0308-8146
18. Percival M., Antioxidants; 1996 Advanced Nutrition Publications, Inc., Clinical Nutrition Insights, 1998
19. Prakash, A., Rigelhof, F. and Miller, E. 'Antioxidant Activity. Available from World Wide Web: http://www.medlabs.com/downloads/antiox_acti_.pdf. 2011.
20. R. Bobinaite, P. Viškelis, A. Čarkinas & P.R. Venskutonis (2013) Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of raspberry fruit, pulp, and marc extracts, *CyTA - J. Food Sci.* **11**, 334-342, DOI: 10.1080/19476337.2013.766265
21. Stiles, Edmund W. 1980. Patterns of fruit presentation and seed dispersal in bird-disseminated woody plants in the Eastern deciduous forest. *American Naturalist*. **116**, 670-688.
22. USDA (2015.) United States Department of Agriculture - Natural Resources Conservation Service, <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2419>> Pristupljeno 27.07.2015
23. Volčević B., Jagoda, malina, kupina, Bjelovar: Neron, 2005
24. Zagory K., Kader A., Kerbel A., C.Y. Wang.; Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables., *Critical Reviews in J. Food. Sci.* Volume 28, Issue 1, 1989., DOI: 10.1080/10408398909527490
25. Zagory K., Kader A., Modified atmosphere packaging of fresh produce, *Food Technology* **42**: 70-74 & 76-77, Institute of Food Technologists 1988

26. Ziegler, R.G. (1991) Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 251–259.