Utjecaj dodatka trehaloze i maltoze na udio fenola i antocijana u soku višnje

Fotez, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:946935

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Ana Fotez

Utjecaj dodatka trehaloze i maltoze na udio fenola i antocijana u soku višnje

završni rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

Nastavni predmet

Kemija hrane

Utjecaj dodatka trehaloze i maltoze na udio fenola i antocijana u soku višnje

Završni rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar

Studentica:	Ana Fotez	MB: 3590/12
Mentor:	izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar	
Predano:		
Pregledano:		

Ocjena: Potpis mentora:

_____

Utjecaj dodatka trehaloze i maltoze na udio fenola i antocijana u soku višnje

Sažetak

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj trehaloze i maltoze u soku od višnje na udio fenola, flavonoida, antocijana, polimernu boju i antioksidativnu aktivnost. Mjerenja su provedena na uzorcima nakon pripreme i nakon skladištenja od 7 mjeseci na sobnoj temperaturi. Rezultati uzoraka s dodanim šećerima uspoređeni su s kontrolnim uzorkom odnosno sa sokom bez dodatka šećera. Fenolne tvari, flavonoidi i antocijani smanjuju se skladištenjem. Udio fenola i flavonoida u uzorcima s dodatkom šećera nakon pripreme, se je povećao u odnosu na kontrolni uzorak, a udio antocijana je bio isti. Tijekom skladištenja je došlo do degradacije fenolnih tvari. U uzorcima s dodatkom šećera, udio fenola je bio manji, a udio flavonoida i antocijana veći, u odnosu na kontrolni uzorak. Antioksidativna aktivnost mjerena je pomoću tri metode (ABTS, DPPH i FRAP). Antioksidativna aktivnost se smanjuje skladištenjem, s time da je u uzorcima s dodatkom šećera utvrđena veća antioksidativna aktivnost.

Ključne riječi: sok višnje, trehaloza, maltoza, fenoli, antocijani, antioksidativna aktivnost

Infulence of trehalose and maltose on phenol and anthocyanin content in sour cherry juice

Summary

The aim of this work was to determine the influence of trehalose and maltose in cherry juice on phenols, flavonoids and anthocyanins content, polymeric color and antioxidant activity. The measurements were done on samples after preparation and after storage of 7 months at room temperature. Samples with addition of sugars were compared with the control samples, respectively with pure juice. After preparation, samples with addition of sugars had higher content of phenols and flavonoids in contract to control sample, while anthocyanin content was same in all samples. During storage, degradation of phenolic compounds occurred. Samples with addition of sugars had higher content of flavonoids and anthocyanins and lower content of phenols in comparison to control sample. Antioxidant activity was determined by ABTS, DPPH and FRAP methods. During storage, antioxidant activity decreased, but samples with addition of sugars had higher antioxidant activity.

Keywords: sour cherry juice, trehalose, maltose, phenols, anthocyanins, antioxidant activity

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2.1. VIŠNJA 3
2.2. POLIFENOLI 4
2.2.1. Izvori polifenola 5
2.2.2. Kemijska struktura polifenola 6
2.2.3. Veza između strukture i antioksidativne aktivnosti 7
2.3. ANTOCIJANI 8
2.3.1. Struktura antocijana 9
2.3.2. Stabilnost boje antocijana 10
2.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST 13
2.5. ŠEĆERI 14
2.5.1.Trehaloza 14
2.5.2. Maltoza 15
3. EKSPERIMENTALNI DIO 16
3.1. ZADATAK 16
3.2. MATERIJALI 16
3.3. PRIPREMA SOKA 17
3.4. METODE 18
3.4.1. Određivanje ukupnih fenola 18
3.4.2. Određivanje udjela flavonoida 18
3.4.3. Određivanje udjela antocijana 18
3.4.4. Određivanje polimerne boje 19
3.4.5. Određivanje antioksidativne aktivnosti 20
4. REZULTATI I RASPRAVA 22
4.1. Udio fenola, flavonoida, antocijana i postotak polimerne boje 22
4.2. Antioksidativna aktivnost 24
5. ZAKLJUČAK 26
6. LITERATURA 27

1. UVOD

Voda je najvažnija komponenta našeg organizma. Sastavni je dio svih stanica te je jedna od najvažnijih komponenta koju moramo unositi u tijelo. Kako bi zadovoljili potrebne dnevne količine tekućine, vodu unosimo u različitim oblicima. Najveće količine unosimo putem čiste vode, sokova i ostalih tekućina, ali i juhama, voćem, povrćem i ostalom hranom. Danas tehnolozi osmišljavaju raznovrsne napitke i sokove, kako bi ljude potaknuli za sve većom konzumacijom tekućine. Zbog same činjenice nedovoljnog unosa tekućina, velika se pažnja pridaje sokovima, jer su višestruko važni za ljude. Osim što su u njima prisutni vitamini (mogu biti i dodani), sokovi su kod potrošača prihvatljiviji od vode jer posjeduju okuse specifične za vrstu voća (ali i povrća) iz koje su proizvedeni. Kako bi očuvali hranu i produljili joj rok trajnosti, što je duže moguće, tehnolozi se danas koriste raznim metodama konzerviranja. Kupci se sve više informiraju i zahtijevaju hranu bez aditiva, umjetnih boja i aroma. Prerađivanjem voća u finalni proizvod, ne samo da se nastoji sačuvati namirnica nego je i vrlo bitno zadržati početna svojstva namirnice. Isto tako nastoji se što više sačuvati boja u izvornom obliku. U procjeni kakvoće, odnosno kvalitete svježeg voća i njihovih prerađevina, boja je jedan od najvažnijih parametara, uz teksturu i aromu. Boja nam daje informacije o zrelosti, ali i upozorava na mikrobiološko kvarenje te proizvod mora biti vizualno privlačan inače ga potrošač neće kupiti. Boja svježeg voća specifična je za svaku vrstu sirovine te je rezultat prisutnosti raznih kemijskih spojeva (pigmenata). Ti pigmenti se prerađivanjem prenose iz početne sirovine u gotov proizvod. Tehnološki proces i sama svojstva pigmenata utječu na očuvanje i količinu pigmenata prisutnih u finalnom proizvodu. Oštećenjem voća mogu nastati sekundarni (nespecifični) pigmenti reakcijama posmeđivanja ili degradacijom primarnih pigmenata. Crvena boja proizvoda od voća, kao što je ispitivani sok višnje, potječe od antocijana koji spadaju u polifenole. Antocijani su pigmenti topljivi u vodi, vrlo nestabilni tijekom prerade i skladištenja. Na njihovu stabilnost ponajprije utječu pH, temperatura, aktivitet vode, kisik, svjetlost, enzimi, ali i koncentracija samih antocijana te njihova struktura. Fenolni spojevi koji su prirodno prisutni u voću imaju sposobnost smanjenja oksidativnog oštećenja koji se povezuje s mnogim bolestima kao što su rak, kardiovaskularne bolesti, ateroskleroza, diabetes, starenje i drugo, stoga je vrlo važno očuvati fenolne tvari u proizvodima.

U ovom istraživanju praćen je utjecaj dodataka šećera (trehaloze i maltoze) na udio fenola, flavonoida i antocijana te polimerna boja i antioksidativna aktivnost u soku višnje i utjecaj tih istih šećera tijekom 7 mjeseci skladištenja na sobnoj temperaturi.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. VIŠNJA

Višnja (lat. *Prunus cerasus* L.) je vrsta koja spada u koštunjićave voćke. U biljnoj sistematici spada u porodicu ruža (Rosaceae), rod *Prunus* i podrod *Cerasus*. Nastala je križanjem domaće trešnje i divljih vrsta koje su kisele. Najveću važnost višnja ima u prerađivačkoj industriji. Najprije se počela uzgajati u Turskoj i Grčkoj te se dalje proširila po Europi. U Hrvatskoj se uzgaja na kontinentalnom i sredozemnom djelu. U Dalmaciji se uzgaja poznata sorta, Maraska (Web 1).

Tablica 1 Kemijski sastav višnje (Web 1)

Komponenta	Mjerna jedinica	Količina
Ukupno bjelančevina	g	1,00
Ukupno ugljikohidrati	g	12,18
Ukupno masti	g	0,30
Dijetalna vlakna	g	1,60
Voda	g	86,13
Fruktoza	g	3,51
Vitamin A	mcg	64,00
Folati	mcg	8,00
Vitamin C	mg	10,00
Vitamin K	mcg	2,10
Mg	mg	9,00
P	mg	15,00
K	mg	173,00
Na	g	3,00
Ca	mg	16,00

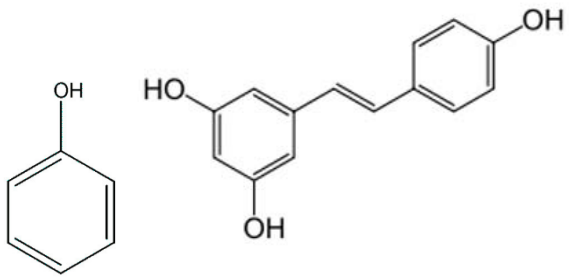
Nutricionisti redovito preporučuju konzumiranje što više raznovrsnog voća, a razloga za konzumiranje višanja je mnogo. Višnje su crvene boje koja potječe od antocijana, najviše koncentriranih u kožici. Prisutni fenoli (galna, p-kumarinska kiselina, kemferol i kvercetin) imaju jako antioksidativno djelovanje te sprječavaju antioksidativni stres. Time se starije osobe štite od gubitka pamćenja, senilne demencije i Alzheimerove bolesti. Antioksidansi prisutni u višnji imaju pozitivan utjecaj u prevenciji tumora, posebice tumora debelog crijeva, imaju jaka antiupalna svojstva, pomažu kod smanjivanja upale mišića, reume i osteoartritisa.

Višnje su bogate vitaminima (A, C, E i B9), mineralima (kalijem, magnezijem i željezom) te vlaknima (**Tablica 1**). Višnja sadrži prirodan hormon melatonin koji regulira odnosno potiče san. Melatonin se koristi u liječenju tegoba menopauze, odvikavanja od lijekova, kod raka dojke i prostate, hiperaktivnosti i deficita pažnje (Web 1).

2.2. POLIFENOLI

Polifenoli su fitokemikalije prisutne u biljkama. Posjeduju aromatične prstene na koje su vezane jedna ili više hidroksilnih skupina. Struktura se proteže od jednostavnih molekula pa sve do složenih polimera, kao što su tanini i lignin. Polifenoli imaju antikancerogeno, antibakterijsko i antivirusno djelovanje (Rastija i sur., 2009.). Polifenoli su sastojci svih namirnica biljnog podrijetla i njihovih prerađevina te su prisutni u svakodnevnoj prehrani. U većim količinama prisutni su u kakau i zelenom čaju. Antioksidansi slobodnim radikalima daju jedan svoj elektron te ih tako neutraliziraju. Slobodni radikali su nestabilni i vrlo reaktivni te mogu izazvati oksidaciju. Upravo su polifenoli ti koji imaju jaku antioksidacijsku aktivnost (Šubarić i sur., 2010.). Mnoga istraživanja ukazuju na to da polifenoli preveniraju degenerativne i kardiovaskularne bolesti.

Fenoli, za razliku od polifenola (**Slika 1**) imaju samo jedan aromatični prsten s vezanim OH skupinama, a njihova antioksidativna aktivnost ovisi o strukturi, broju i poziciji hidroksilnih grupa te o prirodi supstituenta vezanih na prsten. Fenoli su najzastupljenije fitokemikalije koje imaju značajnu ulogu u rastu i reprodukciji te štite od patogena i nametnika (Balasundram i sur., 2005.). Prirodni fenoli pretežno se nalaze u višim biljkama (lišću, laticama i plodovima).



Slika 1 Struktura fenola i polifenola (Web 3)

2.2.1. Izvori polifenola

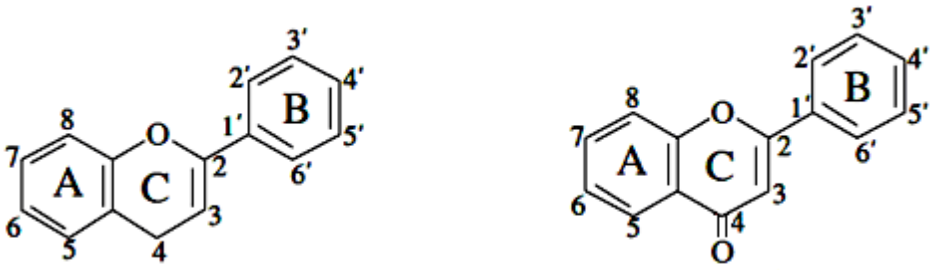
Većina istraživanja polifenola iz voća, radi se na jagodičastom i bobičastom voću (kupine, maline, ribize, brusnice, jagode i dr.) te na njihovim prerađevinama kao što su vino i sokovi. Jagodičasto i bobičasto voće bogat je izvor vitamina, vlakna i polifenolnih spojeva. Istraživanja su pokazala da većina njih sadrži veći udio flavonoida od drugih vrsta voća (Torronen, 2000.). Bobičasto voće tamnije boje sadrži višu koncentraciju polifenola od svjetlijeg voća (Kaur, 2001.). Kao što je već poznato, polifenoli imaju značajnu antioksidativnu aktivnost. Količina polifenola u voću varira od vrste do vrste, od sorte do sorte, ali ovisi i o vremenu berbe, o zrelosti, podrijetlu i dr. Sadržaj polifenola u različitim namirnicama prikazan je u **Tablici 2**.

Tablica 2 Sadržaj polifenola u različitim namirnicama (Gharras, 2009.)

Izvor	Sadržaj polifenola (mg/kg ili mg/L)	Vrsta polifenola
Borovnica	30-160	Flavonoli
Ribizla	30-70	
Marelica	25-50	
Jabuka	20-40	
Crno grožđe	15-40	
Rajčica	2-15	
Cherry rajčica	115-200	
Poriluk	30-225	
Žuti luk	350-1200	
Kelj	300-600	
Crni čaj	30-45	
Zeleni čaj	20-35	
Crno vino	2-30	
Sok od naranče	215-685	Flavoni
Sok od grejpa	100-650	
Sok od limuna	50-300	
Peršin	240-1850	
Celer	20-140	
Sojino brašno	800-1800	
Kupina	80-270	Hidroksibenzojeva kiselina
Malina	60-100	
Jagoda	20-90	
Grah	350-550	Monomerni flavnoli
Marelica	100-250	
Trešnja	50-220	
Grejp	30-175	
Breskva	50-140	
Kupina	130	
Crni čaj	60-500	
Crno vino	80-300	
Patlidžan	7500	Antocijani
Kupina	1000-4000	
Ribizla	250-5000	
Crno grožđe	300-7500	
Trešnja	350-7500	
Rabarbara	2000	

2.2.2. Kemijska struktura polifenola

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka različitih funkcija. Omogućuju otpornost biljke na bolesti i štite osjetljive stanične dijelove od zračenja. Utječu i na rast biljke (Häkkinen, 2000.). Polifenoli uključuju više od 8000 spojeva različite strukture (Šubarić i sur., 2010.). Najvažnija, a ujedno i najveća skupina polifenola su flavonoidi (Mattila i sur., 2006.). Osnovna struktura flavonoida prikazana je na **Slici 2**.



Slika 2 Osnovna struktura flavonoida (Rein, 2005.)
(lijevo-flavan jezgra; desno-okso flavonoid jezgra)

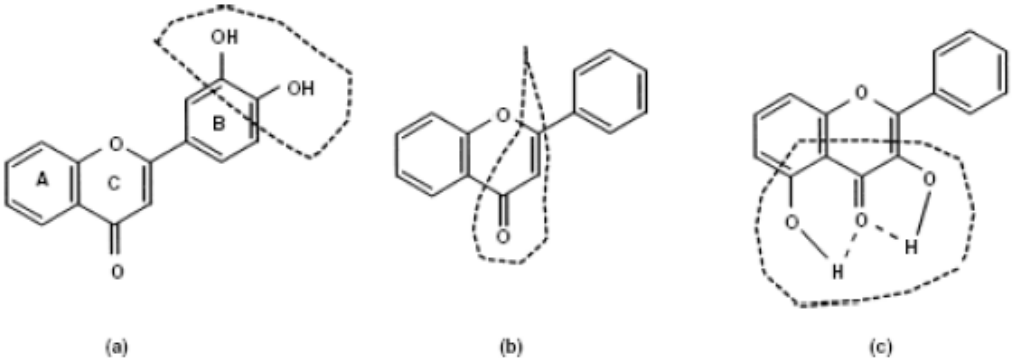
Flavonoidi sadrže tri fenolna prstena (A, B i C). Postoji mnogo flavonoida čiji nastanak određuju geni i zrelost biljke te klima i način uzgoja. U flavonoide spadaju flavoni, flavanoli, flavanoni, izoflavoni, flavanoidi, flavani, flavanoli, halkoni, dihidrohalkoni, flavan-3,4-dioli i antocijani. Flavonoidi se razlikuju i po kemijskoj strukturi koja ovisi o broju fenolnih prstena i grupama koje ih povezuju te se dijele na (Naczk i Shahidi, 2006.):

- fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne),
- flavonoide (flavonoli, flavoni, flavanoli, antocijani),
- tanine (kondenzirani i hidrolizirani),
- ostale polifenolne spojeve (lignani, kumarini).

U prirodi se flavonoidi većinom nalaze u obliku glikozida (povezani s molekulama šećera). Osim šećera na flavonoide mogu biti vezane i hidroksi i metoksi skupine (Jakobek, 2007.).

2.2.3. Veza između strukture i antioksidativne aktivnosti

Antioksidativna aktivnost flavonoida i njihovih metabolita ovisi o strukturnom rasporedu funkcionalnih grupa vezanih na glavnu okosnicu flavonoida. Polifenoli predstavljaju glavni izvor antioksidansa. Antioksidativna aktivnost hrane biljnog podrijetla proizlazi iz zajedničkog djelovanja polifenola, vitamina C i E, terpenoida, karotenoida, Maillardovih komponenta i minerala u tragovima (Pérez-Jiménez i sur., 2008.). Antioksidativna aktivnost flavonoida ovisi o samoj strukturi te postoje tri takve strukture (**Slika 3**) sa sposobnošću uklanjanja slobodnih radikala (Šubarić i sur., 2010.):



Slika 3 Veza između antioksidativne aktivnosti i strukture flavonoida:
(a) katehol jedinice na B prstenu,
(b) 2,3 dvostruka veza i 4-okso funkcija na C prstenu,
(c) prisustvo hidroksilnih skupina na 3 i 5 poziciji (Kopjar, 2007.)

Na jačinu antioksidativne aktivnosti flavonoida najveći utjecaj ima prostorni raspored substituenata te konfiguracija i broj hidroksilnih grupa. Hidroksilne grupe omogućuju hvatanje slobodnih radikala, prema slijedećoj reakciji:

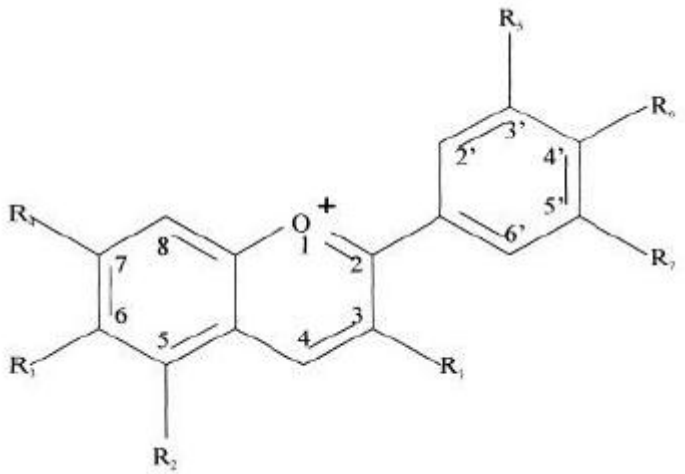
$$P\text{-}OH + R^{\cdot} \rightarrow F\text{-}O^{\cdot} + RH$$

Heterociklički dio flavonoida omogućuje antioksidativnu aktivnost zbog slobodnih OH skupina, a time osigurava konjugaciju između aromatskih prstena. Hvatanje slobodnih radikala pomoću flavonoida ovisi i o slobodnoj 3-OH grupi tako što flavonidi sa slobodnom 3-OH skupinom i 3´,4´-katehol strukturom imaju i do 10 puta jaču mogućnost hvatanja slobodnih radikala (Burda i Oleszek, 2001.). 2-3 dvostruka veza daje jaču antioksidativnu

akitvnost. Tako kvarcetin ima veću antioksidativnu aktivnost od cijanidina, koji pak zbog naboja ima veću aktivnost od katehina. Aglikoni su jači antioksidansi od glikozida, ali se biodostupnost ponekad pojačava glukozom (Hollman i sur., 1999.). Na antioksidativnu aktivnost utječe i stupanj polimerizacije te ona raste s povećanjem stupnja polimerizacije (Vennat i sur., 1994.).

2.3. ANTOCIJANI

Antocijani dolaze od grčke riječi anthos (cvijeće) i kyanos (plav). To je grupa od oko 500 različitih spojeva crvene, ljubičaste i plave boje. Prisutni su u mnogim biljkama, a naročito u voću (**Tablica 3**). Antocijani spadaju u flavonoide, koji su podgrupa polifenola. Postoji šest osnovnih antocijanidina: cijanidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin i malvidin, a vezanjem šećera na ove osnovne antocijanidine nastaju molekule antocijana (**Slika 4**). Jedni su od najvažnijih biljnih pigmenata koji su topljivi u vodi. Odgovorni su za boju cvjetova i plodova biljaka (Ćujić i sur, 2013.). Utječu na senzoriku proizvoda i pozitivno djeluju na zdravlje (kardioprotektivan učinak) (Pascual i sur., 2008.).



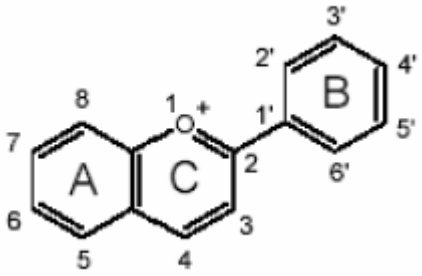
Slika 4 Opća struktura antocijana (Delgado-Vargas i sur, 2000.)

Tablica 3 Zastupljenost antocijana u voću (Pascual i sur., 2010.)

VOĆE	ZASTUPLJENOST ANTOCIJANA (mg/100 g svježe mase)
Jabuka	0-60
Borovnica	300-698
Crni ribiz	130-476
Kupina	82,5-325,9
Višnja	2-450
Aronija	410-1480
Brusnica	67-140
Kruška	5-10
Šljiva	2-25
Malina	20-687
Crveno grožđe	30-750
Jagoda	19-55

2.3.1. Struktura antocijana

Antocijani spadaju u flavonoidnu grupu polifenola. Imaju tipičan kostur flavonoida ($C_6C_3C_6$). Antocijani su derivati flavilium kationa (**Slika 4**).

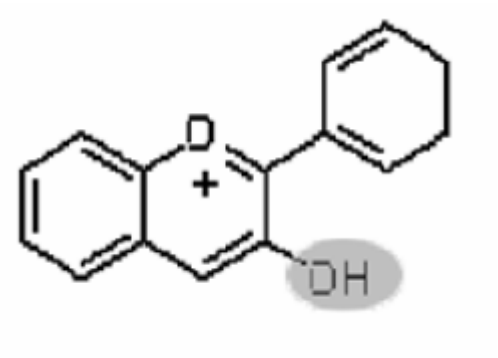


Slika 5 Flavilium kation (Rein, 2005.)

Glavni dio antocijana je aglikon (**Slika 6**). Aglikoni se nazivaju antocijanidini, a obično su penta (3,5,7,3´,4´) ili heksa substituirani (3,5,7,3´,4´,5´). Kiselom hidrolizom antocijani se razgrađuju do šećera i svog aglikonskog oblika:

ANTOCIJAN → ANTOCIJANIDIN + ŠEĆER

Danas su poznata 22 različita antocijanidina, a samo ih je 6 značajno za hranu (Francis, 1989.), a to su: pelargonidin, cijanidin, peonidin, delfinidin, malvidin i petunidin. Oni se međusobno razlikuju po broju hidroksilnih i metoksilnih grupa na B prstenu flavilium kationa.



Slika 6 Antocijanidin (aglikoni) (Katalinić, 2006.)

Antocijani su puno stabilniji i topljiviji u vodi od antocijanidina zbog glikozilacije (Rein, 2005.). Najčešće vezani šećeri na antocijane su monosaharidi (glukoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza i ksiloza) te disaharidi i trisaharidi (rutinoza, soforoza, sambubioza i glukorutinoza). Priroda šećera i njihova pozicija na kosturu aglikona je važan strukturni faktor te ima utjecaj na boju pigmenata (Gould i sur, 2009.).

Antocijani mogu biti i acilirani tako da se na antocijanin glikozil jedinicu, preko esterskih veza vežu organske kiseline kao što su aromatske fenolne kiseline (derivati hidroksicinamičke kiseline i hidroksibenzojeve kiseline (npr. galna kiselina)) te alifatske dikarboksilne kiseline (maloninska kiselina, octena kiselina, malična kiselina, sukcininska kiselina i oksalna kiselina) ili njihova kombinacija (Francis, 1989.).

2.3.2. Stabilnost boje antocijana

Na stabilnost antocijana utječu različiti faktori:

- Struktura i koncentracija,
- pH,
- temperatura,
- kisik i svjetlost,
- enzimi,

- askorbinska kiselina,
- šećeri,
- kopigmentacija.

Utjecaj strukture. Glikozilne jedinice i acilne grupe vezane za aglikon imaju utjecaj na stabilnost i reaktivnost antocijana. Također, broj i mjesto hidroksilnih i metoksilnih grupa na aglikonu utječu na molekulu pigmenta. Boja antocijana se mijenja od ružičaste prema plavoj kako se broj hidroksilnih skupina povećava (Mazza i Brouillard, 1987.). Povišena hidroksilacija i glikolizacija aglikona stabiliziraju antocijanidin, a povećanjem metilacije hidroksilnih skupina smanjuje se stabilnost antocijana (Dao i sur., 1998.). Povećanje broja glukoznih jedinca uzrokuje stvaranje pigmenata žute boje. Male razlike u strukturi imaju veliki utjecaj na boju antocijanina (Giusti i sur., 1999.).

Utjecaj pH. Antocijani su stabilniji u kiseloj sredini, na niskim pH vrijednostima nego u alkalnim otopinama s visokim pH vrijednostima. Pokazuju veliku raznolikost boja u pH rasponu od 1-14 (Brouillard, 1982.; von Elbe i Schwartz , 1996.). U vodenim otopinama antocijani postoje u četiri oblika :

- Flavlium kation,
- Kinoidalna baza,
- Karbinol ili pseudobaza,
- Halkon.

Tablica 4 Ovisnost strukture i boje antocijana o pH (Katalinić, 2006.)

pH	<2	Antocijan kation (crvena)
pH	2-4,5	Kation+leukobaza (crvena+bezbojna)
pH	4,5	Leukobaza
pH	4,5-8	Antocijan kao hidrobaza (ljubičasta)
pH	8-10	Antocijan kao anion hidrobaze (plava)
pH	>10	Halkon (žuta)

U vrlo kiselom mediju (pH 0-3), flavilium kation je crvene boje, a pri pH 4-5 boja flavilium kationa prelazi u bezbojni karbinolni oblik. Karbinolni oblik gubi konjugirane dvostruke veze između A i B prstena i ne apsorbira vidljivu svjetlost (Brouillard, 1982.). U lužnatim otopinama flavilium kation prelazi od plavih pa sve do žutih tonova. Promjene boje ovisno o pH prikazuje **Tablica 4**.

Utjecaj temperature. Brzina degradacije antocijana se povećava s porastom temperature (Maccarone i sur., 1985.). Temperaturni porast u pH intervalu 2-4 uzrokuje gubitak glikozidnih jedinica antocijana, hidrolizom glikozidne veze (Adams, 1973.). To dovodi do daljnjeg gubitka boje, s obzirom da su aglikoni manje stabilni od svojih glikozidnih oblika. Stvaranje halkona je prvi korak tijekom termičke degradacije. Termička degradacija dovodi do smeđih proizvoda, posebno u prisutnosti kisika.

Utjecaj kisika. Kisik pojačava učinak ostalih procesa degradacije antocijana, a štetno djeluje tako da uzrokuje oksidaciju što dovodi do obezbojenja ili smeđenja proizvoda (Jackman i sur., 1987.). Antocijani reagiraju s peroksi radikalima, gdje antocijani djeluju kao antioksidansi. To djelovanje se pripisuje kao glavni atribut djelovanja antocijana protiv kardiovaskularnih bolesti.

Utjecaj svjetlosti. Izlaganje svjetlu ima jako velik učinak na većinu flavonoida. Svjetlost je neophodna za biosintezu antocijana, ali i ubrzava njihovu razgradnju (Ćujić, 2013.).

Utjecaj enzima. Inaktivacija enzima poboljšava stabilnost antocijana. Najčešći enzimi su glikozidaze. Oni cijepaju kovalentnu vezu između glikozilnih jedinica i aglikona, što dovodi do vrlo nestabilnog antocijanidina (Huang, 1955.; Huang, 1956.). Česti enzimi su i peroksidaze i fenolaze (fenol oksidaze i polifenoln oksidaza). Ti enzimi su prirodno prisutni u voću. Fenolaza može direktno oksidirati antocijane, ali je češći mehanizam kada je na početku substrat neka druga fenolna komponenta.

Utjecaj askorbinske kiseline. Obogaćivanje prirodnih sokova askorbinskom kiselinom česta je metoda zaštite od oksidacije. Ujedno ona i obogaćuje nutritivnu vrijednost sokova. Askorbinska kiselina može ubrzati razgradnju antocijana zbog polimerizacije pigmenata što

uzrokuje obezbojenje. Stabilnost aciliranih antocijana raste u prisutnosti askorbinske kiseline (Poei-Langston i Wrolstad, 1981.)

Utjecaj šećera. Šećeri su prirodno prisutni u voću, a tijekom proizvodnje hrane često se dodaju različitim proizvodima, isto tako i u sokove. Šećeri smanjuju stabilnost antocijana. Reakcijom između antocijana i degradacijskih produkata šećera i askorbinske kiseline, nastaju smeđi pigmenti (Krifi i sur., 2000.). Saharoza štiti antocijane od razgradnje te sprječava posmeđivanje i polimerizaciju (Wrolstad i sur., 1990.). Smanjenje aktiviteta vode dodatkom šećera, smanjuje degradaciju antocijana (De Ancos i sur., 1999.).

Utjecaj kopigmenata. Kopigmenti su spojevi bogati elektronima te se vežu s antocijanima. Povezujući se sa flavilium ionima stabiliziraju ih. Kopigmentacija može biti prirodno pomagalo za poboljšanje boje prehrambenih proizvoda bogatih antocijanima. Boja tih proizvoda može biti stabilizirana i poboljšana dodavanjem različitih biljnih ekstrakata bogatih kopigmentima (Rein, 2005.). Najznačajniji mehanizmi kopigmentacije su formiranje intermolekularnih i intramolekularnih kompleksa te povezivanje i stvaranje metalnih kompleksa.

2.4. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Antioksidansi su tvari koje mogu odgoditi, zaustaviti ili spriječiti kvarenje hrane kao posljedicu oksidacije (Gordon, 2001.). Antioksidansi su molekule koje doniraju slobodan elektron ili vodikove atome slobodnim radikalima. Nekoliko istraživanja je pokazalo da sadržaj antocijana u voću, koji posjeduju antioksidativnu aktivnost, doprinose zaštitnom učinku protiv degenerativnih i kroničnih bolesti. Antioksidativna aktivnost ovisi o strukturnim svojstvima antioksidansa, ali i o (Heinonen i sur., 1998.):

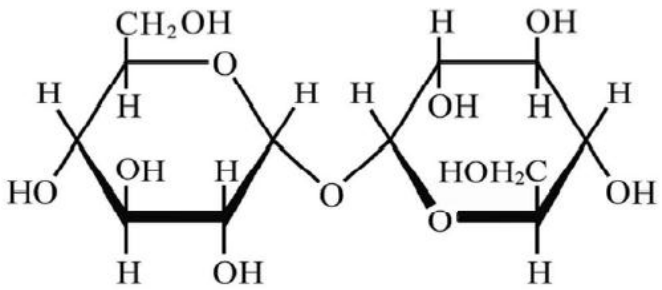
- temperaturi,
- svijetlosti,
- tipu supstrata,
- fizikalnom stanju sustava.

Antioksidansi mogu inhibirati ili usporiti oksidaciju na dva načina te se dijele na primarne i sekundarne. Primarni su fenolne tvari koje zaustavljaju oksidaciju direktnim uklanjanjem slobodnih radikala, a sekundarni su oni koji uključuju indirektno uklanjanje slobodnih radikala. Zaustavljanje oksidacije je bitno za prehrambeni proizvod, te se to može učiniti uklanjanjem kisika, upotrebom niskih temperatura, inaktivacijom enzima koji kataliziraju oksidaciju, upotrebom prikladne ambalaže i inhibitora (aditivi) (Gordon, 2001.).

2.5. ŠEĆERI

2.5.1.Trehaloza

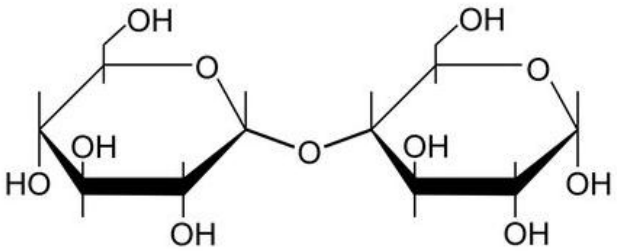
Trehaloza je disaharid kojeg čine dvije molekule D-glukoze povezane α-1,1 glikozidnom vezom (Choi i sur., 2006.). Jedan je od najstabilnijih šećera, molekulske formule $C_{12}H_{22}O_{11}$ (**Slika 7**). Trehalozu sadrže različite biljke poput alga, gljivica, kvasaca, bakterija, ali i kukci i drugi nekralježnjaci (Babić, 2007.). Kod kukaca je glavni šećer u cirkulacijskom sustavu te rezerva kod njihovih jajašca i ličinka. Trehaloza je nereducirajući šećer. U odnosu na druge šećere, trehaloza je vrlo stabilna u širokom rasponu pH vrijednosti, ali i kod različitih temperatura. Izraz trehaloza odnosi se na α,α-trehalozu (Kopjar, 2007.). Trehaloza pozitivno djeluje na prehrambene (u proizvodnji pića, smrznute hrane i konditorskih proizvoda), biotehnološke (očuvanje bakterija i kvasaca) i medicinske proizvode, a koristi se i u kozmetičkoj industriji (Van Dijak i sur., 1995.).



Slika 7 Kemijska formula trehaloze (Web 4)

2.5.2. Maltoza

Maltoza (**Slika 8**) je disaharid sastavljen od jedinica glukoze povezanih 1,4-glikozidnim vezama. Nastaje hidrolitičkom razgradnjom škroba pomoću enzima amilaze. Molekulska formula je $C_{12}H_{22}O_{11}$. Glavni je sastojak isklijalog ječma koji se koristi u proizvodnji piva, a vrlo je važan i lako probavljiv dijetalni proizvod (Web 5).



Slika 8 Kemijska formula maltoze (Web 5)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

U ovom radu zadatak je bio:

- Ispitati utjecaj dodataka šećera (trehaloze i maltoze) u sok višnje na:
    - udio fenola,
    - udio flavonoida,
    - udio antocijana,
    - polimernu boju,
    - antioksidativnu aktivnost.
- Utvrditi promjene navedenih parametara tijekom skladištenja od 7 mjeseci na sobnoj temperaturi.

Ispitivanje se radilo nakon pripreme i nakon skladištenja uzoraka 7 mjeseci na sobnoj temperaturi. Ispitivani uzorci soka s dodatkom trehaloze ili maltoze uspoređivani su sa sokom bez dodataka (kontrolni uzorak) (**Slika 9**).

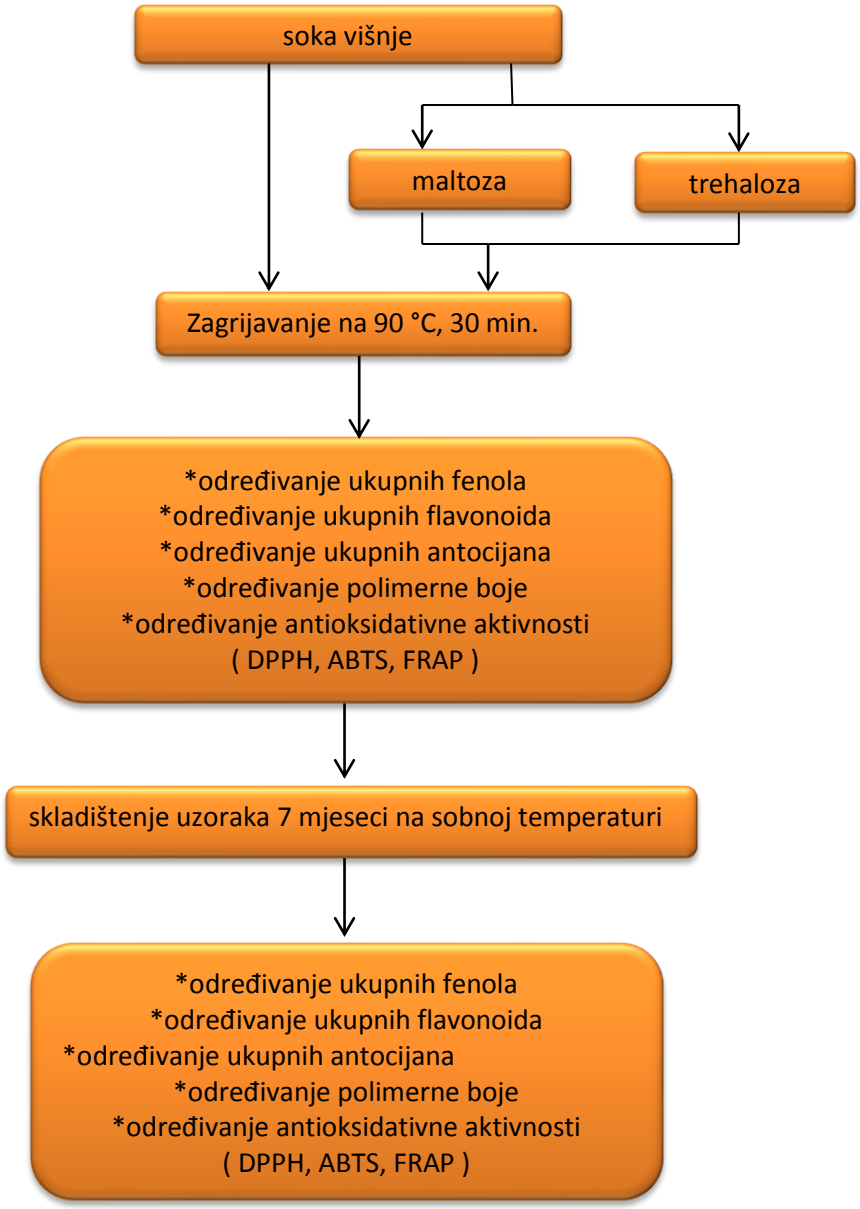
3.2. MATERIJALI

Višnja je nabavljena na lokalnoj tržnici u Osijeku i čuvana na -20 °C do pripreme uzorka. Kalij klorid, natrij acetat, klorovodična kiselina, metanol, natrij karbonat, natrij bisulfit, Folin-Ciocalteu reagens su nabavljeni od proizvođača Kemika (Zagreb). Trolox je nabavljen od proizvođača Sigma (Njemačka). 2,2'- azinobis (3-etilbenztiozolin-sulfonska kiselina) (ABTS) i 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) su nabavljeni od proizvođača Fluka (Njemačka). 2,4,6,-tri(2-piridil)-s-triazin (TPTZ) nabavljen je od proizvođača Sigma, Njemačka. Šećeri, trehaloza i maltoza, nabavljeni su od tvrtke Hayashibara co, Japan.

3.3. PRIPREMA SOKA

Uzorci na kojima je rađeno ispitivanje, su otopine:

- sok (višnja) – kontrolni uzorak
- sok T (sok + trehaloza)
- sok M (sok + maltoza)



Slika 9 Shematski prikaz rada

3.4. METODE

3.4.1. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određeni su Folin-Ciocalteu-ovom metodom, a rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje galne kiseline. Ukupan sadržaj fenola izražava se u gramima ekvivalenta galne kiseline (GAE)/L uzorka.

Postupak. Otpipetira se u epruvetu 0,2 mL uzorka, 1,8 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8 mL otopine natrij karbonata. Dobro se promućka i ostavi stajati 2 sata na sobnoj temperaturi, u tami. Nakon što uzorak odstoji mjeri se apsorbancija pomoću spektrofotometra pri 765 nm. Radi se i slijepa proba kod koje se umjesto uzorka koristi destilirana voda. Mjerenja su provedena u tri paralele.

3.4.2. Određivanje udjela flavonoida

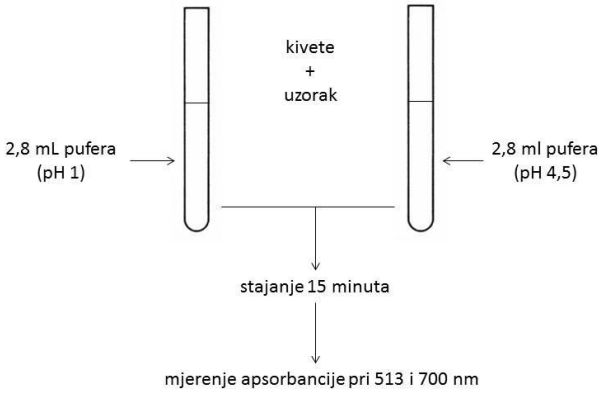
Udio flavonoida određena je primjenom $AlCl_3$ kao reagensa spektrofotometrijskom metodom.

Postupak. Otopina se priprema miješanjem određenog volumena uzorka (0,5 mL), 4 mL deionizirane vode i 0,3 mL 5% $NaNO_2$. Nakon 5 min doda se 1,5 mL 2% $AlCl_3$, nakon 5 min još 2 mL 1 mol/L NaOH i deionizirane vode do 10 mL. Apsorbanca se mjeri na λ=510 nm, u odnosu na deioniziranu vodu kao slijepu probu. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje katehina. Mjerenja su provedena u tri paralele.

3.4.3. Određivanje udjela antocijana

Udio antocijana određuje se metodom po Giusti i Wrolstadu. Primjenjuje se pH-diferencijalna metoda, koja se zasniva na strukturnoj transformaciji antocijana pri promjeni pH. Time se mijenja i spektar apsorpcije. Mjerenja su provedena u tri paralele.

Postupak.



Sadržaj antocijana se računa prema:

$$c\ (\text{antocijana})\ (\text{mg/kg}) = (A \times M \times FR \times 1000) / \varepsilon \times l$$

gdje je:

A - apsorbanca uzorka, koja se izračunava prema izrazu:

A = (A513- A700)pH 1 - (A513 - A700)pH 4,5

M - 449,2

FR - faktor razrjeđenja

ε - molarna absorptivnost, 26 900

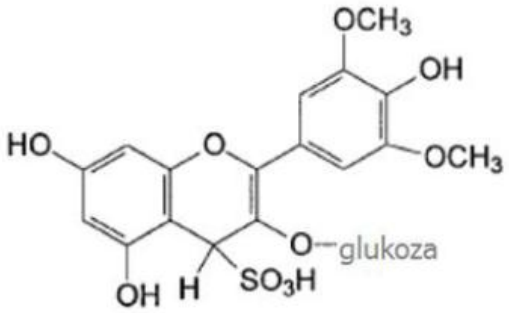
l - duljina kivete, 1 cm

(M i ε su uzeti za dominantnu vrstu antocijana odnosno za cijanidin-3-glukozid).

3.4.4. Određivanje polimerne boje

Degradacija antocijana pratiti se očitanjem apsorbancije u uzorcima tretiranim bisulfitom, a oni zajedno tvore bezbojan kompleks (**Slika 10**). Nastala boja kompleksa antocijani/tanini, je otporna na djelovanje bisulfita. Apsorbancija uzorka tretiranog bisulfitom, na 420 nm predstavlja stupanj posmeđivanja. Gustoća boje se definira kao suma apsorbanci na 420 nm i

λvis-max. Omjer između polimerne boje i gustoće boje se koristi kao postotak boje koja je nastala polimerizacijom sastojaka.



Slika 10 Kompleks između antocijana i bisulfita

Postupak. Otpipetira se 2,8 mL uzorka u dvije kivete. U jednu se doda 0,2 mL vode, a u drugu 0,2 mL otopine bisulfita. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena apsorbanca pri valnim duljinama od 420 nm, 513 nm i 700 nm.

Izračun gustoće boje kontrolnog uzorka (uzorak tretiran vodom):

Gustoća boje = [(A420 nm– A700nm) + (A513 nm – A700 nm)] x FR

Izračun polimerne boje uzorka (uzorak tretiran bisulfitom):

Polimerna boja = [(A420 nm – A700 nm) + (A513 nm – A700 nm)] x FR

Izračun postotka polimerne boje:

Postotak polimerne boje = (polimerna boja/gustoća boje) x100

3.4.5. Određivanje antioksidativne aktivnosti

Glavni mehanizam djelovanja antioksidanasa je uklanjanje slobodnih radikala, dajući im po jedan svoj elektron. Postoji nekoliko metoda određivanja antioksidativne aktivnosti, a najpoznatije su DPPH, ABTS i FRAP metode.

DPPH metoda

Jedna od najrazvijenijih metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti. Temelji se na uklanjanju sintetskih radikala $DPPH^{\cdot}$ u metalnoj otopini te mjerenju apsorbancije pri 517 nm. Zbog reakcije sa slobodnim radikalima dolazi do smanjenja apsorbancije, kao što je prikazano reakcijama (1) i (2).

$$DPPH^{\cdot} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot} \quad (1)$$

$$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow DPPH\text{-}R \quad (2)$$

Postupak. Otpipetira se 0,2 mL uzorka kojem se doda 3 mL DPPH otopine. Uzorak se dobro promiješa i ostavi se stajati 15 minuta. Nakon toga se mjeri apsorbancija pri 517 nm. Antioksidativna aktivnost izračunava se iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Mjerenja su provedena u tri paralele.

ABTS metoda

Metoda se temelji na raspadu radikal kationa $ABTS^{\cdot+}$. On nastaje oksidacijom 2,2'-azinobis(3- etilbenzotizilin-6-sulfonske kiseline) djelovanjem fenolnih tvari te uz prisutstvo H^{+} iona, prelazi u neobojeni oblik.

Postupak. Otpipetira se 0,2 mL uzorka i 3,2 mL otopine ABTS te se promiješa. Ostavi se stajati 1 sat i 35 minuta u mraku. Na kraju se mjeri apsorbancija pri 734 nm.
Antioksidativna aktivnost izračunava se iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Mjerenja su provedena u tri paralele.

FRAP metoda

Metoda se temelji na redukciji Fe^{3+} (feri) do Fe^{2+} (fero) iona u prisutnosti antioksidansa. Fe^{2+} uz prisutnost TPZT reagensa prelazi u obojeni kompleks.

Postupak. Otpipetira se 0,2 mL uzorka i 3 mL FRAP otopine. Promiješa se i ostavi stajati 30 minuta. Zatim se mjeri apsorbancija pri 593 nm.
Antioksidativna aktivnost se isto izračunava iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Mjerenja su provedena u tri paralele.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Namirnice bogate polifenolnim tvarima od izrazitog su značaja za ljudsko zdravlje, prvobitno zbog antioksidativnog djelovanja, ali i zbog antimikrobnog, antialergijskog, protuupalnog i antikancerogenog učinka. Upravo tim spojevima bogata je višnja, ali i njezine prerađevine kao što je sok višnje.

U ovom radu ispituje se utjecaj šećera trehaloze i maltoze u soku višnje na udio fenola, flavonoida, antocijana te na polimernu boju i antioksidativnu aktivnost. Antioksidativna aktivnost mjerena je pomoću više metoda (DPPH, ABTS i FRAP). Dobiveni rezultati uspoređivani su s kontrolnim uzorkom odnosno sa čistim sokom višnje. Sva mjerenja obavljena su nakon pripreme uzorka i nakon skladištenja uzorka na sobnoj temperaturi, 7 mjeseci.

4.1. Udio fenola, flavonoida, antocijana i postotak polimerne boje

U **Tablici 5** prikazan je udio ukupnih fenola, flavonoida, antocijana te polimerna boja sokova od višnje sa dodatkom šećera, trehaloze ili maltoze. Udio fenola u kontrolnom uzorku nakon pripreme bio je najmanji i iznosio je 1222,33 μg GAE/mL. Nakon pripreme udio fenola je približno sličan nakon dodatka trehaloze i maltoze, ali je taj udio ipak nešto veći kod soka s dodanom trehalozom te iznosi 1483,67 μg GAE/mL. Kod dodane maltoze nakon pripreme, udio fenola iznosio je 1434,13 μg GAE/mL. Tijekom skladištenja od 7 mjeseci na sobnoj temperaturi, udio fenola se znatno smanjio. Skladištenjem kontrolni uzorak ima najviše fenola (937,72 μg GAE/mL), a sok u kojeg je dodana trehaloza ima najmanji udio fenola koji iznosi 508,11 μg GAE/mL. Uz dodatak maltoze nakon skladištenja udio fenola iznosi 514,63 μg GAE/mL.

Udio flavonoida u kontrolnom uzorku nakon pripreme iznosio je 462,95 μg CE/mL. Nakon pripreme udio flavonoida u uzorcima s dodatkom trehaloze i maltoze, je bio manji u odnosu na kontrolni uzorak (430,97 i 442,15 μg CE/mL). Nakon skladištenja od 7 mjeseci na sobnoj temperaturi, udio flavonoida se je znatno smanjio u kontrolnom uzorku, 364,52 μg CE/mL, a

neznatno u uzorku s dodatkom trehaloze. U uzorku s dodatkom maltoze, udio flavonoida se je povećao, 506,20 μg CE/mL, što je vjerojatno posljedica degradacije fenolnih spojeva.

Tablica 5 Udio ukupnih fenola, flavonoida i antocijana te polimerna boja sokova od višnje sa dodatkom šećera

Uzorci	Ukupni fenoli (μg GAE/mL)	Ukupni flavonoidi (μg CE/mL)	Antocijani (μg/mL)	Polimerna boja (%)
Nakon pripreme				
Sok	1222,33 ± 53,06	462,95 ± 21,16	141,14 ± 4,71	35,76 ± 0,56
Sok + T	1483,67 ± 46,33	430,97 ± 21,60	140,91 ± 6,91	35,02 ± 0,55
Sok + M	1434,13 ± 18,11	442,15 ± 29,28	140,06 ± 7,00	35,05 ± 0,94
Nakon skladištenja				
Sok	937,72 ± 7,99	364,52 ± 17,07	8,71 ± 0,27	74,09 ± 0,30
Sok + T	508,11 ± 32,57	422,96 ± 5,11	18,46 ± 2,90	73,05 ± 1,44
Sok + M	514,63 ± 36,18	506,20 ± 56,97	18,34 ± 7,40	70,72 ± 0,79

T – trehaloza; M – maltoza

Udio antocijana u svim uzorcima nakon pripreme iznosi je oko 140 μg/mL. Udio antocijana u kontrolnom uzorku znatno se smanjio nakon skladištenja od 7 mjeseci na sobnoj temperaturi. Kontrolni uzorak, odnosno čisti sok imao je najmanji udio antocijana, 8,17 μg/mL. Uzorci s dodatkom trehaloze i maltoze imali su znatno veći udio antocijana u odnosu na kontrolni uzorak, 18,46 μg/mL i 18,34 μg/mL.

Udio polimerne boje u uzorcima nakon pripreme iznosio je oko 35%. Udio polimerne boje se povećava skladištenjem uzoraka. Tako se taj udio duplo povećao skladištenjem soka tijekom 7 mjeseci na sobnoj temperaturi. Najveći postotak polimerne boje ima čisti sok (kontrolni uzorak) te je iznosio 74,09%. Dodatkom trehaloze taj se udio malo smanjio i iznosio je 73,05%. U soku s dodatkom maltoze udio polimerne boje je najmanji te je iznosio 70,72%.

4.2. Antioksidativna aktivnost

Dokazano je da postoji pozitivna povezanost između unosa voća i povrća i smanjenog broja srčanih bolesti, tumora i drugih degenerativnih bolesti kao i usporavanja starenja. S povećanjem eksperimentalnih podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidanasa, njihova važnost poprima novu pozornost. Polifenoli, ispitivani u ovom radu, dobar su izvor antioksidanasa.

Tablica 6 Antioksidativna aktivnost (mmol TE/100 mL) sokova od višnje s dodatkom šećera

Uzorci	ABTS	DPPH	FRAP
Nakon pripreme			
Sok	12,62 ± 0,20	4,25 ± 0,10	9,12 ± 0,13
Sok + T	12,14 ± 0,53	4,83 ± 0,02	8,71 ± 0,48
Sok + M	12,48 ± 0,31	3,99 ± 0,23	8,70 ± 0,15
Nakon skladištenja			
Sok	7,46 ± 0,28	3,08 ± 0,05	4,89 ± 0,14
Sok + T	10,87 ± 0,46	4,09 ± 0,06	7,34 ± 0,07
Sok + M	11,73 ± 0,29	3,71 ± 0,09	7,43 ± 0,14

Tablica 6 prikazuje rezultate antioksidativne aktivnosti u različitim uzorcima soka od višnje dobivene pomoću tri različite metode (ABTS, DPPH, FRAP). Rezultati antioksidativne aktivnosti su izraženi preko trolox-a kao standarda.

Mjerenjem antioksidativne aktivnosti nakon pripreme najveće vrijednosti su dobivene ABTS metodom. Nakon pripreme uzoraka, antioksidativna aktivnost izmjerena ABTS metodom u svim uzorcima iznosila je oko 12,3 µmol TE/100 mL. Rezultati dobiveni DPPH metodom su najmanji pa je tako vrijednost antioksidativne aktivnosti za kontrolni uzorak iznosila 4,25 µmol TE/100 mL, a za sok s trehalozom iznosi 4,83 µmol TE/100 mL. Kod DPPH metode antioksidativna aktivnost za sok u kojeg je dodana maltoza iznosila je 3,99 µmol

TE/100 mL. FRAP metodom antioksidativna aktivnost kontrolnog uzorka je najveća i iznosi 9,12 µmol TE/100 mL, a kod soka s trehalozom i maltozom pokazuje manje vrijednosti, oko 8,71 µmol TE/100 mL.

Mjerenja obavljena nakon što je uzorak bio skladišten 7 mjeseci na sobnoj temperaturi pokazuju obrnute rezultate naspram mjerenja obavljenih nakon pripreme uzoraka. Naime, kontrolni uzorci sada imaju manju vrijednost antioksidativne aktivnosti nego uzorci s dodanim šećerom. ABTS metodom određeno je da antioksidativna aktivnost kontrolnog uzorka iznosi 7,46 µmol TE/100 mL što je puno manje od vrijednosti dobivene mjerenjem antioksidativne vrijednosti soka u koji je dodan šećer. Dodatkom trehaloze u sok, vrijednost antioksidativne aktivnosti iznosila je 10,87 µmol TE/100 mL, a dodatkom maltoze 11,73 µmol TE/100 mL. Nešto manji rezultati dobiveni su FRAP metodom gdje se vrijednost antioksidativne aktivnosti povećava dodatkom šećera u uzorak te tako iznosi kod kontrolnog uzorka 4,89 µmol TE/100 mL, kod uzorka s trehalozom 7,34 µmol TE/100 mL, a kod uzorka s dodanom maltozom 7,43 µmol TE/100 mL. Najmanje vrijednosti dobivene su DPPH metodom gdje je antioksidativna aktivnost za kontrolni uzorak 3,08 µmol TE/100 mL. Veće vrijednosti antioksidativne aktivnosti imaju sokovi s dodanim šećerima pa tako vrijednost antioksidativne aktivnosti uzorka s dodanom trehalozom iznosi 4,09 µmol TE/100 mL, a kod uzorka s dodanom maltozom iznosi 3,71 µmol TE/100 mL.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitivan je utjecaj dodatka šećera trehaloze i maltoze u sok višnje na udio fenola, flavonoida, antocijana te polimernu boju i antioksidativnu aktivnost. Antioksidativna aktivnost mjerena je pomoću tri metode (ABTS, DPPH i FRAP). Mjerenja su određena u soku nakon pripreme te u soku koji je skladišten 7 mjeseci na sobnoj temperaturi. Tim paralelnim ispitivanjem, uspoređivani su dobiveni rezultati te je omogućeno praćenje djelovanja dodanih šećera u sok prije i nakon skladištenja, na sve navedene parametre.

Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće:

- Dodatkom šećera (trehaloze i maltoze) u sok od višnje udio fenolnih spojeva povećao se odmah nakon pripreme uzoraka. Tijekom skladištenja došlo je do smanjenja udjela fenola, s time da je najmanje smanjenje utvrđeno u kontrolnom uzorku.
- Nakon pripreme uzoraka udio antocijana u svim uzorcima je bio isti. Iako se udio antocijana smanjuje nakon stajanja kroz određeno vrijeme, trehaloza i maltoza pospješuju očuvanje određenog udjela antocijana.
- Antioksidativna aktivnost mjerena ABTS metodom, nakon pripreme uzorka se smanjila dodatkom šećera. Istim mjerenjem se antioksidativna aktivnost smanjila i nakon skladištenja uzoraka tijekom 7 mjeseci na sobnoj temperaturi, ali uzorci s dodatkom šećera imaju veće vrijednosti antioksidativne aktivnosti.
- FRAP metodom, antioksidativna aktivnost se smanjuje dodatkom trehaloze i maltoze u ispitivani uzorak soka, nakon pripreme. Nakon skladištenja uzorka, vrijednost antioksidativne aktivnosti je veća u uzorcima s dodatkom šećera.
- Primjenom DPPH metode, dobiven je drugačiji trend u odnosu na ABTS i FRAP metode. Antioksidativna aktivnost mjerena DPPH metodom nakon pripreme uzoraka je bila najviša u uzorku s dodatkom trehaloze. Nakon skladištenja uzorci s dodatkom šećera imali su veće vrijednosti antioksidativne aktivnosti.

6. LITERATURA

Adams JB: Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3 glycosides of cyanidin. I. In acidified aqueous solution at 100.deg. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 24, 747-762, 1973.

Babić J: Utjecaj acetiliranja i dodataka na reološka i termofizikalna svojstva škroba kukuruza i tapioke. Disertacija. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Brouillard R: Chemical structure of antocyanins. U *Antocyanins as Food Colors*, Academic Press Inc., New York, 1982.

Choi Y, Cho KW, Jeong K, Jung S: Molecular dynamics simulations of trehalose as a 'dynamic reducer' for solvent water molecules in the hydration shell. *Carbohydrate Research,* 341, 1020–1028, 2006.

Ćujić N, Kundaković T, Šavikin T: Antocijani-Kemijska analiza i biološka aktivnost. *Lekovite sirovine*, 33, 19-37, 2013.

Dao LT, Takeoka GR, Edwards RH, Berrios JDJ: Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:3564-3569, 1998.

De Pascual TS, Sanchez BS: Anthocyanins, from plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 281 299, 2008.

Delgado-Vargas F, Jiménez AR, Paredes-López O: Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Journal of Food Science and Nutrition*, 40(3), 173–289, 2000.

Francis J: Food colorants: anthocyanins. *Food Science and nutrition*, 28:273-314, 1989.

Giusti MM, Rodriguez-Saona LE, Wrolstad RE: Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food* Chemistry, 47:4631-4637, 1999.

Gharras, HE: Polyphenols: food sources, properties and applications. *International Journal of Food Science and Technology,* 44:2512–2518, 2009.

Gordon MH: The development of oxidative rancidity in foods. U *Antioxidants in food*. Woodhead Publishing Ltd, 2001.

Gould K, Davies K, Winefield C (2009.): Anthocyanins, Biosynthesis, Functions and Applications, Springer.

Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN: Antioxidant activity of berryphenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 46(10), 4107–4112, 1998.

Hakkinen S: Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. *Disertacija*. Kuopio University, Finland, 2000.

Hollman PC, Bijsman MN, van Gameren Y, Cnossen EP, de Vries JH, Katan MB: The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research,* 31:569–573, 1999.

Huang HT: Decolorization of anthocyanins by fungal enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3: 141-146, 1955.

Huang HT: The kinetics of the decolorization of anthocyanins by fungal anthocyanase. *Journal of the American Chemical Society*, 78: 2390-2393, 1956.

Jackman RL, Yada RY, Tung MA, Speers RA: Anthocyanins as food colorants. *Journal of Food Biochemistry*, 11:201-247, 1987.

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Katalinić V: Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade. Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2006.

Kaur C, Kapoor HC: Antyoxidants in fruits and vegetables – the millennium's Health. Review. *Interernational Journal of Food Science and Technology*, 36:703-725, 2001.

Kopjar M: Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda. *Disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Krifi B, Chouteau F, Boudrant J, Metche M: Degradation of anthocyanins from blood orange juices. *International Journal of Food Science and Technology,* 35:275-283, 2000.

Maccarone E, Maccarrone A, Rapisarda P: Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *Journal of Food Science*, 50: 901-904, 1985.

Mattila P, Hellström J, Törrönen R: Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7193-7199, 2006.

Mazza G, Brouillard R: Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, 25:207-225, 1987.

Naczk M, Shahidi F: Phenolics in cereal, fruits and vegetables: Occurrence extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523-1542. 2006.

Pérez-Jiménez J, Arranz S, Tabernero M, Díaz-Rubio ME, Serrano J, Goñi I, i sur.: Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International,* 41, 274−285, 2008.

Poei-Langston MS, Wrolstad RE: Color degradation in an ascorbic acid anthocyaninflavanol model system. *Journal of Food Science*, 46:1218-1236, 1981.

Rastija V, Medić-Šarić M: Kromatografske analize polifenola. *Kemija u industriji.* 58(3), 121-128, 2009.

Rein MJ: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. *Disertacija.* Sveučilište Helsinki, Helsinki, 2005.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G: Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. *Free Radical Biology and Medicine,* 20, 56-396, 1996.

Šubarić D, Kopjar M, Ačkar Đ: Polifenoli i zdravlje. U *Zbornik radova i sažetaka sa međunarodnog seminara „Dodaci prehrani u zdravlju i bolesti".* Tuzla, 32-39, 2010.

Torronen, R., 2000: Flavonols and ellagic acid in berries. *Recent Advances in Agricultural and Food Chemistry*, 1:31-37.

Van Acker SABE, De Groot MJ, van den Berg DJ, Tromp MNJL, den Kelder GDO, van der Vijgh WJF, Bast A: A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoid. *Chemical Research in Toxicology*, 9:1305–1312, 1996.

Van Dijak P, Colavizza D, Smet P, Thevelein JM: Diferential importance of trehalose in stress resistance in fermenting and nonfermentong Saccharomyces cerevisiae cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 109-115, 1995.

Vennat B, Bos MA, Pourrat A, Bastide P: Procyanidins from tormentil: fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17:1613–1615, 1994.

Von Elbe JH, Schwartz SJ: Colorants. U *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.

Web 1 - http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/vocarstvo/vocne-vrste/visnja

Web 2 - http://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/visnja

Web 3 -https://farmacologiaoculare.wordpress.com/2009/06/19/polifenoli-facciamo-un-po-dordine/

Web 4 - http://file.scirp.org/Html/4-4600022_6167.htm

Web 5 - http://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=maltoza