Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka

Lončarić, Ante

Doctoral thesis / Disertacija

2014

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:109:366005

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

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Ante Lončarić, mag. ing. techn. aliment.

UTJECAJ DODATKA ŠEĆERA I PRAHA KORE JABUKA NA UDIO POLIFENOLA I ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST KAŠA OD JABUKA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Osijek, studeni 2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DOKTORSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Poslijediplomski sveučilišni (doktorski) studij Prehrambeno inženjerstvo
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za tehnologiju voća i povrća
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na VII. sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 28. travnja 2014.
Voditelj: *Prof. dr. sc. Vlasta Piližota*

Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka

Ante Lončarić, 38/D

Sažetak:
Cilj rada je bio ispitati utjecaj šećera (glukoze, fruktoze, saharoze i trehaloze) na očuvanje polifenolnih spojeva i antioksidativnu aktivnost kaša od jabuka pripremljenih zamrzavanjem i dehidratacijom (liofilizacijom). Istraživanje je obuhvatilo ispitivanje dviju sorti jabuka (*Granny Smith* i *Gold Rush*) kroz dvije proizvodne sezone, a također je obuhvatilo i mogućnost iskorištavanja nusprodukta industrije voća, koru jabuke, koja se često tretira kao otpad pri preradi, a kojom bi se (kao dodatak) obogaćivala kaša od jabuka.
Rezultati su pokazali da dodatak šećera i praha kore jabuka znakovito utječe na očuvanje odnosno povećanje polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti procesiranih kaša jabuka u odnosu na kaše jabuka bez dodataka. Od ispitivanih šećera trehaloza je najviše utjecala na očuvanje promatranih parametara dok je glukoza imala najmanji utjecaj.
Nakon skladištenja uzorci s dodatkom šećera i praha kore jabuka su i dalje imali veći sadržaj polifenola i antioksidacijsku aktivnosti u usporedbi s kontrolnim uzorcima.

Ključne riječi: Kaša od jabuka, polifenolni spojevi, antioksidacijska aktivnost, šećeri, liofilizacija i zamrzavanje.

Rad sadrži: 136 stranica
34 slike
39 tablica
1 prilog
201 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar	predsjednik
2.	prof. dr.sc. Vlasta Piližota	član-mentor
3.	prof. dr. sc. Branka Levaj	član
4.	izv. prof. dr. sc. Jurislav Babić	zamjena člana

Datum obrane: 24. studeni 2014.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.; Rektoratu sveučilišta u Osijeku; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici u Osijeku; Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu; Sveučilišnoj knjižnici u Rijeci; Sveučilišnoj knjižnici u Splitu; Sveučilišna knjižnica u Puli; Sveučilišna knjižnica u Zadru; Sveučilišna knjižnica u Dubrovniku

BASIC DOCUMENTATION CARD

DOCTORAL THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Postgraduate University Study-Food Engineering
Department of Food Technologies
Subdepartment of fruit and vegetables technology
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. VII held on April 14, 2014.
Mentor: Vlasta Piližota, PhD, prof.

EFFECT OF SUGARS AND APPLE PEEL POWDER ON POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN APPLE PUREE

Ante Lončarić, 38/D

Summary:
The aim of this research was to determine the influence of sugars (glucose, fructose, sucrose and trehalose) on retention of polyphenols and antioxidative activity of processed (frozen and freeze-dried) apple puree. The research included examination of two apple varieties (*Granny Smith* and the *Gold Rush*) through two production seasons, and also include the possibility of exploiting by-product from fruit industry, apple peels, which are often treated as waste for enrichment of apple puree.
Results showed that the addition of sugars and apple peel powder resulted in retention of polyphenols and antioxidative activity in comparison to samples without addition of additives. The addition of trehalose had the highest impact on polyphenol and antioxidant activity retention and glucose the lowest.
After storage samples with sugar and apple peel powder addition had higher content of polyphenols and antioxidative activity in comparison to control samples.

Key words: Apple puree, polyphenol compounds, antioxidant activity, sugars, freez-drying and freezing.

Thesis contains: 136 pages
34 figures
39 tables
1 supplement
201 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Mirela Kopjar, PhD, associate prof. — chair person
2. Vlasta Piližota, PhD, prof. — supervisor
3. Branka Levaj, PhD, prof. — member
4. Jurislav Babić, PhD, associate prof. — stand-in

Defense date: November 24, 2014.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, President's office; University Library in Osijek; University Library in Zagreb; University Library in Rijeka; University Library in Split; University Library in Pula; University Library in Zadar; Universty Library in Dubrovnik

Zahvaljujem se akademkinji Vlasti Piližoti na pomoći oko definiranja teme, te usmjeravanju tijekom izrade i pisanja doktorskog rada. Profesorice, hvala na prenesenom znanju, na bezrezervnoj podršci i razumijevanju.

Zahvaljujem se Teri, Neli i Mireli, na pomoći u svakoj prilici kada sam ih trebao, te na toploj i prijateljskoj atmosferi.

Na moralnoj podršci zahvaljujem se kumovima i svim svojim prijateljima….

Zahvaljujem se svojoj obitelji, posebno mami na ljubavi, razumijevanju, žrtvovanju i nesebičnoj pomoći tijekom cijelog života.

Konačno, neizmjerna hvala Martini na beskrajnom strpljenju, razumijevanju, stalnoj potpori, te ljubavi i povjerenju koje mi je pružila tijekom ovog putovanja.

Sadržaj

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 3
2. 1. JABUKA 5
2. 1. 1. Podrijetlo jabuke 7
2. 1. 2. Proizvodnja jabuka 7
2. 1. 3. Kakvoća ploda jabuke 9
2. 1. 4. Uvjeti skladištenja jabuka 10
2. 1. 5. *Granny Smith* 12
2. 1. 6. *Gold Rush* 14
2. 1. 7. Ljekovitost jabuke 15
2. 2. POLIFENOLI 20
2. 2. 1. Biosinteza polifenola 22
2. 2. 2. Klasifikacija polifenola 24
2. 2. 3. Kemijska struktura flavonoida i fenolnih kiselina 24
2. 2. 3. 1. Flavonoidi 24
2. 2. 3. 2. Fenolne kiseline 30
2. 2. 4. Stabilnost polifenola tijekom procesiranja i skladištenja 33
2. 3. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST 34
2. 4. ŠEĆERI 40
2. 4. 1. Glukoza 40
2. 4. 2. Fruktoza 40
2. 4. 3. Saharoza 41
2. 4. 4. Trehaloza 42
2. 5. Nusprodukti prerađivačke industrije voća i povrća 44
3. EKSPERIMENTALNI DIO 50
3. 1. ZADATAK 50
3. 2. MATERIJALI I METODE 52
3. 2. 1. Materijali 52
3. 2. 2. Metode 53
3. 2. 2. 1. Priprema kaše 53
3. 2. 2. 2. Priprema praha kore jabuka 53
3. 2. 2. 3. Priprema uzoraka kaše od jabuka zamrzavanjem i liofilizacijom 53

3. 2. 2. 4. Određivanje suhe tvari sušenjem u vakuumu 54
3. 2. 2. 5. Mjerenje topljive suhe tvari refraktometrom 55
3. 2. 2. 6. Određivanje kiselina (titrimetrijski) 55
3. 2. 2. 7. Određivanje šećera po Luff-Schoorl-u 55
3. 2. 2. 8. Određivanje askorbinske kiseline 57
3. 2. 2. 9. Određivanje tvrdoće penetrometrom 59
3. 2. 2. 10. Određivanje pH vrijednosti 59
3. 2. 2. 11. Priprema ekstrakta za analizu ukupnih polifenola i antioksidacijsku aktivnost 59
3. 2. 2. 12. Određivanje ukupnih polifenola 59
3. 2. 2. 13. Određivanje antioksidacijske aktivnosti 60
3. 2. 2. 14. Određivanje polifenola HPLC metodom 61
3. 2. 2. 15. Statistička obrada podataka 64
4. REZULTATI 65
5. RASPRAVA 96
6. ZAKLJUČCI 114
7. LITERATURA 117
8. PRILOZI 134

Popis oznaka, kratica i simbola

ABTS 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)

ANR Antocijanidin reduktaza

ANS Antocijanidin sintetaze

AOA Antioksidacijska aktivnost (*engl.* Antioxidative Activity)

CVD Kardiovaskularne bolesti (*engl.* Cardiovascular Disease)

DCIP 2,6-diklorfenolindofenol

DHC Dihidrohalkoni

DNA Deoksiribonukleinska kiselina (engl. Deoxyribonucleic Acid)

DPPH 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

DW Količina izražena na masu osušenog voća (engl. Dry Weight)

FL Flavonoidi (*engl.* Flavonoids)

FW Količina izražena na masu svježeg voća (engl. Fresh Weight)

HPLC Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. High-Performance Liquid Chromatography)

LAR Leukoantocijanidin reduktaze

LDL Lipoprotein niske gustoće (engl. Low Density Lipoprotein)

LOD Granica detekcije (engl. Llimit of Detection)

LOQ Granica kvantifikacije (engl. Limit of Quantification)

NA Normalna atmosfera

CA Kontrolirana atmosfera (*engl.* Controlled Atmosphere)

PDA PDA detektor (engl. Photo Dioda Array Detector)

TPC Ukupni polifenolni spojevi (*engl.* Total Polyphenol Content)

1. UVOD

Zbog sve većih zahtjeva potrošača za što kvalitetnijim prehrambenim proizvodima današnji trendovi u unapređenju proizvodnje postojećih proizvoda i poluproizvoda, te u razvoju novih proizvoda od voća i povrća su: minimalno procesiranje, očuvanje nutritivne vrijednosti i izvorne kakvoće sirovine te proizvodi s tzv. „dodanom vrijednosti“ *(engl. "added value").* Nutritivna vrijednost proizvoda kao i organoleptička svojstva (boja, aroma, tekstura) posebice kod voća i povrća su jako važni parametri kvalitete koji utječu na sklonost i ponašanje kupaca. Postoje različiti pristupi kako bi se poboljšala kvaliteta prehrambenih proizvoda; jedan je unapređenje postojećih procesa, a drugi je dodavanje različitih sastojaka u proizvode koji mogu djelovati na očuvanje i/ili nadomjestak nutritivnih tvari. Procesi koji su se pokazali superiornijim su oni u kojima se primjenjuju znatno blaži uvjeti procesiranja kao na primjer dehidratacija s prethodnim zamrzavanjem hrane tj. liofilizacija. Dosadašnja istraživanja su pokazala da određeni dodaci kao što su ugljikohidrati i/ili otopine nekih polimera utječu na očuvanje esencijalnih i ne esencijalnih spojeva različitim mehanizmima (ugradnja unutar dodataka – „aditiva“, zamjena vode, staklasti prijelaz i kemijska stabilnost). Velika grupa prehrambenih dodataka koji se dodaju u prehrambene proizvode su sladila (prirodna i/ili umjetna), a najčešće se koriste saharoza, invertni šećer i glukozni i fruktozni sirupi.

U voću i povrću, ali i njihovim proizvodima, se osim esencijalnih mikronutrijenata kao što su vitamini i minerali nalaze i spojevi koji nisu esencijalni, ali su vrlo važni jer imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. U takve spojeve spadaju različiti polifenolni spojevi (flavonoidi, fenolne kiseline). Polifenolni spojevi imaju važnu ulogu u prevenciji različitih bolesti (*engl. „health-promoting” compounds)*. Mnoga istraživanja su pokazala da polifenoli u voću i povrću imaju antikancerogeno, protuupalno, antihepatoksično, antibakterijsko, antivirusno te antialergijsko djelovanje. Pretpostavlja se da je za pozitivno djelovanje polifenola na ljudski organizam, odgovorna njihova antioksidacijska aktivnost. Antioksidacijsko svojstvo polifenola proizlazi iz njihovog redoks svojstva koje im omogućuje djelovanje kao redukcijsko sredstvo, donor vodika, za uklanjanje slobodnih radikala, ali i inhibicije enzima koji povećavaju oksidacijski stres.

Uvjeti rukovanja voćem i povrćem, njihove prerade kao i skladištenje voća i povrća i njihovih proizvoda, dovode do gubitka dijela polifenolnih spojeva, a samim time i nutritivne

vrijednosti. Kako bi se to izbjeglo, tijekom formuliranja prehrambenih proizvoda, treba obratiti pozornost na proces obrade, kao i na odabir aditiva odnosno prehrambenih dodataka. Važno je istaći da u većini slučajeva otpadni nusprodukti u prehrambenoj industriji, npr. voća i povrća (npr. prerada u sokove), mogu imati isti ili čak i veći sadržaj sekundarnih metabolita (ne esencijalnih spojeva) od finalnog proizvoda čemu se sve više pridaje značaj za korištenje takvih nusprodukata za obogaćivanje cijelog niza proizvoda.

Istraživanja kojima je cilj bio ispitati mogućnost korištenja tzv. ''korisnog otpada'' ili nusprodukata prerade voća i povrća već su pokazala dobre rezultate te su već omogućila proizvodnju nekih vrsta proizvoda tipa ''funkcionalne hrane'' ili dodataka prehrani koji bi imali veće biološko djelovanje.

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj, prije svega, šećera, monosaharida i disaharida (1 i 5%) na polifenolne spojeve u kaši jabuke, tijekom postupaka dehidratacije (liofilizacijom) i zamrzavanja tijekom skladištenja kaše pri temperaturi - 18 °C (zamrznuti uzorci) i sobnoj temperaturi (dehidratirani uzorci). Istraživanjima se je želio utvrditi i utjecaj dodatka dehidratirane kore jabuke (3 i 5%) na povećanje udjela polifenolnih spojeva, odnosno obogaćivanje kaše ovim visokovrijednom spojevima. Istraživanja su provedena s uzorcima kaše od jabuka (sorti *Granny Smith* i *Gold Rush*) sa i bez dodatka šećera i dehidratirane kore. Osim toga, iskorištavanjem tzv. otpada prehrambene industrije, u ovom slučaju prerade voća i povrća, smanjio bi se i otpad koji se najčešće odlaže u okoliš.

2. TEORIJSKI DIO

U današnje vrijeme postoji sve veći interes za pronalaženjem prirodnih tzv. ''fitokemikalija'' odnosno spojeva koji se nalaze u biljkama, kao zamjene za umjetno dobivene tvari, koje se inače koriste u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ideja o korištenju prirodnih tvari je prepoznata i od strane potrošača budući da postoji sve veća briga o utjecaju sintetičkih tvari na zdravlje ljudi. Mnogobrojne studije su pokazale da veliki broj tzv. ''fitokemikalija'' koje se nalaze u voću i povrću imaju izrazito povoljan utjecaj na zdravlje ljudi pa ih nazivamo i tvarima ili spojevima koji poboljšavaju zdravlje potrošača (*engl. ''health-promoting'' compounds*). Epidemiološke studije su potvrdile da konzumacija voća i povrća značajno utječe na smanjenje rizika od krvožilnih bolesti i bolesti srca kao i na neke vrste karcinoma (preporuka UN WHO je konzumacija najmanje 400 g voća ili povrća/dan ili 5 porcija/dan). Osim prehrambenih vlakana, navedeni učinci na zdravlje se uglavnom pripisuju organskim mikronutrijentima kao što su: karotenoidi, polifenoli, tokoferoli, vitamin C i drugi (Schieber i sur., 2003.).

Tijekom procesiranja voća, povrća i uljarica nastaju velike količine otpadnih tvari kao što su kora, sjemenke, komina, pogača nakon tiještenja i dr. Na primjer, preradom voća nastaju različite količine otpada ovisno o sirovini i procesu proizvodnje. U Tablici 1 su dani neki podaci o nastanku otpada tijekom procesiranja. Zbrinjavanje takvog otpada predstavlja problem jer podliježe strožim zakonskim ograničenjima.

Tablica 1 Godišnja prerada voća i količine nastalog nusprodukta (Oreopoulou i sur., 2007.)

Voće	Godišnja prerada (milioni t)	Količina nusprodukata (%)	Procijenjena količina otpada (milioni t)
Citrusi	31,2	50	15,6
Jabuke	12,0	25-30	3,0-4,2
Kruške	1,7	NA	-
Breskve (konzervirane)	1,0	NA	-
Grožđe	50,0	15-20	5,0-9,0
Banane	30,0	30	9,0
Kiwi	1,0	30	<0,3

NA - podaci nisu dostupni; t - tona

Biljni otpad je podložan mikrobiološkom kvarenju stoga je prije daljnje upotrebe nužno sušenje kako bi se uklonila voda i zaustavilo kvarenje. Troškovi sušenja, skladištenja i transporta predstavljaju dodatna ekonomska opterećenja kada se razmišlja o iskorištenju otpada. Zbog navedenog često se poljoprivredni otpad koristi kao hrana za stoku ili se odlaže

na poljima u vidu gnojiva. Međutim, ideja o korištenju otpada kao nusprodukta za daljnje iskorištavanje za proizvodnju aditiva i prehrambenih dodataka s visokom nutritivnom vrijednošću je pobudila veliki interes jer se iskorištenjem nusprodukata u konačnici može povećati i vrijednost proizvoda.

Poznato je da su nusprodukti važan izvor šećera, minerala, organskih kiselina, prehrambenih vlakana i bioaktivnih tvari kao što su polifenoli. Polifenoli su vrlo raznolika grupa spojeva, a obuhvaćaju jednostavne polifenole, polifenolne kiseline (benzojeve i cimetne derivate), lignane, lignine, kumarine, flavonoide tanine i druge. Većina polifenolnih tvari imaju antioksidacijsku aktivnost (van Acker i sur., 1998.; Nijveldt i sur., 2001.). Osim antioksidacijske aktivnosti polifenoli imaju antibakterijska, antivirusna, antiupalna svojstva, smanjuju rizik od nastanka tumora i krvožilnih bolesti (Boyer i Liu, 2004.). Stoga iskorištavanje otpada kao nusprodukata za dobivanje aditiva i prehrambenih dodatak koji sadrže polifenole također može biti ekonomski isplativi.

Jabuke su vrlo poznato i rasprostranjeno voće, s godišnjom svjetskom proizvodnjom koja unazad nekoliko godina iznosi preko 75 miliona tona. Trebalo bi uzeti u obzir nusprodukte nastale preradom ovog voća jer na primjer, samo proizvodnjom soka od jabuke nastaje 25-35% komine kao nusprodukt (Schieber i sur., 2003.; WAPA, 2013.; FAOSTAT, 2014.).

Komina jabuke je bogat izvor polifenola, minerala i prehrambenih vlakana (Figuerola i sur., 2007.; Lavelli i Corti, 2011.; Grigoras i sur., 2013.; Xin i sur., 2014.). Iako se najčešće koristi kao stočna hrana, proizvodnja pektina predstavlja najekonomičniji pristup u iskorištavanju tog nusprodukta, a i sa stanovišta zaštite okoliša. Komina nakon prerade jabuka u sok sadrži 10-15% pektina računato na suhoj bazi, a ekstrahira se uz pomoć kiselina i taloženjem. Pektin dobiven ekstrakcijom iz komine jabuka ima bolja želirajuća svojstva od pektina dobivenog iz citrus plodova, međutim smeđa boja pektina dobivenog iz komine jabuka ograničava korištenje takvog pektina u po boji svjetlijim proizvodima. Smeđa boja pektina potječe od oksidiranih polifenolnih spojeva koji se koekstrahiraju i djelomično talože zajedno s pektinom. Komina jabuka se je pokazala kao dobar izvor polifenola koji se uglavnom nalaze u kori jabuka (Schieber i sur. 2001). Polifenoli iz kore jabuka tijekom tiještenja u manjoj mjeri prelaze u sok. Glavni polifenoli koji su identificirani u jabukama su katehin, klorogenska kiselina, floretin glikozid, kvercetin glikozidi i procijanidini (Lu i Foo,

1997.; Foo i Lu, 1999.; Schieber i sur. 2001.; Boyer i Liu, 2004.; Markowski i Płocharski, 2006.; Ćetković i sur., 2008.; Kalinowskaa i sur., 2014.).

Konvencionalna proizvodnja soka tiještenjem jabuka, s ili bez dodatka enzima, rezultira dobivanjem soka koji je siromašan s polifenolnim tvarima i sa samo 3-10% antioksidacijske aktivnosti sirovine iz koje je sok dobiven (van der Sluis i sur., 2002.). S obzirom na činjenicu da većina polifenola nakon tiještenja ostaje u komini jabuka, komercijalna eksploatacija ovog nusprodukta je obećavajuća. Uzimajući u obzir iskorištenje nusprodukata u vidu dobivanja dodatka bogatog polifenolima trebalo bi odvojiti, na neki način, samo koru i iz nje izdvojiti polifenole. Kora jabuka nastaje kao nusprodukt prilikom proizvodnje sušenih jabuka, kompota i raznih umaka od jabuka, a budući da sadrži 3-5 puta veću količinu polifenolnih spojeva od pulpe jabuka predstavlja idealnu sirovinu za proizvodnju takvog dodatka (Henríquez i sur., 2010.).

2. 1. JABUKA

Jabuka (Malus domestica Borkh.) je višegodišnja biljka koja pripada porodici ruža kojoj pripadaju još kruške, trešnje, šljive, breskve, maline i jagode. Znanstvena klasifikacija jabuka je dana u Tablici 2.

Tablica 2 Znanstvena klasifikacija jabuka (Luby, 2003.)

Carstvo	Plantae
Divizija	Magnoliophyta
Razred	Magnoliopsida
Red	Rosales
Porodica	Rosaceae
Potporodica	Maloideae
Rod	*Malus*
Vrsta	*M. domestica*

Stablo jabuke čini korijen, podzemni organ, čija je osnovna funkcija učvršćivanje voćke u tlu i fiziološko opskrbljivanje voćke vodom iz tla i u njoj otopljenim mineralnim tvarima. Zatim deblo, ne razgranati dio voćke između korjenova vrata i krošnje čija je osnovna funkcija provođenje i skladištenje hranjivih tvari. Prema visini debla voćke se nazivaju niskostablašice, srednjostablašice i visokostablašice. Krošnja je razgranati dio stabla, a sastoji se od skeletnih grana i ogranaka. Skeletne grane: daju krošnji osnovni oblik, a čine ih

provodnica i primarne grane. Ogranci su grane koje se razvijaju na skeletnim granama, a nose najmlađe izboje s pupovima, lišćem, cvjetovima i plodovima (Marini, 2009.).

Pupovi se dijele prema organu koji će se iz njih razviti (vegetativni, generativni i mješoviti). Iz vegetativnih se pupova razvijaju korijen, mladice i lišće, iz generativnih cvijet i cvat, a iz mješovitih pupova razvijaju se mladice s listovima i cvjetovima. Vegetativni pupovi mogu biti drvni i lisni. Generativni pupovi mogu biti cvjetni, cvatni i mješoviti (Marini, 2009.; Luby, 2003.).

List jabuke je vegetativni organ u kojem se odvijaju fotosinteza, disimilacija ili disanje i transpiracija. Osnovni je organ za stvaranje osnovne organske tvari, pa zbog toga razvoj, plodnost i kvaliteta plodova ovise o količini i zdravlju lišća. Osnovni su dijelovi lista rukavac, peteljka i plojka (Luby, 2003.).

Iz cvijeta se razvija plod sa sjemenkama. Dijelovi cvijeta su stapka, cvjetna loža, čaška, vjenčić, tučak i prašnici. Listići čaške su lapovi, a listići vjenčića su latice. Tučak (ženski rasplodni organ) se sastoji od plodnice, vrata i njuške. Plodnica je proširena i u njoj se nalaze sjemeni zameci iz kojih se nakon oplodnje razvijaju sjemenke. Vrat tučka može biti jednostruk ili višestruk. Završava ljepljivom njuškom na kojoj se zadržava polen prašnika. Prašnik (muški rasplodni organ) se sastoji od prašnice i prašničke niti. Svaka prašnica podijeljena je na četiri dijela u kojima se stvaraju peludna zrnca. Nakon oplodnje plodovi počinju rasti. Prosječna masa ploda jabuke je od 150 do 160 g, ali može doseći masu i od 600 g. Plodovi se mogu razlikovati prema obliku, veličini, boji, teksturi, vremenu sazrijevanja, sadržaju nutritivnih tvari itd. (Luby, 2003.). Plod jabuke građen je od peteljke, kore, mesnatog usploda, sjemene lože, sjemenke i listića čaške (Slika 1).



Slika 1 Građa ploda jabuke: 1. peteljka; 2. kore; 3. meso; 4. sjemena loža; 5. sjemenke; 6. čaška

2. 1. 1. Podrijetlo jabuke

Domaća jabuka *Malus domestica* podrijetlom je iz centralne Azije. Borkhausen je prvi opisao jabuku (*Malus domestica*) 1803. godine, te je vjerovao kako je nastala križanjem *M. sylvestris* Mill., *M. pumila* i *M. sylvestris* var. *preacox* (Pall.) Ponomar. Međutim, trenutno se smatra da je za nastanak današnje domaće jabuke bila ključna vrsta, *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem. *Malus sieversii* je divlja jabuka koja se može još i danas pronaći na području centralne Azije na nadmorskim visinama od otprilike 1200 do 1800 m. Ljudi koji su nastanjivali ta područja poznati su po nomadskom načinu življenja što je doprinijelo širenju jabuke na ostale zemlje (Luby, 2003.).

Jabuke su bile omiljeno voće starih Grka i Rimljana, i njihova popularnost se od tada nije smanjila. Kroz povijest su bile nazivane „zabranjenim voćem“, „voćem znanja“ i u norveškoj mitologiji „voćem koje obećava vječnu mladost“ (Mateljan, 2009.). Drvo jabuke je postajalo sve više zastupljeno u Europi u 13. stoljeću kada se sadilo u kraljevskim vrtovima i u vrtovima običnog puka. Jabuka se konzumirala svježa ali se više cijenila kuhana i dezintegrirana s dodatkom začina i šećera odnosno meda. Do 17. stoljeća bilo je poznato i opisano 120 sorti u zapadnoj Europi, a sredinom 19. stoljeća bilo je poznato najmanje 1200 sorti. U 18. i 19. stoljeću jabuka se počinje klasificirati prema njenoj krajnjoj upotrebi. Aromatične desertne sorte su se cijenile za upotrebu u svježem stanju dok su aromatične sorte s umjerenim sadržajem kiselina i tanina bile korištene za izradu voćnog vina od jabuke (Luby, 2003.). Kolonisti koji su migrirali u Sjevernu Ameriku posadili su prve jabuke oko 1600. godine. No osoba koja je zaslužna za uspjeh ove voćke je John Chapman koji je oko 1800. godine bos prepješačio oko 260 milijuna kvadratnih metara sadeći stabla jabuka (Mateljan, 2009.). Početkom 20. stoljeća i otvaranjem tržišta, rast uvoza jabuka iz Amerike, Novog Zelanda, Južne Afrike i Australije, prisilio je europske proizvođače jabuka da smanje ukupan broj voćnjaka i povećaju površine voćnjaka, te prihvate nove sorte koje su dolazile iz „novoga svijeta“ (Luby, 2003.).

2. 1. 2. Proizvodnja jabuka

Od kontinentalnih voćaka jabuka je po količinskoj proizvodnji plodova na prvom mjestu u svijetu. Inače, u sveukupnoj svjetskoj proizvodnji voća zauzima treće mjesto, odmah iza agruma i banana. Proizvodnja jabuka na svjetskoj razini je u stalnom porastu. U 2010. godini

u Kini je proizvedeno 47,86% od ukupne proizvodnje jabuka na svijetu, slijedi je Europa s 19,96%, SAD sa 6,06%. U Hrvatskoj je u 2010. godini proizvedeno 0,15% od ukupne proizvodnje jabuka odnosno 106865 t (FAOSTAT, 2014.). Po količinskoj proizvodnji, to je najraširenija voćna vrsta na području Republike Hrvatske, osobito u kontinentalnom dijelu. Može se uzgajati i u mediteranskom dijelu, uglavnom u zaleđu (Radunić i sur., 2011.). Velika sposobnost prilagođavanja različitim prirodnim uvjetima, lako razmnožavanje, visoka rodnost i kvaliteta ploda te potrošnja tijekom cijele godine osiguravaju joj značajno mjesto u voćarskom svijetu. Proizvodno potrošna bilanca jabuka 2000. - 2008. godine u Hrvatskoj prikazana je u Tablici 3.

Tablica 3 Proizvodno potrošna bilanca jabuka u razdoblju od 2000 do 2008. godine (1000 t) (Cerjak i sur. 2011.)

	2000.	**2001.**	**2002.**	**2003.**	**2004.**	**2005.**	**2006.**	**2007.**	**2008.**
Površine (1000 ha)	4,192	4,826	5,366	6,220	5,253	5,625	5,863	5,993	6,404
Prinos (100 kg/ha)									
Intenzivna proizvodnja	152,680	46,430	82,300	74,500	120,110	101,860	98,190	105,110	89,540
Intenzivna proizvodnja za tržište	64,077	22,405	44,160	46,340	63,092	57,298	57,571	62,991	57,341
Proizvodnja u ekstenzivnim voćnjacima (pretežno za vlastite potrebe)	17,262	10,056	14,983	11,714	13,897	12,384	16,129	17,183	22,860
Ukupna proizvodnja	81,339	32,461	59,143	58,054	76,989	69,682	73,700	80,174	80,201
Ukupan uvoz	8,687	47,020	42,169	34,371	37,621	45,421	41,450	28,487	27,073
EU	4,536	13,898	15,339	13,981	12,844	39,266	32,939	18,985	16,609
Ukupni resursi	90,026	79,481	101,312	92,425	114,610	115,103	115,150	108,661	107,274
Ukupan izvoz	2,309	1,622	1,541	4,767	24,266	36,968	16,574	27,725	13,235
EU	0,378	0,185	0,095	2,799	16,912	25,600	8,571	17,907	4,640
Početne zalihe	0,097	0,037	0,010	0,055	0,071	0,067	0,088	0,067	0,060
Konačne zalihe	0,262	0,010	0,055	0,071	0,067	0,088	0,067	0,058	0,030
Promjena zaliha	-0,165	0,027	-0,045	-0,016	0,004	-0,021	0,021	0,009	0,030
Domaća potrošnja	87,455	77,849	99,716	87,587	90,277	78,047	98,509	80,878	94,009
Gubici	2,886	2,569	3,291	2,890	2,979	2,576	3,251	2,669	3,102
Industrijska potrošnja Neprehrambeni proizvodi i alkoholna pića	2,624	2,335	2,991	2,628	2,708	2,341	2,955	2,426	2,820
Industrijska potrošnja Prehrambeni proizvodi	17,146	2,337	4,305	4,100	8,967	6,937	6,501	6,537	6,614
Ljudska potrošnja	81,945	72,945	93,434	82,069	84,590	73,130	92,303	75,783	88,087
Po glavi stanovnika/kg	18,515	16,429	21,044	18,483	19,054	16,463	20,789	17,084	19,866
Stupanj samodostatnosti	93,007	41,697	59,312	66,281	85,281	89,282	74,815	99,130	85,312

Iz Tablice 3 je vidljivo da se 90% jabuka u Hrvatskoj konzumira u svježem stanju, a samo 10% ukupne domaće proizvodnje se koristi u industrijske svrhe, od čega se značajno veće količine jabuka troše za preradu u prehrambene proizvode nego za neprehrambene proizvode i alkoholna pića (Cerjak i sur., 2011.). Svjetskom proizvodnjom trenutno dominira nekoliko sorti jabuka: *Delicious, Golden Delicious, McIntosh i Jonagold* proizvedene u sjevernoj Americi; *Breburn* i *Gala* s Novog Zelanda, *Fuji* iz Japana i *Granny Smith* iz Australije. Iako su i mnoge druge sorte lokalno važne, navedene sorte dominiraju proizvodnjom i uzgojnim programom širom svijeta (Luby, 2003.).

2. 1. 3. Kakvoća ploda jabuke

Postoje mnogi kriteriji za podjelu sorti jabuka kao što je npr. podjela prema morfološkim i biološkim odnosno organoleptičkim osobinama plodova (krupnoći, obliku, boji, sočnosti, intenzitetu mirisa, okusu, teksturi, i dr.), ali jedan od najznačajnijih kriterija je podjela sorata jabuke s obzirom na vrijeme dozrijevanja.

Prema vremenu dozrijevanja razlikuju se:

- ljetne ili rane,
- jesenske ili srednje,
- zimske ili kasne sorte jabuka.

Vrijeme dozrijevanja ovisi o geografskom području uzgoja, nadmorskoj visini, klimatskim čimbenicima, posebno temperaturi i dr. Razlika između ljetnih i zimskih sorti je u tome što su ljetne sorte jabuka namijenjene za potrošnju odmah nakon berbe ili se mogu čuvati u hladnjači kraće vrijeme. Dok jesenske i zimske sorte, ubrane u optimalnom roku berbe, se uglavnom čuvaju nekoliko mjeseci, pa i godinu dana, u hladnjači (Watkins i sur., 2004.).

Kakvoća ploda jabuke definirana je izgledom, aromom, teksturom i nutritivnom vrijednošću. Izgled, aroma i tekstura su čimbenici senzorske prihvatljivosti hrane i predstavljaju najvažnije elemente kod izbora potrošača (Bourne, 2002.; Abbott i sur., 2004.). Kakvoća ploda jabuke ne ovisi samo o sorti i vremenu dozrijevanja. Naime, istraživanja su pokazala da udio nutritivnih tvari ovisi i o boji, položaju ploda na stablu, veličini ploda, zrelosti, vremenskim uvjetima, fiziološkom stanju stabla i tlu. Tako se pokazalo da veće jabuke tamnijih boja dozrele u sjeni sadrže veće količine nutritivnih tvari od manjih, svjetlijih

plodova koji su dozreli na suncu (Planchon i sur., 2004.; Drogoudi i sur., 2007.; Markuszewski i Kopytowski, 2008.; Muresan i sur., 2012.).

Plod jabuke sadrži prosječno 85% vode, 0,26% bjelančevina, 14% ugljikohidrata, 2,4% biljnih vlakana, limunsku, jabučnu kiselinu, aromatične tvari, flavonoide. Energetska vrijednost 100 grama jabuke iznosi oko 218 kJ (52 kcal). Od vitamina sadrži karotenoide, vitamine grupe B, vitamin C i E te od minerala kalij, kalcij, magnezij, fosfor, željezo. Prosječni kemijski sastav jabuke prikazan je u Tablici 4.

2. 1. 4. Uvjeti skladištenja jabuka

Svježe voće koje se bere ljeti, osobito osjetljivo voće i ono koje se prevozi na udaljenija tržišta odmah nakon berbe treba ohladiti (predhlađenje). Tim se procesom usporava dozrijevanje, a kvarenje uzrokovano mikroorganizmima se smanjuje na najmanju moguću razinu. Plodovi namijenjeni duljem čuvanju moraju biti zdravi, bez znakova fiziološkog oboljenja i što ujednačeniji.

Ubrano voće i povrće i nakon branja nastavlja održavati fiziološke procese koji su se odvijali i prije branja. Prije berbe plodovi su se nalazili na biljkama i gubitci koji su nastajali respiracijom i transpiracijom su se nadoknađivali protokom soka, koji je sadržavao vodu, minerale i produkte fotosinteze. Međutim, nakon branja plodovi ovise isključivo o vlastitim rezervama hranjivih tvari i vode. Gubitci vode i hranjivih tvari, koji se koriste tijekom respiracije, se ne mogu nadoknaditi, što za posljedicu ima propadanje plodova.

Respiracija je proces oksidativne degradacije u kojem se složeni organski spojevi (ugljikohidrati, proteini, masti) uz pomoć kisika razgrađuju do jednostavnih konačnih produkata i CO_2 uz oslobađanje topline i energije (DeEll i sur., 2003.). Proces respiracije se može objasniti slijedećom jednadžbom:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 36\ ADP \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O + 36\ ATP \qquad (1)$$

Intenzitet ili stupanj respiracije je pokazatelj mogućeg vremena čuvanja voća odnosno povrća u svježem stanju (opada sa "starenjem" ploda). Zbog visokog stupnja respiracije ljetne sorte jabuka se mogu kraće čuvati od zimskih sorata koje se mogu uspješno čuvati i više od 7 mjeseci (Watkins i sur., 2004.). Intenzitet respiracije ljetnih i zimskih sorata jabuka prikazan je u Tablici 5.

Transpiracija ovisi o morfološkim i anatomskim svojstvima, stupnju zrelosti, mehaničkim povredama, temperaturi i relativnoj vlažnosti zraka. Posljedice transpiracije jabuka su: gubitak na masi, uvenuće, omekšavanje ploda, gubitak sočnosti i nutritivne promjene. Dermalni sistem ploda može regulirati gubitak vode proizvodnjom voska na epidermalnim stanicama (DeEll i sur., 2003.).

Tablica 4 Prosječni kemijski sastav jabuke na 100 g ploda (USDA, National Nutrient Database, 2014.)

Sastav	**Jedinica**	**Količina**
Voda	g	85,56
Energija	kcal	52,00
Proteini	g	0,260
Ukupni lipidi (masti)	g	0,170
Ugljikohidrati	g	13,81
Ukupna prehrambena vlakna	g	2,400
Ukupni šećeri	g	10,39
Minerali		
Kalcij	mg	6,000
Željezo	mg	0,120
Magnezij	mg	5,000
Fosfor	mg	11,00
Kalij	mg	107,0
Natrij	mg	1,000
Cink	mg	0,040
Vitamini		
Vitamin C, askorbinska kiselina	mg	4,600
Tiamin	mg	0,017
Riboflavin	mg	0,026
Niacin	mg	0,091
Vitamin B-6	mg	0,041
Folati, DFE	µg	3,000
Vitamin B-12	µg	0,000
Vitamin A, RAE	µg	3,000
Vitamin A, IU	IU	54,00
Vitamin E (α-tokoferol)	mg	0,180
Vitamin D (D2 + D3)	µg	0,000
Vitamin D	IU	0,000
Vitamin K	µg	2,200
Lipidi		
Ukupne zasićene masne kiseline	g	0,028
Ukupne mononezasićene masne kiseline	g	0,007
Ukupne polinezasićene masne kiseline	g	0,051
Kolesterol	mg	0,000

Tablica 5 Intenzitet respiracije ljetnih i zimskih sorata jabuka (Watkins i sur., 2004.)

Temperatura	**Ljetne sorte**	**Zimske sorte**
	(mg CO_2 /kgh)	
0 °C	3 - 6	2 - 4
5 °C	5 - 11	5 - 7
10 °C	14 - 20	7 - 10
15 °C	18 - 31	9 - 20
20 °C	20 - 41	15 - 25

U današnje vrijeme skladištenje i čuvanje svježeg voća na duži vremenski period odvija se u velikim hladnjačama, pri normalnoj atmosferi zraka (NA) ili u kontroliranoj atmosferi (CA). U CA regulacijom udjela plinova (O_2 i CO_2) utječe se na fiziološke procese plodova tj. onemogućava se odnosno usporava disanje plodova, produkcija i djelovanje etilena, usporava se starenje plodova, produžuje se vrijeme čuvanja, smanjuju se gubici kvalitete i tržišne vrijednosti. Plodovi su ljepše boje, čvršći, manje podložni fiziološkim bolestima.

Prilikom određivanja parametara skladištenja treba uzeti u obzir sortu, vrijeme čuvanja i željeno stanje plodova na kraju skladištenja. Za svaku sortu postoji kritična temperatura ispod koje, u slučaju dužeg čuvanja, dolazi do pojave različitih negativnih fizioloških promjena. Optimalna temperatura čuvanja većine sorti jabuka kreće se od 0 do 3 °C (prema nekim autorima od -1 do 4 °C) (DeEll i sur., 2003.; Watkins i sur., 2004.). Kako ne bi došlo do gubitka mase, isparavanjem vode iz plodova, u rashladnoj komori se mora održavati visoka relativna vlažnost zraka. Za većinu sorti jabuka preporučuje se relativna vlažnost zraka oko 92-93% odnosno prema nekima autorima od 90 do 95%. Relativna vlaga zraka ne smije biti previsoka ni preniska jer će inače doći do velikog pada skladišne sposobnosti plodova, razvoja mikroorganizama, gubljenja kvalitete i jake pojave ožeglina (scalda) (DeEll i sur., 2003.; Watkins i sur., 2004.).

2. 1. 5. *Granny Smith*

Granny Smith je nastala kao slučajni sjemenjak divlje jabuke koju je uzgojila Maria Ann Smith, 1860. godine u Australiji. Jabuka sorte *Granny Smith* je u početku bila jedan od osnovnih proizvoda u supermarketima i jedna od prvih internacionalnih sorti. Ima tvrdu koru i vrlo je pogodna za skladištenje što joj je omogućilo da se brzo proširi svijetom. Za pravilno zrenje potrebna je topla klima, dobro uspijeva na južnoj hemisferi, dok na sjevernoj

hemisferi dobro uspijeva u Francuskoj i toplijim krajevima Sjeverne Amerike. *Granny Smith* je sorta najduže vegetacijske sezone koja se uzgaja u Europi i po redoslijedu berbe nalazi se na posljednjem mjestu. Zaštitni znak *Granny Smith* jabuke je zelena kora za čiji je razvoj potrebno toplo vrijeme tijekom dana i noći. *Granny Smith* može razviti i rumenu boju ukoliko, pri kraju sezone rasta, noći budu hladnije. Kora ploda je čvrsta, a stajanjem postaje voštana, intenzivno zelene boje. Meso ploda je zelenkasto bijele boje, kiselkastog okusa i blage arome, vrlo je čvrsto. Sadržaj kiselina nije u razmjeru s količinom šećera. Diploidna je sorta, cvate srednje kasno i dobar je oprašivač drugim sortama istog vremena cvatnje. Plod je krupan do vrlo krupan, okruglasto konusnog oblika, temeljne tamno zelene boje (Orange Pippin, 2013.). Neke karakteristike jabuke sorte *Granny Smith* dane su u Tablici 6.

Tablica 6 Karakteristike jabuke sorte *Granny Smith* (Orange Pippin, 2013.)

Općenito	***Granny Smith***
Vrsta	Malus domestica
Srodstvo	Pretpostavlja se French Crab i Rome Beauty
Podrijetlo	Australija
Stvorena	1860-tih
Identifikacija	
Boja ploda	Zelena
Boja pulpe	Zelenkasto bijela
Veličina ploda	Krupan-vrlo krupan
Okus	Oštar, kiseo
Upotreba	
	Svježa je dobra za jelo, dobra za kuhanje, tijekom kuhanja zadržava oblik.
Period zrenja	Pred kraj sezone (pred kraj listopada)
Skladištenje	3 mjeseca i više
Uzgoj	
Period cvatnje	Sredinom sezone
Cvjetne grupe	3
Plodnost	Samooprašivanje
Klima	
	Prikladna toplija klima
Otpornost na bolesti	
Čađava krastavost	Mala otpornost
Palež	Mala osjetljivost
Pepelnica	Mala osjetljivost

Uvjeti skladištenja jabuke sorte Granny Smith

Optimalni uvjeti skladištenja jabuke sorte *Granny Smith* su t = 0,5 ± 0,5 °C, RH = 90-95%. Brzina respiracije pri navedenoj temperaturi je od 2 do 4 mL CO_2/kgh, a proizvodnja etilena od 1 do 6 µl/kgh pri 0,5 °C. Etilen može ubrzati i starenje i gubitak čvrstoće, dok se uklanjanjem etilena može smanjiti osjetljivost na palež. Skladištenjem jabuka sorte *Granny Smith* u kontroliranoj atmosferi također se može utjecati na pojavu paleža, ali i na kiselost i čvrstoću. Atmosfera koja sadrži 1,5% kisika + 1,0% ugljikovog dioksida djeluje pozitivno na gore navedene osobine (Mitcham i sur., 1996.).

2. 1. 6. *Gold Rush*

Ime „*Gold Rush*“ se odnosi na zlatnu boju (*engl. gold* - zlato) i bogat i aromatičan okus (*engl. rush* - nenadana navala). Jabuka sorte *Gold Rush* je desertna jabuka glatke kore, specifično razvijena za otpornost prema paleži. Aroma *Gold Rush* jabuke je bogata, tipična za Golden Delicious ali s malo nižom kiselosti (pH). Relativno je nova sorta s kojom proizvođači nemaju previše iskustva, ali pokazuje dobra svojstva kao i Golden Delicious. Sorta *Gold Rush* je dobivena križanjem Golden Deliciousa s nekoliko drugih istraživačkih sorti uključujući Winesap, Melrose, Rome Beauty i *Malus floribunda* – poznatog kao izvor Vf palež - otpornog gena. Nedostatak jabuke sorte *Gold Rusha* je osjetljivost na čađavu krastavost (Orange Pippin, 2013.; Purdue University, 2014.). Neke karakteristike jabuke sorte *Gold Rush* dane su u Tablici 7.

Uvjeti skladištenja jabuke sorte Gold Rush

Gold Rush jabuka je sorta pogodna za skladištenje. Jabuka može zadržati svoj kompleksni okus, svježinu i teksturu i više od 7 mjeseci pri 1 °C. Kiselost *Gold Rush* jabuka nakon branja se regulira hladnim skladištenjem, a rezultat je iznimna kvaliteta jabuke nakon 2-3 mjeseca skladištenja. Plod proizvodi vrlo malo voska na površini epidermalnih stanica, tako da jabuka i nakon sedam mjeseci skladištenja ne postane masna. Budući da vosak pomaže regulirati gubitak vode iz ploda, sadržaj vlage u voću treba regulirati i na druge načine kako bi se spriječila dehidracija. Preporuča se skladištenje u prostorima s povišenim udjelom vlage u zraku RH = 93-95% (Purdue University, 2014.).

Tablica 7 Karakteristike jabuke sorte *Gold Rush* (Orange Pippin, 2013.; Purdue University, 2014.)

Općenito	***Gold Rush***
Vrsta	Malus domestica
Srodstvo	Sjeme Golden Deliciousa
Podrijetlo	Purdue Research Farm, West Lafayette, Indiana, USA, United States
Stvorena	1990-tih
Identifikacija	
Boja ploda	Zlatno/žuta
Boja pulpe	Bijela
Veličina ploda	Srednje velik
Okus	Slatkast
Upotreba	
	Svježa je dobra za jelo, dobra za kuhanje, dobra za proizvodnju soka, dobra za proizvodnju jabukovače (cider).
Period zrenja	Pred kraj sezone (početak studenog)
Skladištenje	Od 3 do 7 mjeseci
Uzgoj	
Period cvatnje	Krajem sezone
Cvjetne grupe	5
Plodnost	Samooprašivanje
Klima	
	Prikladna toplijoj klimi Prikladna umjerenoj klimi Tolerira hladne zime
Otpornost na bolesti	
Čađava krastavost	Osjetljiva
Palež	Vrlo otporna
Pepelnica	Vrlo otporna

2. 1. 7. Ljekovitost jabuke

Danas je popularna izreka: „Jedna jabuka na dan tjera doktora iz kuće van“. To dovoljno govori o važnosti ovog voća u zdravom načinu prehrane. Jabuka je nutritivno osobito zanimljiva zbog bogatog sadržaja raznovrsnih antioksidanasa (flavonoidi, fenoli, vitamin C). Sadrži puno topljivih i netopljivih vlakana. Korisni učinci konzumiranja jabuka na zdravlje se, između ostalog, mogu pripisati i polifenolnim spojevima, skupini sekundarnih biljnih metabolita, od kojih je identificirano nekoliko tisuća različitih spojeva. U jabukama prevladavaju četiri skupine polifenolnih spojeva: flavan-3-oli, fenolne kiseline, dihidrohalkoni i flavonoli. Navedene grupe spojeva su prisutne u monomernim oblicima, a također se mogu

pojavljivati i kao polimeri visokih molekularnih masa (Boyer i Liu, 2004.). Istraživanja su pokazala da se samo spojevi niskih molekularnih masa, uglavnom monomerni polifenoli, mogu apsorbirati u ljudskom organizmu, direktno iz hrane koja sadrži polifenolne spojeve, dok se polifenoli velikih molekularnih masa mogu apsorbirati tek nakon razgradnje mikroflorom u probavnom traktu (Ceymann i sur., 2012.).

Mnoga istraživanja su pokazala da polifenoli u jabukama utječu i na smanjenje rizika od karcinoma, srčanih bolesti, astme, dijabetesa tipa II. Konzumacija jabuka povezana je i s plućnim funkcijama i gubitkom težine (Knekt i sur., 1997.; Marchand i sur., 2000.; Boyer i Liu, 2004.; Ceymann i sur., 2012.). Zbog toga je interes za dobrobit zdravlja u svezi konzumiranja voća i povrća te interes za razumijevanje tipa, broja i načina djelovanja sastojaka, u porastu.

Utjecaj polifenola na kardiovaskularne bolesti (CVD)

Kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok smrti (25976 umrlih osoba), s udjelom od 49,6% u ukupnom mortalitetu 2009. godine u Hrvatskoj (HZJZ, 2014.). Nedavno je postignut konsenzus oko toga da određeni unos hrane i pića koji sadrži relativno visoke udjele flavonoida ima značajnu ulogu u prevenciji rizika od kardiovaskularnih bolesti, kroz poboljšanje funkcija krvnih žila i saniranje upala (Habauzit i Morand, 2012.).

Flavonoidi su važni za očuvanje ''zdravih'' krvnih žila, zbog regulacije propusnosti kapilara i propuštanja O_2, CO_2 i nutrijenata. Oni opuštaju glatke mišiće kardiovaskularnog sustava, što utječe na snižavanje krvnog tlaka i poboljšava cirkulaciju. Ponašaju se kao antioksidansi koji sudjeluju u prevenciji oksidacije lipoproteina niske gustoće (LDL) i prema tome, smanjuju stvaranje plaka koji uzrokuje aterosklerozu (Vauzour i sur., 2010.). Unos flavonoida je povezan sa smanjenjem smrtnosti od koronarnih bolesti kod žena (Knekt i sur., 1996.). To je potvrdilo i istraživanje provedeno sa 38445 žena tijekom šest godina. Navedeno istraživanje je pokazalo smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti za 35% kod žena koje su unosile veće količine flavonoida (Sesso i sur., 2003.). Poznato je da su visoke koncentracije LDL-a, posebno oksidiranog LDL-a, rizični faktori za koronarne bolesti arterija. Ova činjenica objašnjena je oksidativnom hipotezom aterogeneze. Prema ovoj hipotezi, aterom je formiran od strane pjenastih stanica. Flavonoidi štite LDL od oksidacije, što je dokazano *in vitro* studijama. Flavonoidi štite od oksidativnih promjena tako da se direktno vežu s lipoproteinima, inhibirajući oksidaciju te indirektno, nakupljajući se u stanicama arterija, gdje

smanjuju stvaranje pjenastih stanica (Robles-Sardin, 2010.). Za liječenje hipertenzije (povišenog krvnog tlaka) danas se najviše koriste inhibitori angiotenzin konvertaze (ACE). Flavonoidi iz ekstrakta kore jabuke su se pokazali kao kompetitivni inhibitori ACE enzima. Također je utvrđeno da hidroksilne skupine i B prsten imaju važan utjecaj na inhibicijsku aktivnost flavonoida. Istraživanja su pokazala da većina flavonoida inhibira ACE *in vitro,* ali su potrebna daljnja istraživanja na ljudima i životinjama kako bi se utvrdio *in vivo* utjecaj (Balasuriya i sur., 2012.).

Unos katehina i epikatehina je također povezan sa smanjenjem smrtnosti od srčanih bolesti. Za razliku od katehina iz čaja, katehin iz jabuke se bolje apsorbira u organizmu zbog veće biodostupnosti (Arts i sur., 2001.). Istraživanja su pokazala da je konzumacija jabuka povezana i sa smanjenjem rizika od stvaranja ugrušaka krvi, koji mogu uzrokovati srčani udar, moždani udar, plućnu emboliju itd.

Utjecaj polifenola na tumore

Fenolne kiseline su u prirodi uglavnom prisutne u različitim konjugiranim oblicima ili kao esteri. Fenolne kiseline se dijele na hidroksicimetne i hidroksibenzojeve kiseline. Najpoznatiji ester hidroksicimetne kiseline je klorogenska kiselina (5'-kafeoilkina kiselina). Klorogenska kiselina sadrži kava i kinonsku kiselinu. Kava kiselini je pripisana uloga kemosintetizera, odnosno povećava senzibilitet tumorskih stanica. Nasuprot antikarcinogenim svojstvima, kava i kinonska kiselina pokazale su genotoksična svojstva te kromosomske aberacije na stanice zametka. Mogući mehanizmi kemopreventivne aktivnosti fenolnih kiselina uključuju: inhibiciju uključivanja karcinogena, inhibiciju stvaranja i aktivacije karcinogena, deaktivaciju ili detoksikaciju karcinogena, prevenciju vezanja karcinogena za DNA. Također, antioksidacijska svojstva obuhvaćaju hvatanje reaktivnih elektrofila i kisikovih radikala te inhibiciju metabolizma arahidonske kiseline (Vauzour i sur., 2010.).

Biodostupnost katehina određuje njihovu terapeutsku ulogu. Nekoliko *in vitro* studija pokazalo je da katehini i drugi strukturno slični spojevi, posjeduju antiproliferacijska svojstva te mogućnost kontrole karcinoma nad normalnim stanicama, kao i stanicama karcinoma. Neki od njih su: epigalokatehin-3-galat, epigalokatehin i galokatehin, koji imaju antiproliferacijsku sposobnost kod karcinoma dojke, debelog crijeva i kože. U koncentraciji od 50 µM, galokatehin i galokatehin galat inhibiraju širenje stanica karcinoma dojke za 95 do

97%, debelog crijeva za 85 do 93% te pluća za 67 do 87%. U koncentraciji od 100 µM, galokatehin i galokatehin galat pokazuju potpunu inhibiciju proliferacije. Rezultati *in vivo* studija jednaki su onima *in vitro*, u smislu prevencije ili kontrole (Vauzour i sur., 2010.).

Neki od znanstvenika sugeriraju da se glukozidi kvercetina hidroliziraju na kvercetin u gornjem dijelu probavnog trakta uz pomoć glukozidaze, a nakon toga se apsorbiraju. Kvercetin se u voću pojavljuje u obliku glukozida rutina. Rutin se hidrolizira na kvercetin u probavnom traktu uz pomoć glukozidaze koja se otpušta iz crijevne mikroflore. Rezultati *in vitro* studija pokazuju da kvercetin može djelovati kao antiproliferacijsko sredstvo, inhibirajući širenje stanica (Vauzour i sur., 2010.).

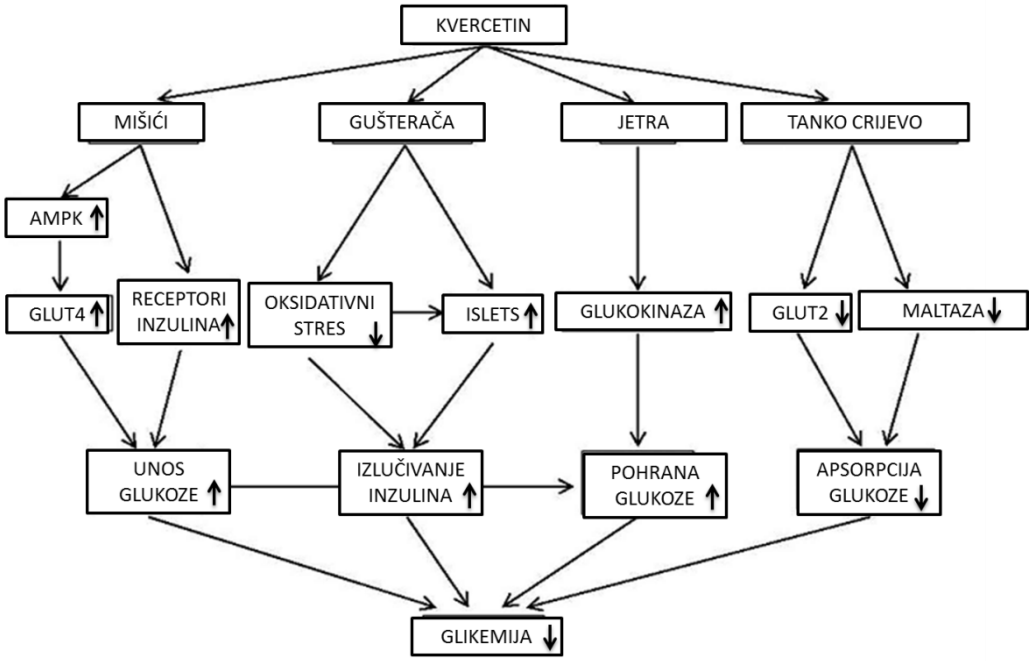
U nekoliko istraživanja se pokazalo kako jabuke imaju antiproliferacijsku aktivnost. Tretiranje stanice karcinoma debelog crijeva s ekstraktom jabuke inhibira proliferaciju stanica, ovisno o upotrijebljenoj dozi ekstrakta. Najveća inhibicija stanica karcinoma, 43%, postignuta je s dozom od 50 mg/mL. Isti trend je uočen i kod inhibicije stanica karcinoma jetre gdje je pri istoj dozi od 50 mg/mL inhibicija bila 57%. Utvrđeno je da antiproliferacijska aktivnost ovisi i o sorti jabuka. Pri dozi od 50 mg/mL ekstrakt jabuke Fuji je inhibirao stanice karcinoma jetre za 39%, Red Delicious za 57%, dok Northern Spy nije imao inhibirajuća svojstva. Također je utvrđeno da ekstrakt jabuke s korom ima značajno veća inhibirajuća svojstva od ekstrakta jabuke bez kore (Boyer i Liu, 2004.).

Utjecaj polifenola na ostale bolesti

Šećerna bolest je kronični poremećaj metabolizma, koji rezultira poremećajima metabolizma ugljikohidrata, proteina i lipida u ljudskom organizmu (American Diabetes Association, 2011.), bilo zbog nedostatka inzulina (tip 1) ili povećane stanične otpornosti na inzulin (tip 2). Dijabetes tipa 2 je jedna od najčešćih svjetskih kroničnih bolesti povezanih s promjenom načina života. Prema procjenama Međunarodne dijabetičke federacije (International Diabetes Federation, Bruxelles, Belgija), učestalost šećerne bolesti u svijetu 2011. godine iznosila je 8,3%, a u Europi 8,1% u dobnoj skupini 20-79 godina. Predviđa se da će u razdoblju od 2011. do 2030. god. broj oboljelih s 366,2 milijuna porasti na 551,8 milijuna. Trend porasta uzrokovan je promjenom načina života većine stanovništva, porastom prekomjerne tjelesne težine i debljine te fizičke neaktivnosti populacije. Ukupan broj bolesnika sa šećernom bolešću registriranih u ambulantama obiteljske medicine u

Republici Hrvatskoj u 2011. godini iznosio je preko 230000 dok se procjenjuje da bi se taj broj mogao povećati za još 130000 bolesnika (HZJZ, 2014.).

Povećani unos kvercetina (jednog od glavnih sastojaka kore jabuke), mirecetina i bobičastog voća povezan je sa smanjenjem rizika od dijabetesa tipa II. *In vitro* studije su pokazale da je jedan od mehanizama djelovanja, kojim kvercetin poboljšava kontrolu unosa glukoze u krv, smanjenje apsorpcije glukoze u crijevima na razini glukoze transportera (Slika 2). Kwon i sur. (2007.), su pokazali da kvercetin inhibira transport glukoze i fruktoze s GLUT2 u Caco-2E crijevnim stanicama. Međutim, kvercetin nije utjecao na druga dva glavna transportera šećera u crijevima GLUT5 i SGLT1. Manzano i Williamson (2010.) su istraživali utjecaj sokova od jagode i jabuke, koji su sadržavali 87 odnosno 41 µM kvercetina, na transport glukoze u Caco-2 crijevnim stanicama. Istraživanje je pokazalo da oba soka inhibiraju više GLUT2 nego SGLT1 transporter šećera.



Slika 2 Predloženi mehanizam utjecaja kvercetina na dijabetes (Aguirrei sur., 2011.)

Nekoliko *in vivo* studija je pokazalo da zbog inhibicije aktivnosti enzima maltaze tankog crijeva, a bez promjena razine inzulina u serumu, dolazi do smanjenja razine glukoze u serumu i krvi životinja na dijeti s dodatkom 0,08% kvercetina (Slika 2) (Kim i sur., 2011.). Povećanje aktivnosti enzima glukokinaze potaknute kvercetinom igra važnu ulogu u kontroli količine glukoze u serumu i krvi. Glukokinaza fosforilira glukozu i pretvara ju u glukoza-6-

fosfat, metabolit predodređen za sintezu glikogena. Vessal i sur. (2003.) su dokazali da utjecaj kvercetina ovisi i o primijenjenoj dozi.

Istraživanje uloge prehrane, posebice briga oko utjecaja antioksidanasa na bolesti poput demencije, alzheimera i parkinsona, potaknula su mnoga očekivanja. Oksidativni stres je uključen u patofiziologiju ovih bolesti i može uzrokovati oštećenje neuroloških funkcija, izmijeniti unutar stanične signale te uništiti stanice nekrozom ili apoptozom. Kod bolesnika s Alzheimerom, akumulacija β-amiloidnih proteina je u svezi s porastom slobodnih radikala i peroksidacije lipida. Obogaćivanje hrane s ekstraktima voća i povrća, koji sadrže visoke koncentracije antioksidanasa, može smanjiti oksidativni stres koji se događa u starijoj dobi. Mnoštvo epidemioloških studija pokazalo je da pojedinci koji konzumiraju velike količine voća i povrća mogu smanjiti rizik od nastanka Alzheimera. Postoje studije koje obuhvaćaju druge bolesti, kao što su astma i reumatoidni artritis, gdje se jasno vidi utjecaj flavonoida na njihov razvoj, odnosno usporavanje njihovog razvoja. U slučaju astme preporučuje se konzumacija većih količina jabuka koje sudjeluju u prevenciji nastajanja astme te drugih kroničnih respiratornih bolesti. Uloga izoflavona jako je važna za zdrave kosti. Nekoliko kliničkih istraživanja preporučuje izoflavone zbog smanjenja gubitka koštane mase u ranom periodu nakon menopauze, ali su potrebna dodatna istraživanja koja će to potvrditi (Levis i sur., 2011.). Znanstvenici su otkrili da konzumiranje 90 mg/dan izoflavona, kroz 6 mjeseci, povećava mineralnu gustoću kostiju, a samim time sadržaj minerala (Weinreb i sur., 2004; Robles-Sardin, 2010; Choi i sur., 2012; Tanaka i Takahashi, 2013.).

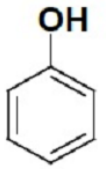
Konzumacija jabuka i krušaka je povezana i s gubitkom težine. Istraživanje provedeno s 400 pretilih žena srednje dobi je pokazalo da konzumacija jabuka i krušaka tri puta na dan kroz 12 tjedana utječe na gubitak težine. Žene koje su konzumirale jabuke i kruške u navedenom periodu izgubile su 1,21 kg više od žena koje su konzumirale zobene kolačiće (de Oliveira i sur., 2003.).

2. 2. POLIFENOLI

Polifenoli su spojevi koji u svojoj strukturi imaju jednu ili više-OH skupinu koje su vezane direktno na benzenski prsten (Vermerris i Nicholson, 2006.). Njihova opća formula je:

Ar-OH

gdje je Ar fenil, supstituirani fenil ili neka druga arilna skupina. Cijela skupina ima naziv po osnovnom predstavniku ove vrste, fenolu (Slika 3) (Stričević i Sever, 2001.). Polifenoli su po mnogočemu slični alkoholima (Vermerris i Nicholson, 2006.), ali kod njih hidroksilna skupina nije vezana na zasićeni atom ugljika, već direktno na aromatski ugljikovodik. Fenol je slaba kiselina, no znatno jača od alkohola, jer se aromatski prsten uže veže s kisikom te je veza između vodikovog i kisikovog atoma relativno slaba.



Slika 3 Kemijska struktura fenola (Vermerris i Nicholson, 2006.)

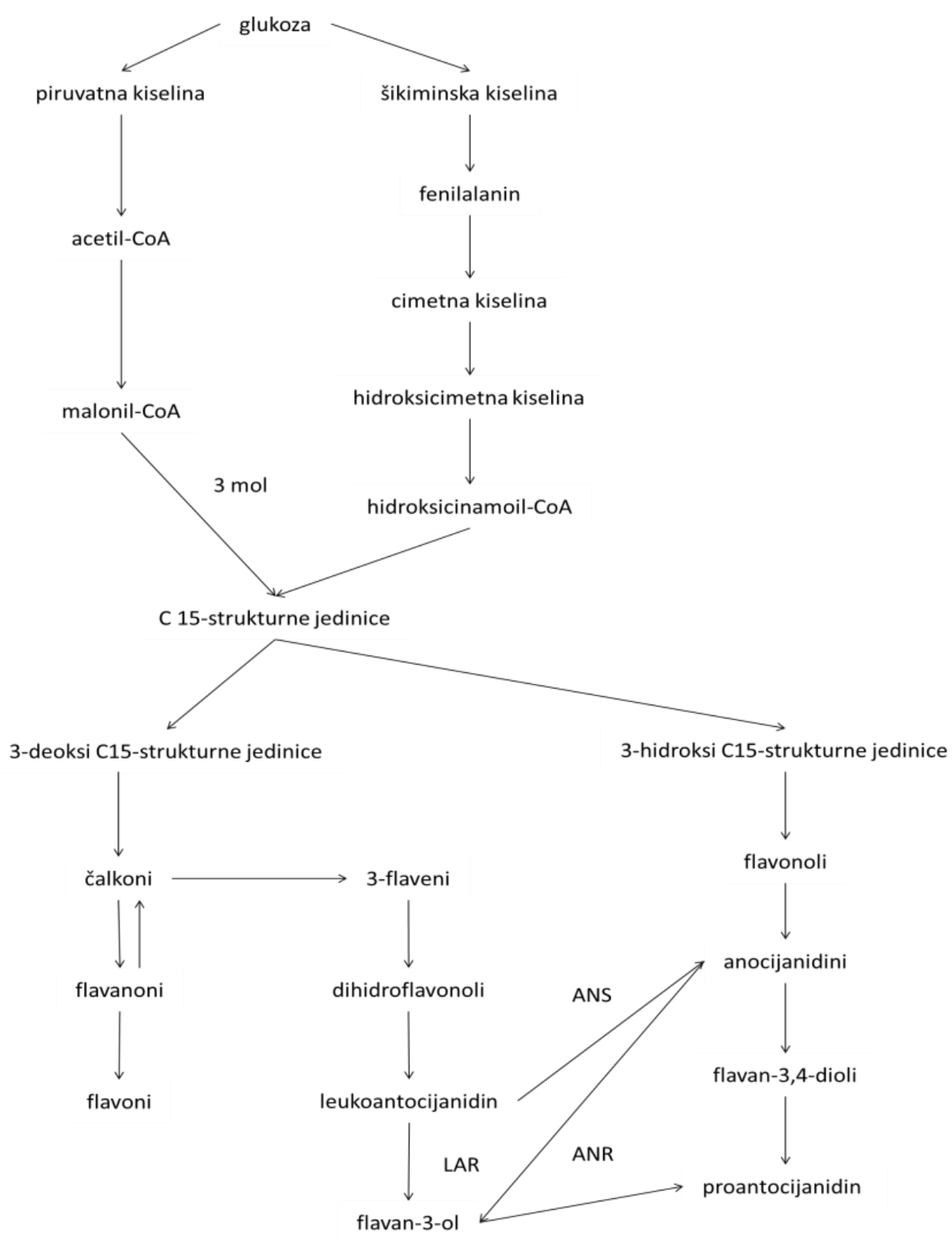
Polifenolne tvari čine jednu od najbrojnijih i široko rasprostranjenih skupina spojeva u biljkama, kojoj pripada više od 9000 različitih spojeva (Martens i Mithöfer, 2005.). Oni su proizvodi sekundarnog metabolizma biljaka. Neki polifenoli kao što su jednostavni fenoli, benzokinoni, kumarini, kromoni, naftokinoni, ksantoni, fenolne kiseline (hidroksicimetne, hidroksibenzojeve), stilbeni ili flavonoidi su jednostavne molekule, no u polifenole se ubrajaju i neke puno kompleksnije molekule s velikom molekularnom masom kao što su npr. tanini ili lignini (Robards i Antolovich, 1997.; Robards i sur., 1999.; Wollgast i Anklam, 2000.).

Najvažnija i najveća skupina polifenola su flavonoidi (Kähkönen i sur. 1999., Mattila i sur., 2006.). Pojavljuju se u skoro svim dijelovima biljaka, ali su po udjelu različito rasprostranjeni u različitim dijelovima biljnih organa. Ovu raznovrsnost uglavnom kontroliraju geni biljke, ali na nju imaju utjecaj i drugi čimbenici kao što su stadij zrelosti biljke, klima i način uzgoja (Robards i Antolovich, 1997.). Na temelju brojnih studija utvrđeno je da su neki od glavnih nutritivnih izvora flavonoida jabuke, crveni luk, čaj te crno vino (Manach i sur., 2004.; Erlund, 2004.). U biljkama su široko rasprostranjene i dominantne tri podgrupe flavonoida. To su flavonoli, antocijani i flavan-3-oli (flavanoli) (Robards i Antolovich 1997.). Osim flavonoida, važna skupina biljnih polifenola su i fenolne kiseline, posebno derivati cimetne i benzojeve kiseline (Robards i sur., 1999.).

2. 2. 1. Biosinteza polifenola

Polifenoli su najzastupljeniji sekundarni metaboliti rasprostranjeni u biljnome svijetu. Utvrđeno je da se oko 2% ukupnog ugljika sintetiziranog u biljkama (što je oko $1 \cdot 10^9$ t godišnje) konvertira u flavonoide i srodne fenolne spojeve. S kemijskog stajališta fenolni spojevi su organske molekule građene od aromatskog prstena na koji je vezana jedna (fenoli) ili više (polifenoli) hidroksilnih grupa. Ovakva definicija, međutim, nije zadovoljavajuća kada se o polifenolima govori u kontekstu biljnih polifenola, jer su njome obuhvaćeni i neki drugi spojevi, npr. estrogen (ženski spolni hormon), koji je porijeklom terpenoid. Kako bi se izbjegle pogreške ovog tipa, za biljne polifenole se koristi definicija koja se temelji na njihovu metaboličkom porijeklu. Prema ovoj definiciji, biljni polifenoli su spojevi koji u biljkama nastaju kombinacijom puta šikiminske kiseline i acilpolimalonatnog puta (Robards i Antolovich, 1997.; Lattanzio, i sur., 2008.).

Na Slici 4 dan je shematski prikaz biosinteze flavonoida. Benzenski prsten B nastaje preko šikiminske kiseline, dok je prsten A acetatnog porijekla, formiran zatvaranjem poliketidnog lanca. Početni spojevi u biosintezi flavonoida su fenilalanin, nastao u putu šikiminske, te malonil-CoA, nastao iz citrata. Flavonoidi, koji su nastali kao krajnji produkti biosinteze, transportiraju se u različite subcelularne i ekstracelularne strukture, s tim da se flavonoidi odgovorni za obojenost (pigmentaciju) biljaka uvijek akumuliraju u staničnim vakuolama. Prvi u biosintetskom nizu flavonoida su halkoni (C15), koji nastaju reakcijom p-kumaroil-CoA s tri molekule malonil-CoA. Halkoni su polazne jedinice u sintezi preostalih flavonoida. Naknadne reakcije hidroksilacije, redukcije i metilacije vode stvaranju različitih strukturnih varijanti flavonoida. Dva su moguća reakcijska puta biosinteze flavan-3-ola, a u oba slučaja polazna komponenta je leukoantocijanidin. Djelovanjem enzima leukoantocijanidin reduktaze (LAR) iz leukoantocijanidina nastaju trans-izomeri flavanola. Leukoantocijanidin se djelovanjem enzima antocijanidin sintetaze (ANS) transformira u antocijanidine, iz kojih nastaju cis-izomeri flavanola u reakciji koju katalizira antocijanidin reduktaza (ANR). Sve reakcije u putu biosinteze flavonoida katalizirane su određenim enzimima (Davies i Schwinn, 2006.).



Slika 4 Biosinteza flavona (Wollgast i Anklam, 2000.; Davies i Schwinn, 2006.)

2. 2. 2. Klasifikacija polifenola

Polifenoli obuhvaćaju vrlo veliku i raznoliku skupinu kemijskih spojeva čija je podjela moguća na više načina. Najznačajnija podjela sigurno je ona koju su predstavili Harborne i Simonds (1964.), a zasniva se na broju C atoma u molekuli. Polifenoli ovisno o osnovnoj kemijskoj strukturi, prema navedenoj podjeli, se dijele na: jednostavne fenole i benzokinone (C6), fenolne kiseline (C6-C1), acetofenone i feniloctene kiseline (C6-C2), hidroksicimetne kiseline, kumarine, izokumarine i kromone (C6-C3), naftokinone (C6-C4), ksantone (C6-C1-C6), stilbene i antrakinone (C6-C2-C6), flavonoide (C6-C3-C6), lignane i neolignane $(C6\text{-}C3)_2$, biflavonoide $(C6\text{-}C3\text{-}C6)_2$, lignine $(C6\text{-}C3)_n$, kateholne melanine $(C6)_n$, i kondenzirane tanine $(C6\text{-}C3\text{-}C6)_n$ (Lattanzio i sur., 2008.). Swain i Bate-Smith su 1962. godine predstavili alternativnu podjelu polifenolnih spojeva na uobičajene i manje uobičajene, a Riberean-Gayon je 1972. godine predstavio podjelu u tri grupe (Vermerris i Nicholson, 2006.):

1. široko rasprostranjeni polifenoli, prisutni u svim biljkama ili važni za specifične biljke,
2. slabije rasprostranjeni, određeni broj biljaka u kojima se nalaze,
3. polifenoli kao polimeri.

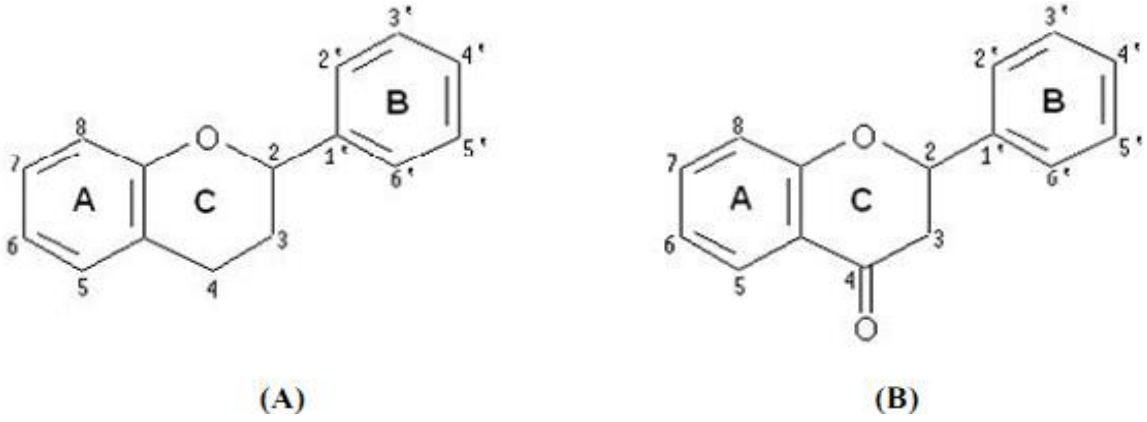
2. 2. 3. Kemijska struktura flavonoida i fenolnih kiselina

2. 2. 3. 1. Flavonoidi

Struktura flavonoida temelji se na flavonoidnoj jezgri (Slika 5) koja se sastoji od tri fenolna prstena (A, B i C). Benzenski prsten A kondenziran je s tročlanim alifatskim nizom koji zajedno s kisikom tvori šesteročlani prsten C, a na poziciji 2 prstena C nalazi se benzenski prsten B (Davies i Schwinn, 2006.)

Ovisno o stupnju oksidacije prstena C, flavonoidi se dijele na derivate benzo-γ-pirona (Slika 5 B) i benzo-γ-pirana (Slika 5 A). Svi oni mogu biti hidroksilirani, metoksilirani i glikozidirani s monosaharidima ili oligosaharidima, a često sadržavaju i acilne grupe na različitim položajima osnovne flavonoidne strukture ili glikozidnog dijela. U kojem obliku će neki flavonoid biti prisutan u biljci ovisi o tome u kojem biljnom organu dolazi do akumulacije istog, npr. flavonoidi koji se nalaze na površinskom dijelu biljke (npr. voštana prevlaka lista biljke) uglavnom su u visokoj mjeri metilirani i u svojoj strukturi gotovo nikad ne sadrže glikozide. Međutim u prirodi se flavonoidi nalaze uglavnom u obliku glikozida, tj. povezani su s molekulama šećera što pridonosi velikoj raznolikosti i velikom broju tih

spojeva. Vezanje šećera na flavonoide povećava polarnost molekule što je potrebno za pohranjivanje tih spojeva u vakuolama biljnih stanica. Glikozilacija se najčešće događa na poziciji C-3, ili rjeđe na poziciji C-7. Šećer koji se najčešće nalazi vezan na molekulama flavonoida je glukoza, ali glikozilacija se događa i s arabinozom, galaktozom, glukoramnozom, ramnozom i ksilozom. U rijetkim situacijama glikozilacija flavonoida događa se s manozom, fruktozom, glukuronskom i galakturonskom kiselinom. Na molekulu flavonoida vežu se i disaharidi, najčešće rutinoza i neohesperidoza. C-glikozidi, u kojima je molekula šećera vezana direktno na benzensku jezgru C-C vezom, rijetko su prisutni u biljkama, i ograničeni su na mali broj glikozida i aglikona flavonoida. Ovisno o stupnju nezasićenosti i stupnju oksidacije prstena C, nastaju različite podgrupe flavonoida: flavonoli, flavanoni, izoflavoni, flavanonoli, flavani, flavanoli, halkoni, dihidrohalkoni, flavan-3,4-dioli i antocijanidini (Slika 6). Velika raznolikost flavonoida može se, također, uočiti unutar navedenih podgrupa flavonoida jer se za osnovnu jezgru mogu vezati različite skupine i u različitom broju što dovodi do mogućnosti nastanka velikog broja različitih spojeva. Supstitucijske skupine koje se nalaze na osnovnoj jezgri su različiti šećeri, hidroksilna i metoksi skupina (Robards i Antolovich, 1997.; Aherne i O'Brien, 2002.; Heim i sur., 2002.).

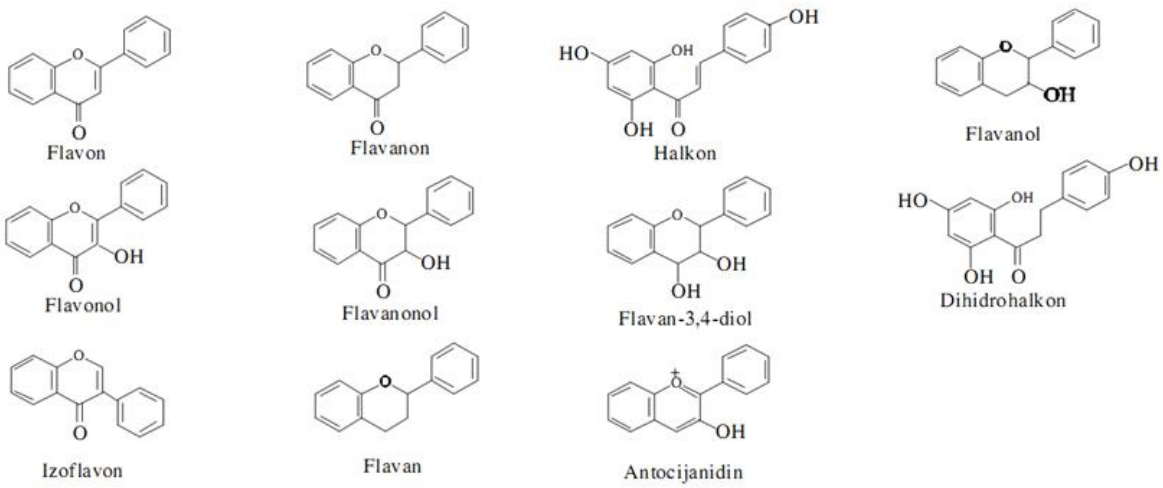


Slika 5 Osnovna struktura flavonoida: benzo-γ-piran ili flavan(A) i benzo-γ-piron ili flavon (B) (Aherne i O'Brien, 2002.)

Flavonoli

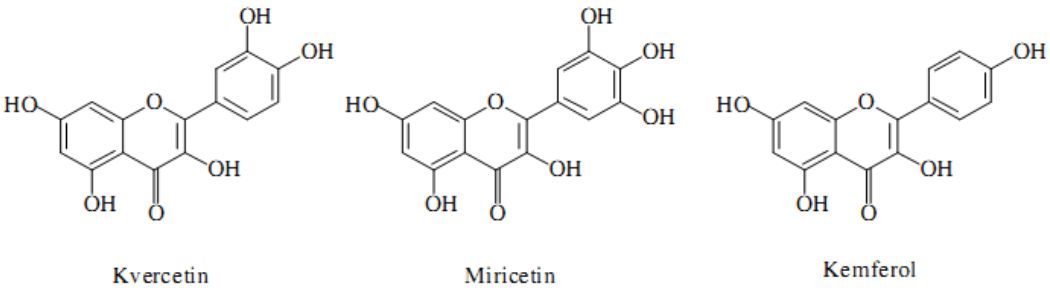
Flavonole karakterizira osnovna C_6-C_3-C_6 struktura (Slika 7). U stanicama se pojavljuju gotovo isključivo kao glikozidi u kojima je šećerna jedinica vezana na C_3 atom, a manje uobičajeno je vezanje na poziciji C_7. Najčešći šećer vezan za molekulu aglikona flavonola je glukoza, ali se vezati mogu i galaktoza, ramnoza, arabinoza, ksiloza. Slično kao i antocijani, i

flavonoli mogu biti acilirani s različitim cimetnim ili nekim drugim fenolnim kiselinama (Robards i sur., 1999.; Hollman i Arts, 2000.; Häkkinen, 2000.). Pojavljuju se u nadzemnim dijelovima biljaka, dok su u biljnim dijelovima koji se razvijaju ispod površine zemlje nađeni samo u tragovima.



Slika 6 Osnovna struktura glavnih podgrupa flavonoida (Robards i Antolovich, 1997.)

Flavonolni aglikoni dosta se razlikuju u hidroksilaciji i metilaciji, pa su zbog toga također izuzetno velika podgrupa spojeva. Najčešći aglikoni flavonola kvercetin i kampferol sami imaju najmanje 279 do 347 različitih glikozidnih kombinacija (Tsao i McCallum, 2010.). Ovi flavonoli slabo su topivi u vodi i žute su boje. Aglikoni flavonola nisu prisutni u biljkama, ali ako su prisutni, vjerojatno su rezultat nekog procesa obrade hrane kao što je zamrzavanje, sterilizacija ili fermentacija.

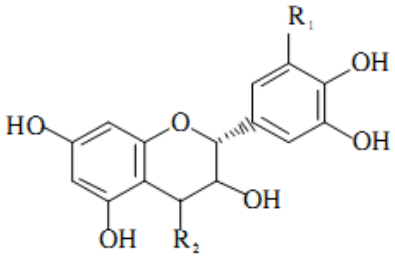


Slika 7 Kemijska struktura osnovnih flavonola (Häkkinen, 2000.)

Flavanoli

Naziv za flavanole često se zamjenjuje terminom „flavan-3-oli“, gdje se hidroksilna grupa najčešće nalazi vezana na C_3 atom. Flavanoli su također često nazivani katehini i nemaju

svojstva ketona kao što imaju flavanonoli. Katehini imaju dva epimera, ovisno o prostornoj konfiguraciji veza između prstena B i 2. mjesta ugljikovog atoma te hidroksilne grupe na mjestu 3. Ova dva epimera, epikatehin-(-) i katehin-(+) te njegovi derivati, epigalokatehin i galokatehin, zajednički su kategorizirani kao katehini. Galokatehin i epigalokatehin sadrže dodatnu hidroksilnu grupu na prstenu B. Flavanoli ili katehini često se nalaze u kori voća i nekog povrća. Važno svojstvo flavanola je njihova sposobnost polimerizacije. Ova polimerizacija događa se kao rezultat autooksidacije, ali češće su te reakcije katalizirane nekim enzimima (polifenoloksidaza), koji se nalaze u većini biljnih tkiva (Hollman i Arts, 2000.). Polimerni oblici odgovaraju procijanidinima, koji se zovu i proantocijanidini ili kondenzirani tanini. Procijanidini obično sadrže dvije do šezdeset jedinica monomera flavanola i polimerizacija se najčešće odvija ugljik-ugljik vezom između mjesta 8 i mjesta 4 (Tsao i McCallum, 2010.). U voću se flavanoli najčešće nalaze u obliku oligomernih ili polimernih formi tj. u obliku proantocijanidina ili tanina, no moguće je pronaći i slobodne monomere flavanola. Tako se monomeri (+)-katehin, (-)-epikatehin, (+)-galokatehin i (-)-epigalokatehin nalaze u voću češće u slobodnoj formi, a rjeđe u formi glikozida što ih razlikuje od ostalih flavonoida (Mattila i sur., 2006.). Slika 8 prikazuje najčešće forme flavanola (Määttä-Riihinen i sur., 2004.).



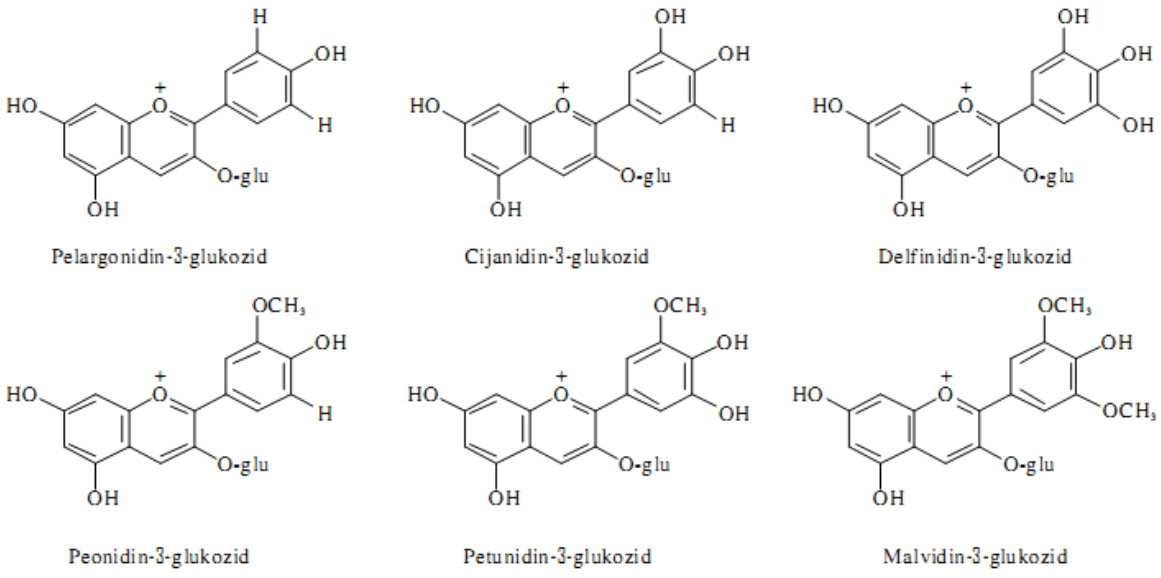
Flavanoli i proantocijanidini
(+)-katehin (2R, 3S) $R_1 = R_2 = H$
(-)-epikatehin (2R, 3R) $R_1 = R_2 = H$
galokatehin $R_1 = OH$, $R_2 = H$
Dimerni ili polimerni proantocijanidini
$R_1 = OH/H$ $R_2 = [(galo)katehin]^n$

Slika 8 Kemijska struktura flavanola i proantocijanidina (Määttä-Riihinen i sur., 2004.)

Antocijani

Antocijani (grčki: anthos-cvijeće, kyanos-plav) pripadaju flavonoidnoj grupi polifenola. Imaju $C_6C_3C_6$ kostur tipičan za flavonoide. Antocijani su glikozilirani polihidroksi i polimetoksi

derivati 2-fenilbenzopirilium kationa odnosno flavilium kationa (Brouillard, 1982.). Glavni dio antocijana je njegov aglikon, flavilium kation, koji sadrži konjugirane dvostruke veze odgovorne za apsorpciju svijetla pri valnim duljinama oko 500 nm. Oni su biljni pigmenti koji omogućavaju cvijeću, voću i povrću plavu, purpurnu i crvenu boju. Aglikoni se nazivaju antocijanidini, a obično su penta (3,5,7,3´,4´) ili heksa supstituirani (3,5,7,3´,4´,5´). Postoji šest osnovnih antocijanidina: cijanidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin i malvidin (Slika 9) (Francis, 1989.). Ovi se aglikoni međusobno razlikuju po broju hidroksilnih i metoksilnih grupa na B prstenu flavilium kationa. Antocijanidini se kao takvi rijetko nalaze u prirodi. U obliku glikozida odnosno antocijana nalaze se u cvijeću, voću itd. Antocijani su mnogo stabilniji i topljiviji u vodi od antocijanidina zbog glikozilacije (Rein, 2005.). Najčešći šećeri vezani za molekulu antocijanidina su glukoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza, rutinoza, soforoza, sambubioza i dr. (de Ancos i sur., 1999.; Kähkönen i sur., 2003.). Antocijani mogu biti acilirani s raznim hidroksicimetnim (kava, p-kumarinska, ferulična kiselina) ili alifatskim kiselinama (octena, jabučna, oksalna) (Clifford, 2000.).

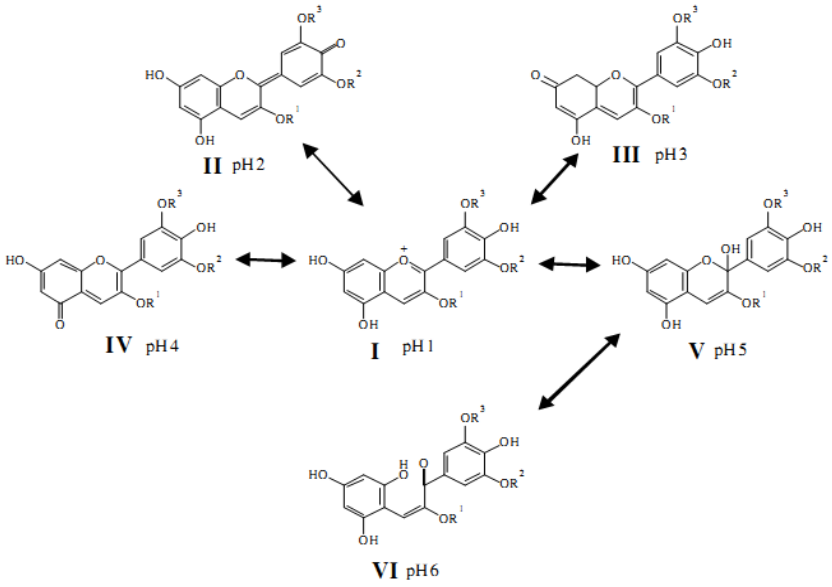


Slika 9 Kemijska struktura 6 osnovnih glukozida antocijana (Clifford, 2000.)

Jedna od najvažnijih karakteristika antocijana je pozitivan naboj na kisiku u heterocikličnom prstenu C. Zahvaljujući toj kemijskoj strukturi antocijani se u kiseloj sredini ponašaju kao kationi i grade soli s kiselinama, a u alkalnoj sredini kao anioni i grade soli s bazama (Brouillard, 1982; Mazza i Brouillard, 1987; Lajšić i Grujić-Injac, 1998). U vakuoli

biljne stanice antocijani su prisutni u četiri molekularne forme (kemijske strukture) koje su međusobno u ravnoteži (Clifford, 2000.).

Ove različite kemijske forme antocijana pokazuju različitu boju u ovisnosti o pH sredine u kojoj se nalaze (Slika 10). Pri pH 1 prevladava flavilium kation (I) koji je crveno obojen. Između pH 2 i 4 prevladava plava boja kinoidne forme antocijana (II-IV). Pri pH 5 i 6 nastaju dvije bezbojne forme koje imaju karbinol pseudobazu (V) i halkon bazu (VI). Pri višim pH vrijednostima (> 7) molekula antocijanina se raspada (da Costa i sur., 1998.). Prvi interes za istraživanje antocijana pojavio se zbog njihovog doprinosa obojenosti raznih prehrambenih proizvoda kao što su npr. džemovi, sokovi od voća i dr.. U početku istraživanja antocijani nisu bili često korišteni kao aditivi u prehrambenoj industriji zbog svoje nestabilnosti uzrokovane različitim fizikalnim ili kemijskim čimbenicima kao što su svjetlost ili pH te zbog teškoće pri pročišćavanju i zbog komercijalne nedostupnosti na tržištu. No, otkriće stabilnijih aciliranih antocijana omogućilo je korištenje antocijana kao sigurnih dodataka hrani (Jackman i sur., 1987; von Elbe i Schwartz, 1996; Robards i Antolovich, 1997.).



Slika 10 Ravnotežna raspodjela antocijanina u ovisnosti o pH vodene otopine (da Costa, 1998.)

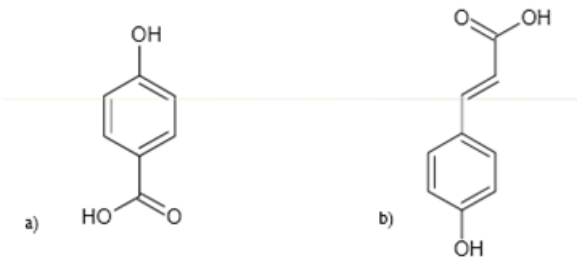
Dihidrohalkoni

U ovu skupinu polifenola spadaju floretin, floridzin, floretin 2'-O-ksilozil-glukozid, 3-hidroksifloretin 2'-O-ksilozil-glukozid i 3-hidroksifloretin 2'-O-glukozid (Phenol-Explorer, 2014.).

Dihidrohalkoni (DHC) su karakteristični polifenolni spojevi u jabukama i proizvodima od jabuka (sok, voćno vino, kaša, pogača itd.). Analiza i praćenje ovih spojeva u jabukama je predloženo kako bi se prepoznali krivotvoreni proizvodi (McRae i sur., 1990.; Amiot i sur., 1992.; Burda i sur., 1998.). Najčešće se nalaze u kori i sjemenkama jabuke, gdje mogu predstavljati i do 60% ukupnih polifenola u usporedbi s mesom jabuke gdje predstavljaju do 3% ukupnih polifenola (Guyot i sur., 1998.).

2. 2. 3. 2. Fenolne kiseline

Važna skupina polifenola su i fenolne kiseline. One mogu biti derivati cimetne ili benzojeve kiseline (Slika 11). Rijetko su prisutne u slobodnom obliku, a najčešće se pojavljuju esterificirane s vinskom kiselinom ili kina kiselinom. Jedinstvena distribucija i velika količina fenolnih kiselina u voću, pretpostavlja se, je rezultat njihove ključne uloge u biosintezi ostalih kompliciranijih polifenola (Robards i sur., 1999.). Fenolne kiseline obuhvaćaju skoro 1/3 fenola u prehrambenim proizvodima. Uglavnom se nalaze u obliku glikozida, estera i etera, a samo male količine su prisutne u slobodnom obliku (Robards i sur., 1999.).



Slika 11 Fenolne kiseline; a) hidroksibenzojeve kiseline C_6-C_1, b) hidroksicimetne kiseline C_6-C_3 (Häkkinen, 2000.)

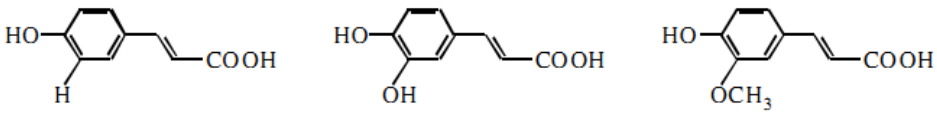
Hidroksicimetne kiseline

Hidroksicimetne kiseline češće se nalaze u prirodi nego hidroksibenzojeve i sastavni su dijelovi staničnih stjenki biljnih stanica. Široko su rasprostranjene 4-kumarna, kafeinska, ferulična i sinapna kiselina (Slika 12). Rijetko se pojavljuju u slobodnom obliku, većinom su esterificirane:

a) esteri alifatskih alkohola
b) esteri kina kiseline (široko rasprostranjena klorogenska kiselina) ili depsidi (ružmarinska kiselina u vrstama porodice Lamiaceae).

Mogu biti u obliku amida ili vezane s šećerima u obliku glikozida (Kroon i Williamson, 1999.; Häkkinen, 2000.).

Hidroksicimetne kiseline se nalaze u svim dijelovima voća, iako se najveće koncentracije nalaze u vanjskim dijelovima zrelog voća. Njihova koncentracija smanjuje se tijekom dozrijevanja ploda, a ukupna se količina povećava zbog povećanja veličine ploda. Kava kiselina, slobodna ili esterificirana, je najrasprostranjenija fenolna kiselina u prirodi i predstavlja 75-100% ukupnog sadržaja hidroksicimetnih kiselina u voću (Manach i sur., 2004.).



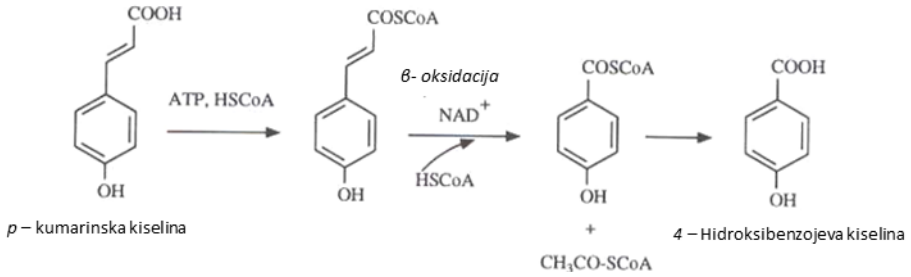
p-kumarinska kiselina kava kiselina ferulična kiselina

Slika 12 Kemijska struktura tri najčešće hidroksicimetne kiseline (Häkkinen, 2000.)

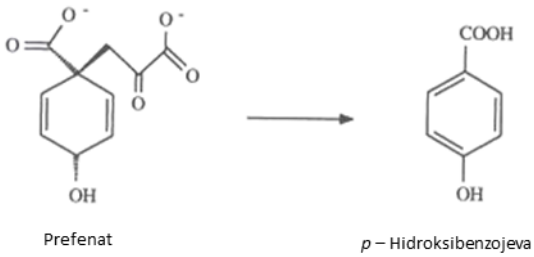
Hidroksibenzojeve kiseline

Hidroksibenzojeve kiseline imaju općenitu C_6-C_1 strukturu koja potječe direktno od benzojeve kiseline. Različite strukture u pojedinim hidroksibenzojevim kiselinama javljaju se zbog hidroksilacije ili metilacije na aromatskom prstenu. Samo u nekim vrstama voća se te kiseline pojavljuju u slobodnoj formi, a inače su, uglavnom, prisutne kao konjugati, i oslobađaju se samo tijekom procesiranja voća i povrća. Derivati benzojeve kiseline mogu nastati iz fenilpropana skraćivanjem postranog lanca. Postrani lanac u fenilpropanskoj strukturi može se skratiti β-oksidacijom. Primjer: stvaranje β-hidroksbenzojeve kiseline iz 4-kumarne kiseline (p-hidroksicimetna kiselina) koja se najprije aktivira i nastaje ester s CoA; procesom β-oksidacije nastaje 4-hidroksibenzoil CoA koji hidrolizira i daje odgovarajuću kiselinu (Slika 13) (Tomás-Barberán i Clifford, 2000.; Häkkinen, 2000.).

Eliminacija postranog lanca može se dogoditi u ranoj fazi biosinteze, tako β-hidroksibenzojeva kiselina može nastati direktno iz prefenata (koji nastaje iz korizminske kiseline) (Slika 14) (Davies i Schwinn, 2006.).

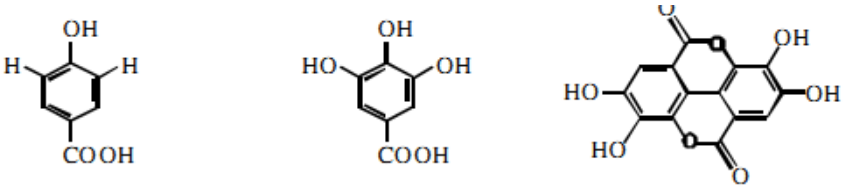


Slika 13 Nastajanje β-hidroksbenzojeve kiseline iz 4-kumarne kiseline (Davies i Schwinn, 2006.)



Slika 14 Nastajanje p-hidroksibenzojeva iz prefenata (Davies i Schwinn, 2006.)

Međutim, većina ovih spojeva (C_6-C_1) nastaje iz kiselina koje su derivati cimetne kiseline (C_6-C_3). Najčešće hidroksibenzojeve kiseline sup-hidroksibenzojeva, vanilinska, siringinska i protokatehinska kiselina. One mogu biti konjugirane sa šećerima ili organskim kiselinama te vezane na dijelove stanične stjenke, npr. lignine. Osim ovih spomenutih kiselina, i galna i elaginska kiselina također pripadaju skupini hidroksibenzojevih kiselina. Galna kiselina je trihidroksi derivat koji sudjeluje u stvaranju galotanina, a elaginska kiselina koja je također uobičajena za biljke, obično je prisutna u obliku elagitanina (Häkkinen, 2000.; Clifford, 2000.). Na Slici 15 prikazana je kemijska struktura uobičajenih hidroksibenzojevih kiselina.



p-hidroksibenzojeva kiselina galna kiselina elaginska kiselina

Slika 15. Kemijska struktura hidroksibenzojevih kiselina (Häkkinen, 2000.)

2. 2. 4. Stabilnost polifenola tijekom procesiranja i skladištenja

Tijekom obrade voća i povrća, zbog raznih razloga, može doći do gubitka i promjene sastava polifenola (Spanos i sur., 1992.; van Sluis i sur., 2002.; Mahdavi i sur., 2010.). Utvrđeno je da se ukupni fenolni sadržaj u kruškama smanjuje za 64% pri uvjetima sušenja na suncu (Spanos i sur., 1992.). Markowski i Płocharski (2006.) su utvrdili da prilikom proizvodnje voćnih sokova dolazi do gubitka svih polifenolnih spojeva. Do gubitka fenolnih spojeva u sokovima od voća, dolazi zbog komercijalnog postupaka proizvodnje. Međutim utvrdili su i da tijekom proizvodnje soka od jabuke dolazi do gubitka dihidrohalkona i fenolnih kiselina ali da se udio kvercetin glikozida povećava. Zamrzavanje, pasterizacija, mikrovalno kuhanje i vrenje općenito smanjuju ukupni udio polifenola odnosno antioksidanasa. Različiti načini kuhanja imaju različit utjecaj na fenole. Studije o utjecaju procesiranja na flavonole; kvercetin, miricetin i kampferol pet vrsta voća i povrća, pokazuju da kuhanje npr. jagoda sa šećerom rezultira minimalnim gubitcima kvercetina 15%, a kampferola 18%. Međutim, pri kuhanju borovnica sa šećerom i vodom gubi se 40% kvercetina (Jones, 2007.). Ispitivanjem 16 komercijalnih dehidriranih proizvoda od luka u SAD-u, potvrđeno je da ovi proizvodi sadrže minimalne količine flavonoida ili ih uopće ne sadrže. U istoj studiji dokazano je da su postotci gubitaka flavonoida luka uzrokovani prženjem 33%, vrenjem 14 do 20%, kuhanjem na pari 14%, mikrovalovima 4% i pečenjem 60% (Tsao i McCallum, 2010.).

Nasuprot negativnim mišljenjima koje ima većina populacije prema skladištenju voća i povrća, ipak veliki broj literaturnih podataka ukazuje na činjenicu da se uvjeti skladištenja ne odražavaju znakovito na sadržaj flavonoida. Na primjer, fenoli u jabukama značajnije se ne mijenjaju tijekom skladištenja (u trajanju čak do 9 mjeseci). Burda i sur. (1998.); van Sluis i sur. (2001.) i Napolitano i sur. (2004.) su utvrdili da duže skladištenje u kontroliranoj atmosferi ne utječe na sadržaj kvercetin glikozida, floridzina, i antocijana, pet sorti jabuka. Golding i sur. (2001.) su utvrdili da metabolizam polifenola u kori jabuka je relativno stabilan i da bi se zdravstvena korist koju pružaju navedene tvari mogla očuvati kroz dulje skladištenje. Druga studija provedena na kori jabuke pokazuje povećanje ukupnih polifenola u kori jabuka sorte Golden Delicious nakon prvih 60 dana. Nakon 100 dana udio polifenolnih tvari se počinje smanjivati, ali čak i nakon 200 dana skladištenja ukupni udio polifenola je približan udjelu nakon branja (Lattanzio i sur., 2001.; Awad and de Jager, 2003.).

Slično ovome, antioksidacijska aktivnost i ukupni udio fenola i antocijana u borovnicama, ne pokazuju značajan pad, već mali porast koji ovisi o tretiranju tijekom hlađenja (3 do 5 tjedana). Utvrđeno je da neki od uvjeta čuvanja nakon branja, poput visoke koncentracije kisika (60 do 100%), mogu povećati ukupni sadržaj fenola. Uvjeti skladištenja poput niske temperature mogu se manifestirati u obliku fizičkog stresa, što povećava proizvodnju sekundarnih obrambenih metabolita do određenog stupnja (Tsao i McCallum, 2010.).

Niske temperature usporavaju proces respiracije kao i proces senescencije čime se produžuje mogućnost skladištenja voća i povrća. Niske temperature također mogu usporiti rast patogenih i drugih mikroorganizama koji negativno utječu na sigurnost i kvarenje voća i povrća. Utjecaj skladištenja pri temperaturama 0, 5 i 10 °C različito se odražava na ukupnu količinu antocijana i fenola. Sadržaj antocijana u jagodama pri temperaturi 0 i 5 °C tijekom prvih 5 dana se smanjuje, dok se pri 10 °C povećava, a najveći sadržaj je nakon 13. dana skladištenja. Kontrolirana atmosfera uzrokuje smanjenje sadržaja antocijana u voću poput jagoda na temperaturi pri 5 °C s visokim sadržajem O_2. Visoke koncentracije kisika uzrokuju i smanjenje ukupnog sadržaja fenola (Zheng i sur., 2007.)

2. 3. ANTIOKSIDACIJSKA AKTIVNOST

Antioksidansi su tvari (molekule) koje sprječavaju (usporavaju) procese oksidacije drugih molekula (tvari). Neki od antioksidanasa su i enzimi (peroksidaza, katalaza, superoksid dismutaza) i proteini dok su neki spojevi vrlo male molekule (Shi i sur., 2001.). Vitamini (vitamin A, C i E) i polifenoli su poznati kao sastojci u voću i povrću koji posjeduju antioksidacijsku aktivnost (Skupien i Oszmainski, 2004.). Fenolne tvari i flavonoidi su tipični antioksidansi (Shi i sur., 2001.). Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetski antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, nadomjesci i lijekovi, ali je opće prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vrjedniji, učinkovitiji i sigurniji od sintetskih (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001.). Antioksidacijska aktivnost je sposobnost određenih tvari da kroz različite mehanizme stabiliziraju tvari koje dovode do oksidativnih promjena. Antioksidacijska aktivnost ne ovisi samo o strukturnim svojstvima antioksidanasa već i o mnogim drugim čimbenicima kao što su temperatura, svjetlost, tip supstrata, fizikalno stanje sustava, kao i o brojnim mikrokomponentama koje djeluju kao prooksidansi ili sinergisti (Yanishlieva-Maslarova i Heinonen, 2001.).

Antioksidansi u hrani se mogu definirati kao bilo koji sastojak koji može odgoditi, zaustaviti ili spriječiti kvarenje hrane ili stvaranje nepoželjne arome (miris i/ili okus) kao posljedicu oksidacije. Dodatak antioksidansa nakon što je do kvarenja već došlo smatra se neučinkovitim. Antioksidansi mogu inhibirati ili usporiti oksidaciju na dva načina: ili uklanjanjem slobodnih radikala, u tom slučaju se sastojak definira kao primarni antioksidans, ili mehanizmom koji ne uključuje direktno uklanjanje slobodnih radikala, te se u tom slučaju sastojak definira kao sekundarni antioksidans. Fenolne tvari su primarni antioksidansi. Sekundarni antioksidansi djeluju putem različitih mehanizama. Uobičajeno je da sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidacijsku aktivnost samo u prisustvu neke druge manje komponente, npr. limunska kiselina postaje aktivna samo u prisustvu metalnih iona, a askorbinska kiselina je aktivna u prisustvu tokoferola ili nekih drugih primarnih antioksidanasa (Gordon, 2001.).

U novije vrijeme sve više se razvija interes za prirodne antioksidanse kako bi se izbjegla upotreba umjetnih aditiva. Nepoželjno svojstvo prirodnih antioksidanasa je osjetljivost na kisik, a posebno prilikom izlaganja svjetlu, visokoj temperaturi i sušenju. Promjene se također nastavljaju i tijekom skladištenja prehrambenih proizvoda. Usprkos velikoj važnosti antioksidanasa, ne postoji puno podataka o njihovim promjenama, interakcijama s drugim sastojcima hrane i utjecaju tih promjena na otpornost hrane na oksidaciju. Možemo reći da aktivnost prirodnih antioksidansa uvelike ovisi o kompleksnosti hrane (Pichler, 2011.).

Veza između strukture polifenola i antioksidacijske aktivnosti

Flavonoidi mogu djelovati kao antioksidansi na nekoliko načina. Najučinkovitiji su kada djeluju kao hvatači slobodnih radikala i tako prekidaju lančanu reakciju slobodnog radikala. Flavonoid kao antioksidans mora zadovoljiti dva uvjeta (Halliwell i sur., 1995.):

a) kada je prisutan u maloj koncentraciji u odnosu na tvar podložnu oksidaciji, mora bitno usporiti ili spriječiti reakciju oksidacije,
b) iz njega nastali radikal mora biti stabilan da ne bi poticao lančanu reakciju.

Radikali se obično stabiliziraju premještanjem elektrona, stvaranjem intramolekularnih vodikovih veza ili daljnjom reakcijom s drugim lipidnim radikalom (Shahidi i Wanasundara, 1992.). Glavne strukturne značajke flavonoida važne za sposobnost hvatanja radikala jesu:

a) hidroksilne grupe,
b) O-metilacija,
c) 2-3 dvostruka veza i 4-okso funkcija,
d) jedinice ugljikohidrata,
e) stupanj polimerizacije.

Slijedeći mogući način antioksidacijskog djelovanja je interakcija flavonoida s drugim fiziološkim antioksidansima, npr. vitaminima C ili E. Sinergijski učinak tih antioksidansa vidi se iz primjera povećanja antiproliferativnog učinka kvercetina u interakciji s askorbinskom kiselinom. Taj povećani učinak povezan je s mogućnošću askorbinske kiseline da zaštiti polifenol od oksidativne degradacije (Kandaswami i sur., 1993.). Unatoč brojnim istraživanjima mehanizma zaštitnog djelovanja flavonoida je i dalje predmetom mnogih rasprava. Flavonoidi (Fl) djeluju kao antioksidansi putem mehanizma hvatanja slobodnih radikala (Cotelle i sur., 1992.; Hanasaki i sur., 1994; Heilmann i sur., 1995; Montensinos i sur., 1995.) zbog čega nastaje manje reaktivni flavonoidni fenoksidni radikal (reakcije 2 i 3).

$$ROO^{\bullet} + Fl\text{-}RO \rightarrow OH + Fl\text{-}O^{\bullet} \qquad (2)$$

$$HO^{\bullet} + Fl\text{-}OH \rightarrow H_2O + Fl\text{-}O^{\bullet} \qquad (3)$$

Hidroksilne grupe

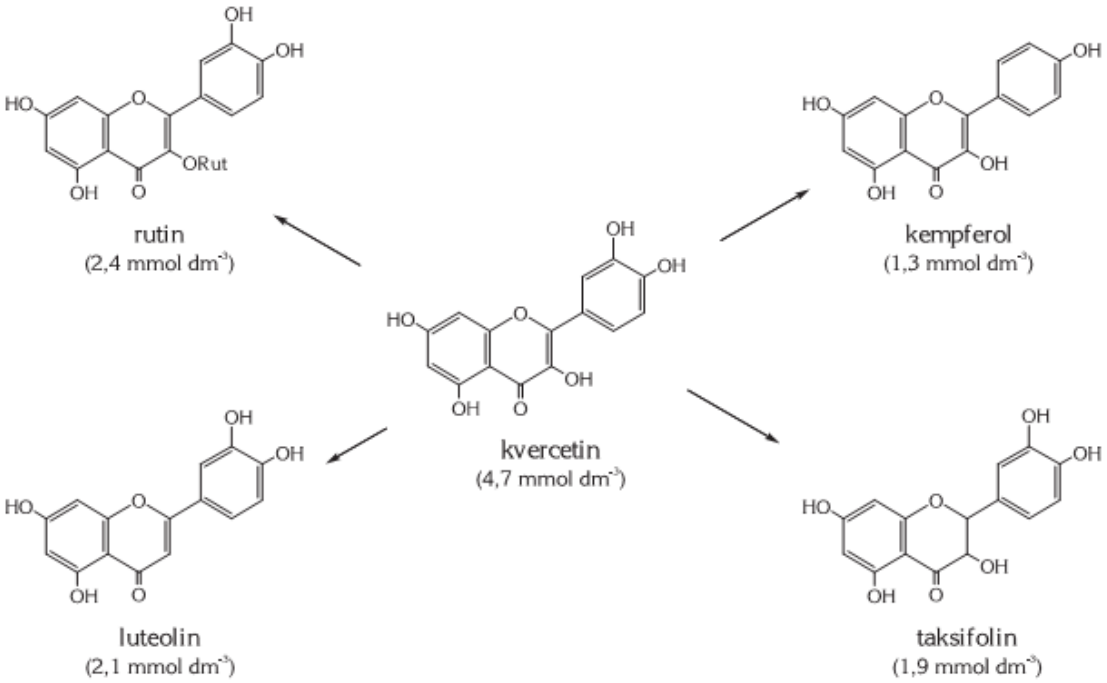
Pretpostavlja se da antioksidacijsku aktivnost flavonoida uglavnom određuje raspored supstituenata. Antioksidacijska aktivnost većine polifenolnih antioksidanasa ovisi o rasporedu i ukupnom broju hidroksilnih skupina (Cao i sur., 1997.; Haenen i sur., 1997.; Sekher Pannala i sur., 2001.; Burda i Oleszek, 2001.). Kapacitet hvatanja slobodnih radikala se pripisuje visokoj reaktivnosti hidroksilnih grupa koje sudjeluju u slijedećoj reakciji:

$$P\text{-}OH + R^{\cdot} \rightarrow P\text{-}O^{\cdot} + RH \qquad (4)$$

Na sposobnost flavonoida pri hvatanju reaktivnih vrsta kisika najviše utječu hidroksilne grupe na B prstenu. Doniranjem vodikova atoma i elektrona hidroksilnim i peroksidnim radikalima dolazi do njihove stabilizacije, a ujedno nastaje i relativno stabilni flavonoidni radikal. Između strukturnih homologa flavona i flavonona, hvatanje peroksil i hidroksil radikala, povećava se s ukupnim brojem OH^{-} grupa (Cao i sur., 1997.).

3´4´-katehol struktura B prstena pojačava inhibiciju oksidacije lipida. Takva struktura je najznačajnija odlika potencijalnih hvatača peroksil (Cao i sur., 1997.; Dugas i sur., 2000.), superoksid i peroksinitril radikala (Haenen i sur., 1997.). Na primjer, iako i luteolin i kampferol imaju jednaku hidroksilnu konfiguraciju, luteolin ima jaču sposobnost hvatanja peroksil radikala od kempferola (Slika 16) zbog toga što kampferol nema B prsten katehola (Van Acker i sur., 1996.). Hvatanje peroksinitril radikala pomoću katehina također se pripisuje B prstenu katehola (Kerry i Rice-Evans, 1999.). Oksidacija flavonoida se odvija na B prstenu katehola te nastaje stabilan o-semikinon radikal. Flavoni kojima nedostaje kateholna ili o-trihidroksil struktura tvore vrlo nestabilne radikale i slabi su hvatači radikala.

Važnost drugih hidroksilnih grupa je manje razjašnjena, ali osim što povećava ukupni broj OH^- grupa, A prsten vrlo malo doprinosi antioksidacijskoj aktivnosti. Heterociklički dio flavonoida doprinosi antioksidacijskoj aktivnosti tako što osigurava prisutnost slobodnih OH^- grupa i omogućava konjugaciju između aromatskih prstenova. S obzirom da su halkoni aktivni antioksidansi, zatvoreni C prsten nije neophodan za aktivnost flavonoida (Matthiesen i sur., 1997.). Hvatanje slobodnih radikala pomoću flavonoida jako ovisi i o slobodnoj 3-OH^- grupi (Burda i Oleszek, 2001.), tako da je utvrđeno da flavonoidi koji imaju slobodnu 3-OH^- grupu i 3´,4´-katehol strukturu posjeduju 10 puta jaču sposobnost hvatanja slobodnih radikala. Superiornost kvercetina u inhibiciji oksidativnih oštećenja, bez obzira jesu li ona uzrokovana djelovanjem metala ili ne, pripisuje se slobodnoj 3-OH^- grupi koja ujedno i povećava stabilnost radikala flavonoida. Zakretni kut B prstena s obzirom na ostatak molekule flavonoida, također snažno utječe na antioksidacijsku aktivnost. Flavonoli i flavanoli posjeduju slobodnu 3-OH^- grupu i planarne su strukture za razliku od flavona i flavanona. Planarnost molekule omogućuje konjugaciju, premještanje elektrona i povećanje stabilnosti flavonoid fenoksil radikala (Van Acker i sur., 1996.; Heim i sur., 2002.).



Slika 16 Utjecaj hidroksilne skupine u položaju 3- na antioksidacijsku aktivnost flavonoida (Rice-Evans i sur., 1996)

O – Metilacija

Razlika u antioksidacijskoj aktivnosti između polihidroksiliranih i polimetoksiliranih flavonoida uglavnom je zbog razlike u hidrofobnosti i molekularnoj planarnosti. Kvercetin je snažni hvatač peroksidnih radikala, a zatim slijede njegovi O-metilirani i O-glikozidirani derivati (Dugas i sur., 2000.). Smanjenje antioksidacijske aktivnosti O-metiliranjem (Arora i sur., 1998.; Dugas i sur., 2000.; Burda i Oleszek, 2001.) može se objasniti efektom narušavanja planarnosti. Iako se odnosom metoksilnih i hidroksilnih supstituenata ne može predvidjeti flavonoidna sposobnost hvatanja radikala, prsten B je djelomično osjetljiv na položaje metoksilnih grupa. Prostorne smetnje kateholne strukture s 4'-O-metiliranjem značajno smanjuju antioksidacijsku sposobnost (Dugas i sur., 2000.). Općenito, utjecaj O-metiliranja ovisi o metodi određivanja antioksidacijske aktivnosti, tipu radikala koji se koristi i slučaju kada tvar koja se oksidira ima strukturu lipida jer tada lipofilnost pridonosi ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti (Heim i sur., 2002.).

2-3 dvostruka veza i 4-okso funkcija

Prisustvo odnosno odsustvo nezasićene dvostruke veze zajedno s 4-okso funkcijom je od vrlo velikog značaja. Veliki broj istraživanja potvrđuje da su flavonoidi kojima nedostaju ova dva obilježja slabiji antioksidansi. Konjugacija A i B prstena omogućava rezonanciju aromatske jezgre što vodi ka nastajanju stabilnijeg radikala flavonoida (Bors i sur., 1990.) i time optimizira efekt 3´,4´-katehol strukture (Heim i sur., 2002.).

Jedinice ugljikohidrata

Aglikoni su potencijalno jači antioksidansi od odgovarajućih glikozida (Ratty i Das, 1988.; Gao i sur., 1999.). Dokazano je da se antioksidacijska aktivnost glikozida flavonola iz čaja smanjuje kako se broj glikozidnih jedinica povećava (Plumb i sur., 1999.). Osim prisutnosti i broja, mjesto vezivanja i vrsta šećera je vrlo bitna. Uobičajeno je da su glikozidne jedinice vezane na 3- ili 7- poziciji, ali vezivanje šećera na A prsten rezultira većim smanjenjem aktivnosti nego 3-glikozilacija. Glikozilacija, kao i O-metilacija, narušava planarnost B prstena u odnosu na ostatak molekule flavonoida i smanjuje sposobnost premještanja elektrona (Bors i sur., 1990.; Van Acker i sur., 1996.). Iako su glikozidi slabiji antioksidansi od aglikona (Kroon i Williamson, 1999.; Burda i Oleszek, 2001.) biodostupnost se ponekad pojačava prisustvom glukoze (Hollman i sur., 1999.). Osim što šećer zauzima slobodnu OH^- grupu neophodnu za hvatanje radikala, šećer smanjuje planarnost B prstena i/ili mijenja hidrofilnost molekule što rezultira promjenom dostupnosti za radikale lipida. Što se tiče utjecaja šećera na antiokidativnu aktivnost u samom tijelu čovjeka, vrlo je bitno imati na umu da se šećer u tijelu odvaja od flavonoidne strukture tako da je utjecaj šećera u ovom slučaju tj. u našem tijelu upitan (Heim i sur., 2002.).

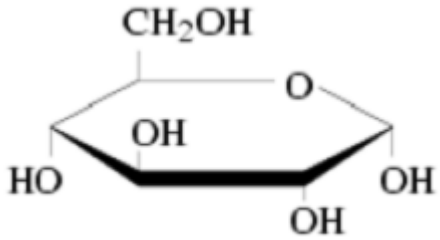
Stupanj polimerizacije

Antioksidacijska aktivnost polimernih flavonoida nije do kraja objašnjena. Procijanidni dimeri i trimeri su učinkovitiji nego monomeri kada su u pitanju superoksid anioni (Vennat i sur., 1994.). Tetrameri su učinkovitiji nego trimeri kada su u pitanju peroksinitril i super oksid radikali, dok heptameri i heksameri su znatno učinkovitiji od trimera i tetramera (Vennat i sur., 1994.; Arteel i Sies, 1999.). Čini se da osim do određenog stupnja polimerizacije dolazi i do povećanja učinkovitosti tj. antioksidacijske aktivnosti.

2. 4. ŠEĆERI

2. 4. 1. Glukoza

Glukoza (Slika 18) je monosaharid i jedan od najvažnijih ugljikohidrata kako u prirodi tako i u prehrambenoj industriji. Koristi se kao izvor energije kod životinja i biljaka. Glukoza je jedan od glavnih produkata fotosinteze. Celuloza, škrob i glikogen su u potpunosti izgrađeni od glukoznih jedinica. Prirodni oblik D-glukoze, naziva se još i dekstroza, naročito u prehrambenoj industriji (Stick, 2001.; Babić, 2007.).



Slika 18 Strukturni prikaz molekule glukoze (Stick, 2001.)

Glukoza se komercijalno proizvodi hidrolizom škroba (enzimskom, kiselinskom i kiselinsko-enzimskom hidrolizom) (Kunamneni i Singh, 2005.; Babić, 2007.). Hidrolizom škroba i njegovom daljnjom preradom, osim glukoze, proizvodi se čitav niz proizvoda koji sadrže veći ili manji udio glukoze (glukozni sirupi s najmanje 20% masenog udjela suhe tvari izražen kao glukoza, fruktozni sirupi, totalni šećer).

Glukoza se koristi u prehrambenoj industriji u proizvodnji različitih konditorskih proizvoda, žvakaćih guma, voćnih prerađevina i dr.

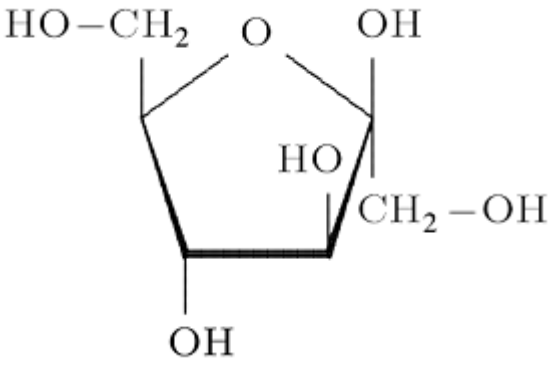
2. 4. 2. Fruktoza

Fruktoza (Slika 19) je prisutna u mnogim vrstama voća. Nalazi se u medu i u invertnom šećeru i sprječava njihovu kristalizaciju. Oko 1,3 do 1,7 puta je slađa od saharoze, a komercijalno se najviše proizvodi izomerizacijom glukoznog sirupa koji se dobiva hidrolizom škroba (Van der Maarel i sur., 2002.).

Fruktoza je keto-heksoza i ubraja se u jednostavne šećere. U usporedbi sa glukozom i saharozom više je higrosokopna i lakše topljiva. Zbog cijene, slatkoće i funkcionalnih svojstava koja pozitivno utječu na aromu i stabilnost proizvoda fruktoza se sve više

upotrebljava u proizvodnji prehrambenih proizvoda, naročito napitaka. Pored zaslađivača, fruktoza ima ulogu konzervansa u različitim proizvodima od voća.

U ljudskom organizmu resorpcija fruktoze i transport do stanice ne ovisi o inzulinu te se stoga može koristiti u proizvodnji hrane za dijabetičare (Sánchez-Lozada i sur., 2008.).



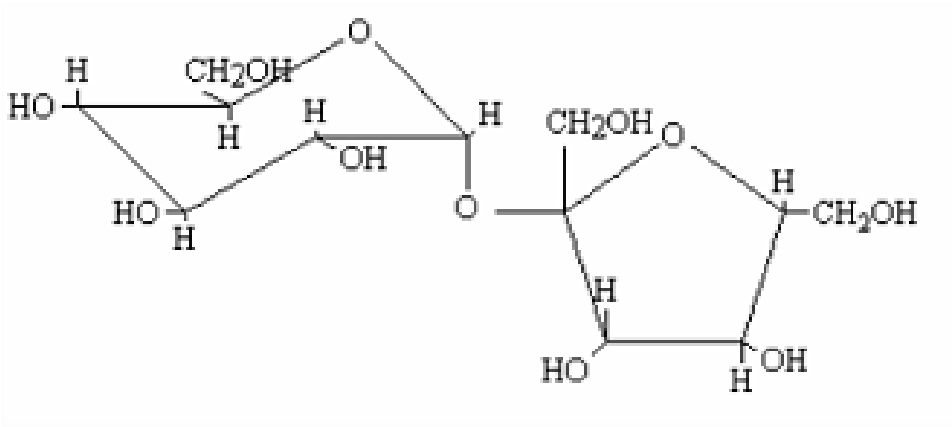
Slika 19 Strukturni prikaz molekule β-D-fruktoze (Stick, 2001.)

2. 4. 3. Saharoza

Saharoza je disaharid široko rasprostranjen u biljnom svijetu. Nalazi se u staničnom soku mnogih biljaka, a tehnički se uglavnom proizvodi iz šećerne repe i šećerne trske (proizvodnja iz ostalih sirovina, u svjetskim razmjerima je zanemariva). Konzumni šećer, odnosno kristalna saharoza je najvažnije sladilo u ljudskoj prehrani. Ima vrlo visoku energetsku vrijednost (1672 J/100 g), a uz masti je jedan od najjeftinijih izvora energije (Van Wymelbeke i sur., 2002.).

Saharoza je, prema IUPAC-u (1990.), disaharid (β-D-fruktofuranozil-α-D-glukopiranozid) kemijske formule $C_{12}H_{22}O_{11}$ i molekulske mase 342,303 g/mol. Dvije hidroksilne skupine na molekuli međusobno su povezane (glikozidnom vezom) u obliku etera te je stoga saharoza nereducirajući šećer (Slika 17). Kristalizira u monoklinskom sustavu i daje hemimorfne kristale. Kristal saharoze je vrlo složen i predstavlja kombinaciju šest kristalografskih oblika. Topljiva je u vodi, a netopljiva u većini organskih otapala (Stick, 2001.; Babić, 2007.).

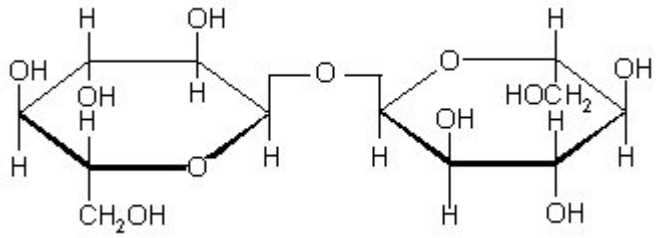
Saharoza je prije svega sladilo, zatim i sredstvo za konzerviranje brojnih prehrambenih proizvoda, a podjednako se upotrebljava u prehrambenoj industriji i kućanstvima. Dobro je topljiva u vodi, ima ugodan sladak okus, a u organizmu se potpuno i brzo resorbira (Stick, 2001).



Slika 17 Strukturni prikaz molekule saharoze (Stick, 2001.)

2. 4. 4. Trehaloza

Trehaloza (α,α-trehaloza) je disaharid koji se sastoji od dvije molekule D-glukoze vezane α-1,1 glikozidnom vezom (Slika 20). To je nereducirajući šećer koji se ne hidrolizira lako djelovanjem kiselina, te se glikozidna veza ne može cijepati pod utjecajem α-glukozidaze. Molekulska formula je $C_{12}H_{22}O_{11}$, a molekulska masa 342,21 daltona. Pročišćena se obično nalazi u obliku dihidrata i predstavlja tipični komercijalni proizvod. Kombinacija molekulske strukture trehaloze i fizikalno-kemijskih svojstava rezultira vrlo stabilnim disaharidom (Richards i sur., 2002.). Pregledom utjecaja trehaloze u živim sustavima dobije se uvid u moguće pozitivno djelovanje trehaloze na svojstva prehrambenih i medicinskih proizvoda. Osim zaštitne uloge, trehaloza ima i druga pozitivna svojstva koja proizlaze iz prirode stabilne veze. Jedno od tih svojstava je niska higroskopnost. Trehaloza ima slatkoću oko 40 – 45% slatkoće saharoze, jer se smatra da samo jedna molekula glukoze zauzima mjesto vezanja na receptoru okusa za slatko (Food standards, 2013.). Europska komisija je 2001. godine odobrila upotrebu trehaloze u prehrambenoj industriji donošenjem Regulative (EC) 258/97., nakon što su to učinile Sjedinjene Amerike države, Japan, Koreja i Tajvan, te nakon što je doneseno pozitivno mišljenje JECFA (Joint Expert Committee for Food Additives) (Food quality news, 2013.).



Slika 20 Kemijska formula trehaloze (Stick, 2001.)

Trehaloza se uspješno proizvodi od 1994 (Cargill, 2011). Trehaloza je prehrambeni sastojak s jedinstvenim svojstvima koja ju čine vrlo korisnim sastojkom sa širokom primjenom u formuliranju proizvoda i njihovom procesiranju. Primarno se može koristiti kao zamjena za saharozu kako bi se postigao više balansirani okus (smanjenje slatkoće) ili kako bi se poboljšao profil okusa. Trehaloza je nereducirajući šećer tako da ne podliježe Maillardovim reakcijama posmeđivanja. Pri povišenim temperaturama je otporna na kiselinsku hidrolizu i ne podliježe karamelizaciji (Food standards, 2013.). Može se koristiti kao dodatak u proizvodnji napitaka, kaša i punila, nutritivnih (energetskih) pločica, surimija, dehidratiranog voća i povrća, slatkiša itd. U instant proizvodima ubrzava rehidrataciju, a kod pekarskih proizvoda inhibira retrogradaciju škroba u većoj mjeri nego drugi šećeri i tako povećava njihovu stabilnost. Trehaloza ima stabilizirajući učinak na proteine tijekom sušenja ili zamrzavanja, te pridonosi zadržavanju strukture proteina nakon odmrzavanja i stabilizira disulfidne veze te na taj način sprečava stvaranje nepoželjne arome (Higashiyama, 2001.). Odobrenje trehaloze za upotrebu u prehrambenoj industriji omogućilo je tehnolozima razvoj novih prehrambenih proizvoda, te poboljšanje kvalitete i produljenje vijeka trajanja već postojećih proizvoda (Food standards, 2013.). Trehaloza se može koristiti u prehrambenim proizvodima u kojima se zahtijevaju fizikalna svojstva saharoze, ali sa smanjenom slatkoćom.

2. 5. Nusprodukti prerađivačke industrije voća i povrća

U današnje vrijeme, globalizacija je povećala međunarodnu trgovinu hranom. Prednost je širi izbor namirnica i prehrambenih proizvoda, odnosno mogućnost raznovrsne prehrane tijekom cijele godine te niže cijene sirovina i prehrambenih proizvoda. Međutim, posljedica intenzivne proizvodnje hrane je velika količina otpada koja nastaje preradom i pakiranjem (Tablica 8). Navedeni otpad se može koristiti na nekoliko načina, uključujući neposredno odlaganje u obliku gnojiva/komposta, sušenje otpada kako bi se koristio kao stočna hrana ili dodatak stočnoj hrani, ili obrađivanje otpada s ciljem dobivanja biomase (Gautam i sur., 2007.; Hawkins, 2010). Odlaganje i kompostiranje otpada nije ekonomično, a sušenje je skupo zbog troškova sušenja. Prehrambena industrija napreduje u rješavanju ovog problema kroz iskorištavanje otpadnih materijala, kao što su kora, pulpa, komina nakon prešanja, korištenjem niza metoda između kojih je i upotreba fermentacijskih procesa. Sadržaj proteina, u otpadu od voća i povrća s odgovarajućom količinom ugljikohidrata koji se mogu fermentirati, se može povećati na 20-30% fermentacijom na čvrstoj podlozi. Kao podloga za fermentaciju su se uspješnim pokazali nusprodukti naranče, mrkve, jabuke, graška, krumpira. Kao produkt fermentacije nusprodukata navedenog voća i povrća su ocat, limunska kiselina, octena kiselina, etanol i dr. (Gautam i sur., 2007.). No u posljednje vrijeme se sve više pažnje poklanja obradi nusprodukata industrije voća i povrća u vidu dobivanja odgovarajućih spojeva tzv. „fitokemikalija“ (vitamini, minerali, vlakna, polifenoli i dr.) koje se mogu vratiti natrag u proizvod i time ga obogatiti.

Tablica 8 Procijenjeni gubitak na voću i povrću u razvijenim zemljama (Maini i Seithi, 2000.).

Voće	Procijenjeni gubitak (%)	Povrće	Procijenjeni gubitak (%)
Banana	20-80	Luk	16-35
Papaja	40-100	Rajčica	5-50
Avokado	43	Kupus	37
Marelica	28	Zelena salata	62
Citrusi	20-95	Mrkva	44
Grožđe	27	Krumpir	5-40
Jabuke	14	Batat	35-95

Nusprodukti nastali preradom jabuka

Proizvodnja jabuka u svijetu je u porastu posljednjih godina. Rastom proizvodnje jabuka, raste i prerada jabuka u proizvode različitog stupnja procesiranja. Od jabuka se može dobiti cijeli niz proizvoda (sokovi, kompoti, kaše, pekmez, marmelada, džem, ocat, punilo za pekarske proizvode, i dr.), a nakon prerade jabuka, više ili manje nastaje ostatak, ili otpad, koji se može, do određene mjere iskoristiti (preraditi) za cijeli niz proizvoda.

U industrijskoj preradi jabuka u sokove, u prosjeku se dobije oko 75% soka i 25% ostatka tj. komine. U nekim državama u kojima se industrijski prerađuju jabuke zaostaju velike količine otpada ili nusprodukata jabuka, koji se ne koriste za ljudsku prehranu. Taj ostatak, ako se nekontrolirano odlaže u prirodu, zbog fermentacije i visoke kemijske potrošnje kisika (KPK) od 250 do 300 g/kg stvara problem i zagađuje okoliš. Zbog toga se u mnogim razvijenim zemljama otpad obrađuje i/ili prerađuje u cijeli niz korisnih proizvoda. Iskorištenje otpada je nužnost i izazov za prehrambenu prerađivačku industriju. No, potrebno je, prije svega razmotriti kako se može postići ekonomičnost kroz dodanu vrijednost nusprodukta (Mahawara i sur., 2012.). U Tablici 9 se mogu vidjeti neki primjeri obogaćenih proizvoda kominom od jabuka.

S ekonomskog i ekološkog stajališta, komina koja nastaje nakon prešanja jabuka se smatra dobrom sirovinom za dobivanje pektina. Pektin čini 10-15% komine (računato na suhu tvar), a može se ekstrahirati kiselinskom ekstrakcijom i precipitacijom. U usporedbi s pektinom dobivenim od citrusa, pektini dobiveni od komine jabuke imaju bolja svojstva želiranja. Svjetlo smeđa boja pektina dobivenog iz komine potječe od oksidiranih polifenolnih spojeva koji se ekstrahiraju i djelomično talože zajedno s pektinom. Pektin se može ekstrahirati iz komine od jabuke s limunskom (6,2 g/100 mL) i dušičnom kiselinom, a vrijeme reakcije je 153 min (Orzua i sur., 2009.).

Komina od jabuke je dobar izvor polifenola, budući da se znatno veće količine polifenolnih spojeva nalaze u kori i samo se mali dio ekstrahira u sok tijekom prešanja jabuka (Balasundram i sur., 2006.). Međutim, do sada nije napravljeno puno detaljnih istraživanja koja su se bavila određivanjem polifenola iz industrijski dobivene komine, koja je dobivena nakon prerade više sorti jabuka (Bai i sur., 2013.).

Tablica 9 Produkti obogaćeni kominom jabuke (dodana vrijednost) (Mahawara i sur., 2012.)

Proizvod	Uvjeti	Napomene
Bezalkoholna pića	UST: 12 °Brix Kiselost: 0,30-0,35%	Ekstrakt komine jabuke se miješa sa sokom od jabuke ili šećerom. Sok nakon miješanja, filtracije, karbonizacije i pasterizacije ima prihvatljiva organoleptička svojstva.
Džem	Optimalni omjer razrjeđenja za pripravu džema je 1:3; 1:1,25 najbolji odnos pulpe i šećera	Faza u kojoj se sakuplja komina utječe na kemijska svojstva produkta.
Žele		Kriške jabuke se s kominom od jabuke kuhaju u vodi u omjeru 1:1; 25 min odnosno 35 min. Koncentrat soka razrijeđen do udjela suhe tvari 15 °Brix ima dobra svojstva za pripravu želea.
Umak od komine	Optimalni omjer pulpe i šećera 1:1,2	Trajnost proizvoda 6 mjeseci.
„Papad“ od komine jabuke	Komina od jabuke s udjelima šećera 10, 15, 20%	Produkt s 15% šećera ima najbolja svojstva. Tijekom skladištenja dolazi do povećanja udjela UST, ukupnih i reducirajućih šećera, udjela kiselina
Karamela, kruh i kolači	Komina od jabuke	Kruh s 20%, kolači s 30% udjela praha od komine jabuke imaju zadovoljavajuća organoleptička svojstva.

UST – ukupna suha tvar

Glavni izolirani i identificirani polifenolni spojevi su katehini, hidroksicinematne kiseline, floretin glikozid, kvercetin glikozidi i procijanidini (Zhang i sur., 2012.; Khanizadeha i sur., 2008.; Henríquez i sur., 2010.; Bai i sur., 2013.). Klasičnim dobivanjem soka (prešanjem nakon enzimske obrade) se dobije sok s malom količinom polifenola i samo 3-10% antioksidacijske aktivnosti, u usporedbi s cijelim plodom od kojeg je sok dobiven (Đilas i sur., 2009.). S obzirom na činjenicu da je većina polifenola ostala u komini, komercijalna eksploatacija takvog nusprodukta za dobivanje tih spojeva je obećavajuća. Bai i sur. (2013.) su utvrdili da se s 40%-tnom vodenom otopinom etanola postiže najbolja ekstrakcija polifenola. U njihovom istraživanju su provodili ekstrakciju polifenola iz industrijski dobivene komine. Udio ukupnih polifenola je iznosio 1,48 g GAE/g DW, antioksidacijska aktivnost mjerena DPPH metodom je iznosila 90,96%, a antioksidacijska aktivnost mjerena metodom ABTS, 89,78% (Bai i sur., 2013.).

Alternativni pristup iskorištenja jabučne komine je enzimska likvefakcija s pektinazama i celulazama čime se poboljšava oslobađanje polifenola ali se onemogućuje iskorištavanje pektina. Carle i sur. (2001.) su uhodali metodu za kombinirano iskorištenje pektina i

polifenola iz jabučne komine. Uspjeli su poboljšati boju pektina ne utječući na njegova želirajuća svojstva. Dakle, uklanjanjem oksidiranih polifenola može se proširiti primjena rafiniranog pektina. Osim toga, polifenolni spojevi se mogu dobiti u dobrim prinosima, a prednost je što se „clean-up“ postupak lako može integrirati u proizvodnju pektina.

Sirovine bogate šećerima vrlo su pogodne za proizvodnju etanola, budući da već sadržavaju jednostavne šećere glukozu i fruktozu, koji mogu fermentirati izravno u etanol, dok sirovine koje sadržavaju velike molekule ugljikovodika treba razložiti na jednostavne šećere procesom saharifikacije. Parmar i sur. (2013.) su opisali unaprijeđeni proces enzimske hidrolize i dobivanja etanola i octene kiseline. Prema navedenom istraživanju optimalni uvjeti za enzimsku saharifikaciju su: enzimska aktivnost celulaze, 43 jedinica; pektinaze, 183 jedinica; β-glukozidaze, 41 jedinica/g DW; temperatura, 40 °C; pH 4,0 i vrijeme, 24 h. Prinos od 19,0 g etanola/100 g DW se može postići fermentacijom šećera sa *Saccharomyces cerevisae*. Daljnja biotransformacija s *Acetobacter aceti* rezultira produkcijom octene kiseline u koncentraciji od 61,4 g/100 g DW (Parmari sur., 2013.). Industrijski proizvodi dobiveni od komine jabuke su prikazani u Tablici 10.

Sjemenka jabuke predstavlja dobar izvor linoleinske kiseline i floridzina, pokazalo je istraživanje koje su proveli znanstvenici s Novog Zelanda, sastav sjemenke jabuke dan je u Tablici 11. Masne kiseline su najzastupljenija grupa spojeva nađena u nepolarnoj frakciji sjemenki jabuke (linoleinska kiselina 51,2%). U polarnoj frakciji su zastupljeni amigdalin i floridzin (75%) (Lu i Yeap, 2008.).

Tablica 10 Industrijski proizvodi dobiveni od komine jabuke (Mahawara i sur., 2012.)

Produkt	Uvjeti	Napomene
Prah od jabuke		Sok se koncentrira i prevodi u stabilnu pjenu dodatkom tvari za pjenjenje (glicerol monostearat, proteini jajeta, proteini soje)
Pektin	Komina se osuši i usitni kako bi se dobilo brašno od jabuke koje se koristi kao sirovina za proizvodnju pektina. pH 1,5-2, temp. 80-90 °C, vrijeme ekstrakcije 1-3 h.	Pektin dobiven iz komine Golden Deliciousa ima dobra svojstva želiranja. Pektin se može ekstrahirati limunskom ili dušinom kiselinom. Koncentracija limunske kiseline je 6,2 g/100 mL, a vrijeme reakcije 153 min. Dobiveni pektini su visokoesterificirani (54,5-79,5%).
Octena kiselina		Fermentacija s *Aspergillus niger* pod kontroliranim uvjetima. Dodatkom metanola se može povećati prinos octene kiseline.
Aromatske tvari		Ekstrakcijom tekućim CO_2 se dobije produkt s širim aromatskim spektrom od onog koji se dobije običnom destilacijom.
Etanol	Fermentacija na 30 °C, 96 h	Fermentacija u čvrstoj fazi sa inakuliranim vinskim kvascem. Nužan je dodatak N, P i K. Fermentacija u čvrstoj sa *Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis i Torula* su se pokazali dobrim za industrijsku upotrebu.
Ugljen		Osušena komina se može koristiti za izradu ugljena koji se pak koristi za pročišćavanje vode.
Mikrobna biomasa	Saccharomyces lypolitica i trichoderma reesei	Nakon fermentacije se može koristiti kao hrana za stoku.
Hrana za životinje		Komina (u svježem i osušenom stanju) se koristi kao hrana za stoku. Fermentacijom se može povećati udio proteina na 3,4-7,5%
Mikrobni pigmenti	Inkubacija na 30 °C, 72 h.	Uzgoj mikroorganizama koji proizvode pigmente na jeftinom mediju je među novijim pristupima iskorištavanja komine. Karotenoidi se mogu dobiti uzgojem kvasaca roda Rhodotorula na komini jabuke.

Tablica 11 Sastav ekstrakta sjemenke jabuke (Lu i Yeap, 2008.)

Br. pika	Retencijsko vrijeme	Spoj (m/z)	%	Br. pika	Retencijsko vrijeme	Spoj (m/z)	%
1	4,03	benzaldehid	t	**27**	19,2	metil stearat	4,33
2	4,76	nepoznati (45, 59 ,72, 89)	0,42	**28**	19,57	etil linoleat	4,31
3	6,52	metil octanoat	t	**29**	19,61	etil oleat	t
4	6,77	Nepoznati (41, 55 ,69, 84)	0,4	**30**	19,81	etil stearat	t
5	7,43	2-dodekanal	t	**31**	20,19	metil nonadekanoat	t
6	8,11	metil nomnanoat	t	**32**	20,88	trikosan	4,29
7	8,3	heksil pentanoat	t	**33**	21,15	metil eikosanoat	1,05
8	9,25	deka-2,4-dienal	0,49	**34**	21,47	metil eikosanoat	2,18
9	9,6	izomer pika 8	0,63	**35**	21,74	an alken	0,38
10	10,51	heksil heksanoat	0,54	**36**	21,92	butil linoleat	1,5
11	12,23	nepoznati (41, 91, 107)	1,74	**37**	22,22	heksil palmitat	0,61
12	12,83	nepoznati (41, 69)	0,49	**38**	23,01	metil heneiksoanoat	t
13	12,98	nepoznati (41, 110, 152)	1,22	**39**	24,99	metil dokosanoat	0,72
14	13,13	heksil oktanoat	0,49	**40**	25,59	heksil linoleat	3,3
15	14,26	nepoznati (43, 119)	0,77	**41**	26,24	a benzil ester	t
16	14,41	nepoznati (43, 93, 162)	2,62	**42**	27,49	metil trikosanoat	t
17	14,86	metil miristat	t	**43**	30,72	metil tetrakosanoat	t
18	15,33	nepoznati (43, 110)	0,99	**44**	31,88	nepoznati (91, 279)	1,13
19	15,99	metil pentadekanoat	t	**45**	34,96	skvalen	3,4
20	16,87	metil palmitoleat	t	**46**	38,52	nonakosan	3,59
21	17,14	metil palmitat	9,93			palmitinska kiselina	10,49
22	17,79	etil palmitat	0,56			stearinska kiselina	4,33
23	18,13	metil heptadekanoat	0,28			oleinska kiselina	4,12
24	19,05	metil linoleat	37,71			linolna kiselina	51,15
25	19,08	metil linolenat	5,6			linoleinska kiselina	5,6
26	19,09	metil oleat	4,12			ukupne masne kiseline	80,91

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. 1. ZADATAK

Zadatak ovog rada je bio:

- Ispitati utjecaj dodatka:
  - šećera (saharoze, glukoze, fruktoze i trehaloze), 1 i 5%,
  - kore jabuke (osušene liofilizacijom), 3 i 5%,
  - osušene kore jabuka u kombinaciji sa svakim pojedinim šećerom

  na sadržaj ukupnih fenola i antioksidacijsku aktivnost zamrznutih i liofiliziranih kaša od jabuke.

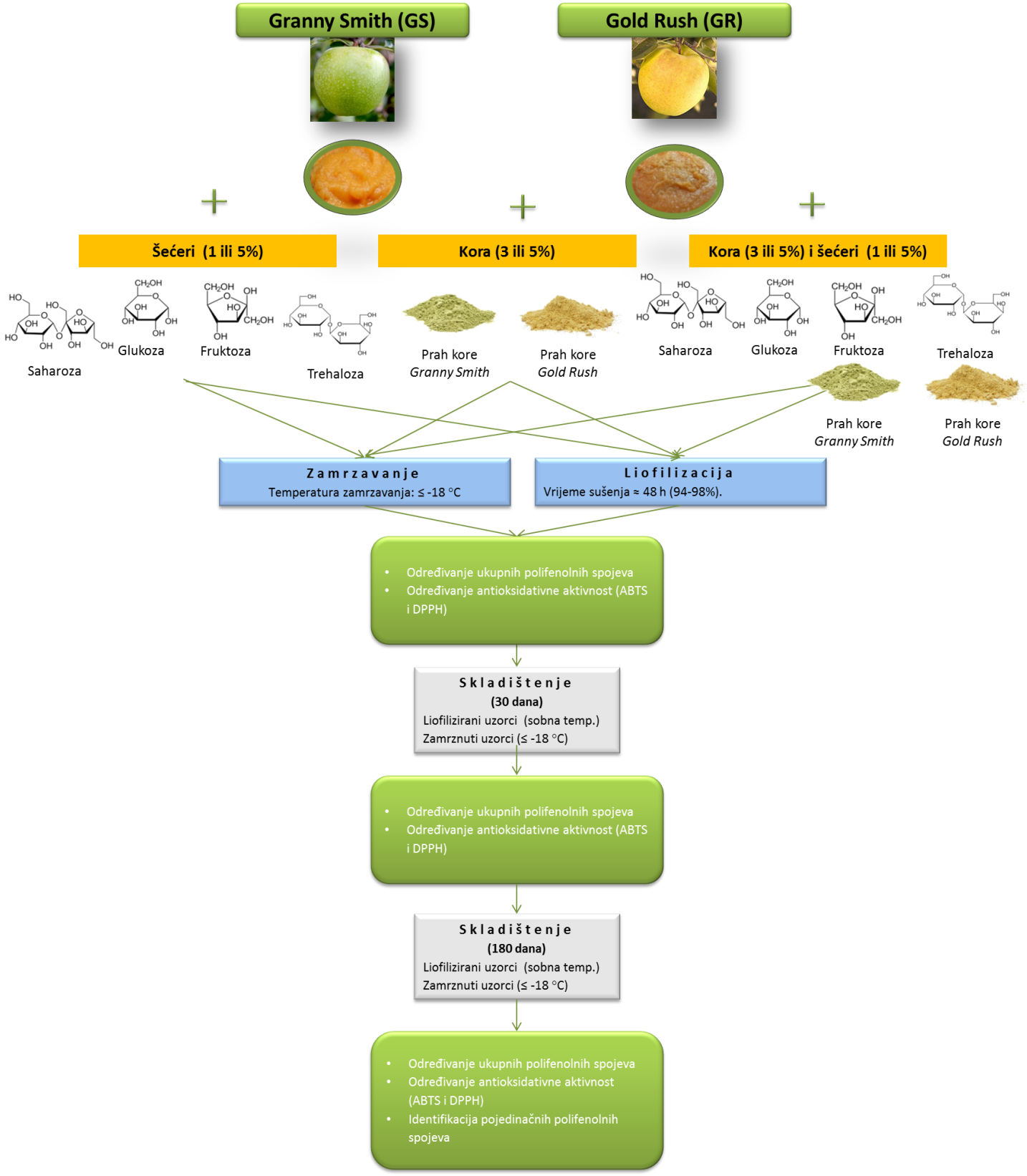
- Provesti identifikaciju polifenolnih spojeva:
  - flavonola (kvercetin, rutin),
  - flavanola (procijanidin B2, (+)-katehin i (-)-epikatehin),
  - hidroksicimetnih kiselina (kava i klorogenska kiselina) i
  - dihidrohalkona (floretin i floridzin)

  prisutnih u kašama jabuka, HPLC metodom koja je validirana za njihovo kvantitativno i kvalitativno određivanje.

- Odrediti antioksidacijsku aktivnost kaša primjenom dviju različitih metoda: $DPPH^{\cdot}$ i $ABTS^{\cdot+}$ metode.

Uzorci s dodatcima (šećeri i osušena kora jabuke) uspoređivani su s kontrolnim uzorkom, kašom jabuke bez dodataka.

U dosadašnjim istraživanjima (Malien-Aubert i sur., 2001.; Dyrby i sur., 2001.; Hubbermann i sur., 2006.; Kopjar i sur., 2008.; Ścibisz and Mitek, 2009.; Kopjar i sur., 2009.) je utvrđeno da dodatak šećera u različite proizvode odnosno poluproizvode od voća utječe pozitivno na udio polifenola (veću stabilnost) i antioksidacijsku aktivnost.



Slika 20 Shematski prikaz rada

U preliminarnim istraživanjima (u okviru ovog doktorskog rada) bile su obuhvaćene četiri sorte jabuka (*Idared, Fuji, Gold Rush* i *Granny Smith*), međutim, za daljnja istraživanja odabrane su sorte *Gold Rush* i *Granny Smith* zbog toga što sadrže znakovito veće udjele polifenolnih tvari i zato što je do sada napravljeno vrlo malo istraživanja sa sortom *Gold Rush*. Odabirom tih sorti napravljena je usporedba poznate konvencionalne sorte *Granny Smith* i novije sorte *Gold Rush.*

Također je jedan od ciljeva rada bio utvrditi imaju li načini procesiranja (zamrzavanje i sušenje liofilizacijom) i dodaci isti učinak na udio polifenola odnosno antioksidacijsku aktivnost kaše jabuke.

3. 2. MATERIJALI I METODE

3. 2. 1. Materijali

Sirovina

Sirovina, tj. jabuke potrebne za pripremu kaše dobivene su od Poljoprivrednog instituta Osijek (Hrvatska). Jabuke sorte *Granny Smith* (GS) i *Gold Rush* (GR) uzgojene su na srednje bujnoj podlozi M9. Jabuke su ubrane na području Nemetina u Osječko-baranjskoj županiji u periodu 2011. i 2012. godine u stadiju konzumne zrelosti. Do uzimanja voća za pokuse jabuke su čuvane u hladnjačama Poljoprivrednog instituta Osijek pri temperaturama od 2 do 6 ^{o}C. Svježe i procesirane (zamrznute i liofilizirane) jabuke su skladištene 180 dana. Eksperimenti su provedeni u periodu od listopada 2011. god. do srpnja 2012. god.

Kemikalije

- Folin-Ciocalteu, natrijev hidrokisd, metafosforna kiselina, ledena octena kiselina, askorbinska kiselina, natrijev karbonat, trolox, kalcijev karbonat, bakrov sulfat penta hidrat, kalijev tiocijanat, kalijev jodid, kalijev ferocijanid, cinkov acetat (Kemika, Zagreb, Croatia),
- 2,6-diklorofenol indofenol, floretin, (+) katehin, (-) epikatehin, rutin, kvercetin, klorogenska kiselina, kava kiselina (Sigma Chemical Co. St. Louis, USA),
- 2,2'-azinobis(3-etilbenztiazolin-sulfonska kiselina), procijanidin *B2* (Fluka, St. Louis, USA),
- Floretin, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (Aldricht, St. Louis, USA),

- Metanol (HPLC gradient grade) i o-fosforna kiselina (85%) (Panareac, Barcelona, Španjolska).

3. 2. 2. Metode

3. 2. 2. 1. Priprema kaše

Jabuke (sorte *Granny Smith* (GS) i *Gold Rush (GR)*) su skladištene na temperaturi 2 - 6 °C do provedbe eksperimenta. Jabuke su držane sat vremena na sobnoj temperaturi prije pripreme uzoraka. Nakon pranja i vađenja sjemene lože, kaša od jabuka je pripremljena mikserom (Braun Multiquick Professional 600 Watt Turbo, Germany). Od kaše su pripremljeni uzorci za određivanje kemijskog sastava, polifenola i antioksidacijske aktivnosti. Uzorci s dodatkom šećera odnosno praha kore jabuka su pripremljeni tako da su se nakon dezintegracije jabuka u pripremljene kaše dodavali šećeri (saharoza, glukoza, fruktoza i trehaloza) odnosno prah kore jabuka. Prah kore jabuka sorte GS se dodavao u kaše pripremljene od jabuka sorte GS, a prah kore jabuka sorte GR u kaše pripremljene od jabuka sorte GR. Jedan dio uzoraka je zamrznut u zamrzivaču (-18 °C), a dio je liofiliziran do udjela suhe tvari 94 do 98%, a radi provedbe eksperimenta sa zamrznutim i dehidratiranim kašama.

3. 2. 2. 2. Priprema praha kore jabuka

Prah kore jabuka je pripremljen dehidratacijom (liofilizacijom) kore jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush*. Kora jabuka uklonjena je nožem za uklanjanje kore jabuke (Adamo lo sbuccia, Italy). Debljina kore je u prosjeku bila od 1 do 2 mm. Nakon guljenja, kora jabuka je liofilizirana do udjela suhe tvari od 98 do 99% nakon čeka je samljevena u mlinu (First FA-5481-1, Austrija) kako bi se dobio prah. Prah kore jabuke čuvan je u hermetički zatvorenim tamnim staklenim posudama (pulvericama) pri sobnoj temperaturi.

3. 2. 2. 3. Priprema uzoraka kaše od jabuka zamrzavanjem i liofilizacijom

Zamrzavanje

Zamrzavanjem se, za razliku od hlađenja, može konzervirati neka namirnica na mnogo duže, a pod određenim uvjetima praktički neograničeno vrijeme. Konzerviranje zamrzavanjem se bazira na činjenici da su izdvajanjem vode u vidu kristala leda i sniženjem temperature praktički zaustavljeni kemijski, biokemijski i mikrobiološki procesi (Lovrić, 2003).

Uzorci kaše od jabuka su zamrzavani u zamrzivaču (Gorenje FH331W, Slovenija) pri -18 °C.

Liofilizacija

Liofilizacija je jedinstveni postupak sušenja namirnice u zamrznutom stanju. Sastoji se iz nekoliko karakterističnih značajnih koraka, koji obuhvaćaju operacije zamrzavanja i dehidratacije (a-sublimacijom i b-desorpcijom), te kondicioniranja proizvoda (uključujući pakiranje i skladištenje). Svaka od spomenutih operacija zahtijeva posebnu pažnju, jer o uspješnosti primijenjenih tehničkih rješenja ovisi kvaliteta i stabilnost proizvoda te ekonomičnost samog postupka (Lovrić, 2003).

Dehidratacija liofilizacijom provedena je u liofilizatoru GAMMA 2-20 (Martin Christ, Njemačka) prema procesnim uvjetima prikazanim u Tablici 12. Proces liofilizacije trajao je oko 48 h a provodio se je do postizanja suhe tvari uzoraka 94 do 98%.

Tablica 12 Prikaz procesnih parametra za liofilizaciju uzoraka

Operacija	Temperatura (°C)	Vrijeme (h)	Vakuum (mbar)
Zamrzavanje	-55	5	atm
Sublimacija	-35	20	0,220
	-15	20	0,220
	0	2	0,065
Izotermna desorpcija	0	2	0,065
	10	2	0,065
	20	2	0,065

atm – atmosferski tlak

3. 2. 2. 4. Određivanje suhe tvari sušenjem u vakuumu

Postupak: U izvaganu posudu od aluminija odvaže se 20 g pijeska, suši 1 sat, ohladi i izvaže. Osušena i izvagana posuda s pijeskom, staklenim štapićem i uzorkom (10 g) stavi se u vakuum sušionik (Kambič VS 50S, Slovenija) na 70 °C. Suši se pri sniženom tlaku (30 mPa) u struji zraka, protoka 10 L/h, 5 sati, bez poklopca. Nakon toga se poklopac stavi na posudu, posuda se izvadi iz sušionika, ohladi u eksikatoru (30 minuta) i nakon toga važe s točnošću 0,0002 g. Dosušivanje se radi pri istim uvjetima u trajanju od 1 sata.

$$\%\, Suhe\ tvari = \frac{M_2 - M_1}{M_1 - M_0} \times 100 \qquad (5)$$

M_0 - masa posude s pijeskom, staklenim štapićem, poklopcem) u g,

M_1 - masa iste posude s uzorkom prije sušenja, u g

M_2 - iste posude s uzorkom poslije sušenja, u g

3. 2. 2. 5. Mjerenje topljive suhe tvari refraktometrom

Na prizmu refraktometra (Carl Zeiss Jena, DDR) nanese se nekoliko kapi soka ploda voća, spusti se poklopac i svjetlost se usmjeri prema prizmi. Na ljestvici s vrijednostima suhe tvari se očita vrijednost suhe tvari u % po Brixu. Refraktometrom se mjeri topljiva suha tvar na osnovi loma zrake svjetlosti na granici dviju različitih tvari (zrak/tekućina), a dana je odnosom između brzine prolaza svjetlosti kroz zrak i tekućinu (sok jabuke). Lom svjetla se očitava na skali od 0 do 30% po Brixu.

3. 2. 2. 6. Određivanje kiselina (titrimetrijski)

Postupak: U Erlenmayer-ovu tikvicu s brušenim grlom odvaže se 10 g uzorka (kaše) s točnošću 0,01 g, doda 100 mL destilirane vode, dobro promiješa i zagrijava na vodenoj kupelji do 80 °C. Nakon hlađenja, sadržaj iz tikvice se prenese u odmjernu tikvicu od 250 mL i tikvica se nadopuni do oznake destiliranom vodom, a zatim se njen sadržaj filtrira. Ovisno o očekivanoj kiselosti otpipetira se uzorak (50 mL), i prenese u Erlenmayerovu tikvicu. Dodaje se 3-4 kapi fenoftaleina i titrira s 0,1 M natrijevim hidroksidom (NaOH) do promjene boje u trajanju od najmanje 30 sekundi.

$$Kiselost = \frac{A \times k \times 100}{O_k} g/100\ g \qquad (6)$$

A - mL 0,1 M NaOH trošenih za titraciju

O_k - količina uzorka (g)

K - 0,0067

3. 2. 2. 7. Određivanje šećera po Luff-Schoorl-u

Određivanje reducirajućih šećera

Postupak: U odmjernu tikvicu od 20 mL odvaže se 25 g uzorka. Sadržaju u tikvici se doda 1-2 g kalcijeva karbonata $CaCO_3$ da bi se postigla slabo kisela reakcija i potom promiješa.

Doda se 5 mL reagensa I i 5 mL reagensa II, promiješa i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Promiješa se još jednom da se sadržaj potpuno homogenizira. Kada se gornji sloj počne izdvajati profiltrira se preko suhog, nabranog filtar papira u suhu tikvicu. Dobiveni filtrat se zove F1.

U tikvicu od 300 mL pipetom se odmjeri 25 mL Luffove otopine i doda otopina šećera koja treba sadržavati nešto manje od 100 mg šećera te toliko destilirane vode da volumen iznosi 50 mL. Radi se slijepa proba sa 25 mL Luffove otopine i 25 mL destilirane vode. Po dodatku staklenih kuglica sadržaj se zagrijava tako da prokuha za dvije minute i da se umjereno vrenje nastavi 10 minuta. Zagrijavanje se provodi preko azbestne mrežice uz povratno hladilo. Kada je završeno zagrijavanje, sadržaj se naglo hladi pod mlazom hladne vode, a poslije dvije minute dodaje se 3 mL otopine kalijeva jodida (KI). Promiješa se brzo, i pažljivo dodaje 20 mL 25% sumporne kiseline (H_2SO_4) i 10 mL otopine kalij tijocijanata (KCNS). Tikvica se mućka do prestanka šuma. Istaloženi jod se titrira otopinom natrijeva tiosulfata uz dodatak škroba (indikator) dok se ne izgubi plava boja.

S. P. ≈ 25 mL

$$\%\ reducirajućih\ šećera = \frac{a \times 100}{m} \quad (7)$$

a = mg šećera izračunati iz Tablice 13

m – masa uzorka u mg

Određivanje ukupnih šećera

Postupak: Otpipetira se 50 mL filtrata F1 u odmjernu tikvicu od 100 mL i doda 5 mL HCl-a te se sve dobro promiješa. Zatim se zagrijava 10 minuta u vodenoj kupelji pri 70 °C (fruktoza se raspada na višim temperaturama), brzo se hladi uz stalno miješanje, neutralizira s 20% -tnom NaOH uz metiloranž kao indikator. Ohladi se na sobnu temperaturu i dopuni destiliranom vodom do oznake. Dobiveni filtrat je F2. Postupak dalje ide kao kod određivanja reducirajućih šećera.

$$\%\ reducirajućih\ šećera = \frac{a \times 100}{m} \quad (8)$$

a = mg šećera izračunati iz Tablice 13

m – masa uzorka u mg

V (S.P.) – V (uzorka) = mL Na-tiosulfata (9)

Tablica 13 Tablica za računanje količine šećera

mL Na-tiosulfata	Glukoza, fruktoza ili invertni šećer		Laktoza		Maltoza	
	mg	razlika	mg	razlika	mg	razlika
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1
16	41,3	2,9	58,9	3,9	63,9	4,1
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3
19	50,0	3,0	71,7	4,0	75,5	4,4
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6
23	62,2	3,1	88,0	4,1	94,6	4,6

3. 2. 2. 8. Određivanje askorbinske kiseline

Priprema kemikalija:

Otopina za ekstrakciju HPO_3-HOAc

30 g metafosforne kiseline (HPO_3) otopi se u 80 mL ledene octene kiseline (HOAc) koja je dodana u 800 mL vode. Sadržaj se miješa na miješalici dok se sva HPO_3 ne otopi, nakon toga se sadržaj prenese u odmjernu tikvicu od 1000 mL i nadopuniti do markice. Otopina se profiltrira kroz grubi filtar papir i spremi u hladnjak (7-10 dana).

Standardna otopina 2,6-indofenola

0,25 g Na-sol 2,6-diklorfenolaindofenola (DCIP) otopi se u 250 mL destilirane vode kojoj je prethodno dodano 0,21 g natrijevog hidrogen karbonata ($NaHCO_3$). Sadržaj se prenese u odmjernu tikvicu od 1000 mL i dopuni do markice. Nakon filtriranja otopina se čuva u hladnjaku u tamnoj boci.

Standardna otopina askorbinske kiseline

0,01 g askorbinske kiseline (AA) otopi se u 10 mL otopine za ekstrakciju (HPO_3-HOAc).

Postupak:

1. Titracija standardne otopine askorbinske kiseline

2 mL AA prenese se u erlenmayerovu tikvicu od 50 mL i doda 5 mL otopine za ekstrakciju (HPO_3-HOAc). Titrira se otopinom indofenola do prve pojave svijetlo ružičaste boje koja je stabilna 5 sekundi.

2. Slijepa proba

7 mL HPO_3-HOAc prenese se u erlenmayerovu tikvicu od 50 mL koja sadrži 7 mL destilirane vode i titrira se s DCIP-om (S. P. ≈ 0,1 mL).

3. Određivanje AA u uzorku

a) dezintegrirati uzorak, 15 g uzorka prebaciti u čašicu te dodati 50 mL otopine za ekstrakciju HPO_3-HOAc
b) sadržaj brzo prebaciti u odmjernu tikvicu od 100 mL te mućkati 2 minute, nakon čega tikvicu nadopunimo do oznake sa HPO_3-HOAc
c) sadržaj filtrirati preko vakuuma kroz Büchnerov lijevak i filtar papir Whiteman 4
d) 10 mL alikvota filtrata netretiranog uzorka, odnosno 2 mL alikvota filtrata tretiranog uzorka prenese se u erlenmayerovu tikvicu od 50 mL i doda 5 mL otopine za ekstrakciju HPO_3-HOAc i titrira sa DCIP-om.

Račun:

Od utroška mL DCIP-a za standardnu otopinu AA oduzme se mL DCIP-a utrošenih za S. P.; mg AA otopljeni u standardnoj otopini (oko 2 mg), podjele se sa tom razlikom i dobije se faktor kojim se stalno množe mL utroška DCIP-a dobiveni titracijom uzorka.

$$Količina\ AA = \frac{(ml\ DCIP\ za\ uzorak - ml\ DCIP\ za\ S.P.) \times faktor}{ml\ filtrata\ uzorka} \times \frac{100}{g\ uzorka} \times 100 \qquad (10)$$

3. 2. 2. 9. Određivanje tvrdoće penetrometrom

Tvrdoća plodova određivana je ručnim penetrometrom Effegi, tip FT 327 (Italija) sa skalom izraženom u kg/cm^2 i klipom promjera 11 mm. Na plodu se odstrani kora na četiri mjesta na najvećem promjeru ploda. Penetrometrom se pritišće na meso ploda gdje je odstranjena kora i očita se vrijednost na skali, nakon što je klip penetrometra prodro u meso ploda.

3. 2. 2. 10. Određivanje pH vrijednosti

pH vrijednost određivana je pH metrom (Mettler Toledo MP 225, UK). Prije mjerenja pH vrijednosti zamrznutim uzorci su temperirani na sobnu temperaturu, dok su liofilizirani uzorci rehidratirani na početni udio suhe tvari.

3. 2. 2. 11. Priprema ekstrakta za analizu ukupnih polifenola i antioksidacijsku aktivnost

Uzorci su ekstrahirani sa zakiseljenim metanolom (metanol : koncentrirana HCl = 49 : 1). Liofilizirani uzorci kaša jabuka su rehidratirani na početni udio suhe tvari dok su zamrznuti uzorci ostavljeni da se odmrznu i temperiraju. Izvagano je, ovisno o očekivanoj količini polifenola, 1 ili 2 g uzorka u laboratorijsku čašu od 10 mL, te je dodano 10 mL zakiseljenog metanola. Smjese su ostavljene na sobnoj temperaturi 1 sat. Nakon toga uzorci su profiltrirani kroz nabrani filtar papir. Ekstrakt je korišten za određivanje ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti.

3. 2. 2. 12. Određivanje ukupnih polifenola

Koncentracija ukupnih fenola je određena Folin-Ciocalteu metodom (Ough i Amerine, 1998.). Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje za galnu kiselinu.

U epruvetu se otpipetira se 0,2 odnosno 0,1 mL uzorka, 1,8 odnosno 1,9 mL destilirane vode, 10 mL Folin-Ciocalteu reagensa i 8 mL otopine natrijevog karbonata. Promućka se i ostavi da stoji 2-20 sati na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Apsorbancija otopine se određuje na spektrofotometru pri 765 nm. Slijepa proba pripravi se s destiliranom vodom (2 mL). Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

3. 2. 2. 13. Određivanje antioksidacijske aktivnosti

Uklanjanje ili vezanje slobodnih radikala je glavni mehanizam djelovanja antioksidanasa u hrani. Nekoliko metoda je razvijeno za određivanje antioksidacijske aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. One koje su najčešće koriste 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2,2'-azinobis(3-etilbenztiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

DPPH metoda

DPPH testom, uklanjanje DPPH radikala je praćeno smanjenjem absorbancije pri 515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa ili reakcije s radikalima (Brand-Williams i sur., 1995.).

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH, dobro promiješa i reakcijska smjesa se ostavi stajati 15 minuta. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje troloxa. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

ABTS metoda

ABTS metodom prati se raspadanje radikala $ABTS^{\cdot+}$ koji nastaje oksidacijom 2,2`-azinobis(3-etilbenzotiazilin-6-sulfonat) (ABTS) djelovanjem fenolnih tvari. U odsustvu fenolnih tvari, $ABTS^{\cdot+}$ je relativno stabilan, ali brzo reagira u prisustvu donora H^+ te prelazi u neobojeni oblik ABTS-a.

Postupak: otpipetira se 0,2 mL uzorka te se doda 3,2 mL otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi 1h i 35 min u mraku da se odvija reakcija. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri 734 nm. Rezultat se preračuna iz kalibracijske krivulje troloxa. Za svaki uzorak provedena su tri mjerenja.

3. 2. 2. 14. Određivanje polifenola HPLC metodom

Ekstrakti svakog uzorka pripremljeni su u tri paralele. Liofilizirani uzorci su se direktno ekstrahirali, dok su zamrznuti uzorci kaše jabuka prije ekstrakcije liofilizirani do udjela suhe tvari 98%.

250 mg liofiliziranog uzorka se ekstrahira u 80%-tnoj vodenoj otopini metanola, 15 minuta na ultrazvučnoj kupelji (f = 35 kW), pri sobnoj temperaturi. Nakon ekstrakcije, uzorak se centrifugira 15 minuta pri 10000 okretaja u minuti te na kraju dekantira i profiltrira kroz filtar veličine pora 0,45 µm (Chromafil Xtra, PTFE, 0. 45 µm, 25 mm) te analizira dolje navedenom HPLC metodom.

HPLC analitički sustav

Analize flavonola, flavanola i fenolnih kiselina izvedene su na HPLC analitičkom sustavu (Varian, USA) koji se sastoji od ProStar 230 pumpe, ProStar 310 UV-Vis detektora i ProStar 330 PDA detektora. Separacija polifenolnih spojeva izvedena je na OmniSpher C18 koloni (unutrašnjeg promjera 250 x 4. 6 mm, promjera čestica 5 µm, Varian, USA) koja je zaštićena pretkolonom (ChromSep 1 cm x 3 mm, Varian, USA). Podaci su prikupljeni i obrađeni na IBM kompjuterskom sustavu s instaliranim programom Star Chromatography Workstation (verzija 5. 52).

HPLC metoda za analizu flavonola, flavanola i fenolnih kiselina

Flavonoli, flavanoli i fenolne kiseline razdvojeni su reverzno-faznom HPLC metodom primjenom 0,1 % fosforne kiseline kao mobilne faze A te 100 %-nog metanola kao mobilne faze B. Uvjeti analize prikazani su u Tablici 14**.** Period re-ekvilibracije između pojedinih analiza bio je 10 minuta. Spektar je sniman u području valnih duljina od 190 do 600 nm. Procijanidin B2, (+)-katehin i (-)-epikatehin, floretin i floridzin detektirani su na valnoj duljini 280 nm, klorogenska i kava kiselina pri 320 nm, a kvercetin i rutin pri 360 nm.

Tablica 14 Uvjeti za analizu flavonola, flavanola i fenolnih kiselina HPLC metodom

t (min)	A = 0,1% H_3PO_4	B = 100% metanol
0	95	5
30	20	80
33	20	80
35	95	5
Protok	0,8 mL/min	
Temperatura	20 °C	
V (injektiranja)	20 µl	

Validacija HPLC metode

Da bi se HPLC metoda validirala te primijenila za kvalitativno i kvantitativno određivanje polifenola u voću, provedeni su slijedeći postupci:

- određivanje linearnosti metode,
- određivanje granica detekcije (LOD) (*engl. Llimit of Detection*)
- određivanje granica kvantifikacije (LOQ) (*engl. Limit of Quantification*)
- određivanje preciznosti metode,
- određivanje točnosti metode,
- određivanje selektivnosti metode.

Linearnost metode

Linearnost metode definira se kao mogućnost metode da, unutar danog područja, daje rezultate koji su izravno proporcionalni koncentraciji analita u uzorku. U ovom radu je linearnost HPLC metode za određivanje flavonola, flavanola i fenolnih kiselina ispitana analiziranjem dvije paralele čistih standarda na pet koncentracijskih razina (procijanidin B2, (+)-katehin, (-)-epikatehin, floretin, floridzin, klorogenska kiselina, kava kiselina, kvercetin, rutin 1-200 mg/L). Rezultati ovih mjerenja obrađeni su linearnom regresijom da bi se dobila kalibracijska krivulja svakog polifenolnog spoja, a prikazani su kao jednadžbe pravaca svake kalibracijske krivulje te u obliku koeficijenta determinacije (r^2).

Granica detekcije

Granica detekcije (LOD) definira se kao najmanja količina analita u uzorku koja se može detektirati primjenom HPLC metode, a određena je na bazi standardne devijacije svake kalibracijske krivulje i nagiba kalibracijskog pravca.

$$LOD = 3{,}3 \cdot \sigma / a \qquad (11)$$

σ = standardna devijacija y-odsječaka kalibracijskog pravca

a = nagib kalibracijskog pravca

Granica kvantifikacije

Granica kvantifikacije (LOQ) definira se kao najmanja količina analita u uzorku koja se može kvantificirati uz odgovarajuću preciznost i točnost, a određena je na bazi standardne devijacije svake kalibracijske krivulje i nagiba kalibracijskog pravca.

$$LOQ = 10 \cdot \sigma / a \qquad (12)$$

σ = standardna devijacija y-odsječaka kalibracijskog pravca

a = nagib kalibracijskog pravca

Preciznost metode

Preciznost metode definira se kao slaganje između niza mjerenja izvedenih na istom homogenom uzorku pod propisanim uvjetima. Određena je preko parametra ponovljivosti (*engl. repeatability*) koji se još naziva i „intra-assay“ preciznost tako što je isti uzorak voća analiziran tri ili šest puta u jednom danu. Površina pikova izražena je kao srednja vrijednost svih mjerenja, a preciznost je izražena preko koeficijenta varijacije površine pikova

$$(\mathrm{KV})\ \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=l}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \qquad (13)$$

Σ = standardna devijacija

x_i = površina pika

$\bar{x}$ = srednja vrijednost površine pika iz svih mjerenja

n = broj mjerenja

$$KV = \frac{100 \cdot \sigma}{\bar{x}} \quad (14)$$

KV = koeficijent varijacije

Granica prihvatljivosti za određivanje preciznosti bioloških ili prehrambenih uzoraka iznosi 2-20% (KV)

Točnost metode

Točnost metode definira se kao stupanj podudarnosti između stvarne, tj. referentne vrijednosti za količinu nekog analita i srednje vrijednosti količine dobivene HPLC metodom određeni broj puta. U ovom slučaju HPLC metoda ispitivana je dodavanjem standarda (*engl. spiking*) polifenola u uzorke voća u rasponu od 50 - 150% od već pronađene količine. Uspoređena je količina dodanog i količina nađenog spoja nakon analize. Rezultati su prikazani kao postotak iskorištenja (*engl. recovery*).

$$Iskorištenje = \frac{(m_s - m_u)}{m_d} \cdot 100 \quad (15)$$

m_s = masa spoja u uzorku u koji je dodan standard (mg/kg)

m_u = masa spoja u uzorku (mg/kg)

m_d = masa dodanog spoja (mg/kg)

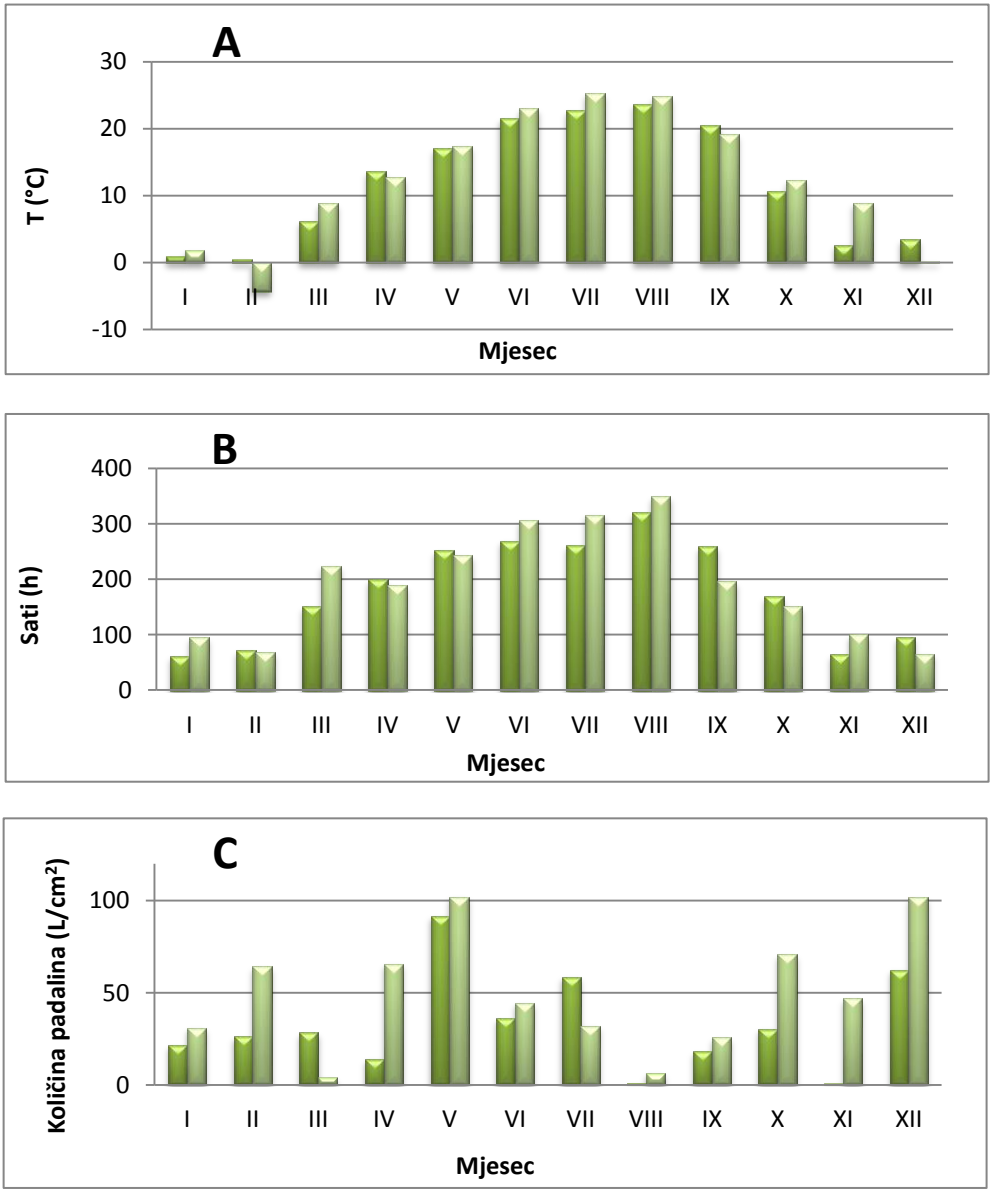
Općenito se može reći da je selektivna metoda ona kojom se može odrediti više analita. To je mogućnost nedvosmislenog određivanja analita u prisutnosti komponenti koje se mogu očekivati u matriksu uzorka (onečišćenja). Identifikacija je jedan od načina određivanja selektivnosti metode te se selektivnost prikazuje u obliku kromatograma uzorka, usporedbe spektara uzorka i spektara standarda te prikazom čistoće spektara pojedinih pikova iz uzorka. U ovom radu prikazani su kromatogrami uzoraka voća, a čistoća pojedinih pikova tj. njihovi spektri dani su u prilogu doktorskog rada.

3. 2. 2. 15. Statistička obrada podataka

Pri obradi rezultata izračunate su srednje vrijednosti i standardna devijacija izmjerenih, odnosno izračunatih parametara u uzorcima. Rezultati su statistički obrađeni pomoću Fisher LSD testa ($P < 0,05$). Za obradu podataka korišteni su program Microsoft Excel 2010 i XLStat Pro.

4. REZULTATI

Vremenski uvjeti u proizvodnim sezonama (2011. i 2012. god.) jabuka na području grada Osijeka i okolice prikazani su na Slici 22.



Slika 22 Vremenski uvjeti u proizvodnim sezonama 2011. i 2012. . A – mjesečna srednja temperatura zraka (°C); B – insolacija (sati); C – količina padalina (L/cm^2)

Rezultati analiza sirovine

Tablica 15 Podaci za kemijski sastav i fizikalna svojstva jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush* ubranih u dvije proizvodne sezone 2011. i 2012. (0 dan)

	Granny Smith		***Gold Rush***	
Parametri[a]	**2011**	**2012**	**2011**	**2012**
Prosječna masa ploda (g)	206,83 ± 23,12	168,51 ± 11,64	192,74 ± 16,45	107,95 ± 14,87
Čvrstoća (kg/cm^2)	9,9 ± 0,12	9,64 ± 0,10	10,33 ± 0,07	10,02 ± 0,10
Udio vode (%)	83,76 ± 1,23	81,49 ± 0,65	82,84 ± 0,45	82,89 ± 0,37
Topljiva suha tvar (°Brix)	12,03 ± 0,150	14,03 ± 0,060	15,00 ± 0,000	14,13 ± 0,120
L-askorbinska kiselina (mg/100 g)	5,47 ± 0,240	7,80 ± 0,901	8,42 ± 0,450	8,75 ± 0,000
Kiseline (g/100 g jabučne kiseline)	0,48 ± 0,010	0,53 ± 0,000	0,51 ± 0,040	0,58 ± 0,019
pH	3,33 ± 0,010	3,31 ± 0,014	3,72 ± 0,020	3,80 ± 0,016
Šećeri				
Reducirajući	6,45 ± 0,24	7,35 ± 0,034	6,21 ± 0,12	7,25 ± 0,018
Ukupni	9,19 ± 0,180	9,86 ± 0,028	8,08 ± 0,140	9,27 ± 0,072
Sadržaj ukupnih polifenola (g GAE/kg)[a]				
Pulpa	0,76 ± 0,015	0,90 ± 0,046	0,97 ± 0,049	1,05 ± 0,019
Kora + Pulpa	1,06 ± 0,034	1,29 ± 0,068	1,07 ± 0,024	1,14 ± 0,007
Kora	3,11 ± 0,038	3,28 ± 0,062	3,53 ± 0,009	3,57 ± 0,012
Antioksidacijska aktivnost				
ABTS (mmol TE/100 g)				
Pulpa	4,26 ± 0,348	3,35 ± 0,816	9,06 ± 0,461	9,92 ± 0,432
Kora + Pulpa	7,00 ± 0,242	7,35 ± 1,068	11,99 ± 0,484	12,78 ± 0,880
Kora	47,89 ± 0,070	49,28 ± 1,127	44,08 ± 0,686	44,83 ± 0,259
DPPH (mmol TE/100 g)				
Pulpa	1,62 ± 0,008	2,04 ± 0,122	1,77 ± 0,048	1,66 ± 0,094
Kora + Pulpa	1,69 ± 0,226	2,19 ± 0,052	1,79 ± 0,045	2,04 ± 0,070
Kora	3,89 ± 0,299	4,03 ± 0,116	2,73 ± 0,064	3,61 ± 0,095

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

GAE-ekvivalent galne kiseline (*engl. gallic acid equivalent*)

TE – ekvivalent trolox kiseline (*engl. trolox equivalent*)

Tablica 16 Sadržaj ukupnih polifenola (g GAE/kg)[a] u svježim, zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush* ubranih kroz dvije proizvodne sezone i skladištenih 180 dana.

Sorta	Dio ploda	0 dan		30 dan		180 dan	
		2011	2012	2011	2012	2011	2012
Svježi uzorci							
GS	**Pulpa**	$0,76 \pm 0,015^{cz}$	$0,90 \pm 0,046^{cx}$	$1,00 \pm 0,023^{cx}$	$0,87 \pm 0,003^{cx}$	$0,91 \pm 0,012^{cy}$	$0,67 \pm 0,033^{cy}$
	Kora pulpa	$1,06 \pm 0,034^{byz}$	$1,29 \pm 0,068^{bx}$	$1,13 \pm 0,016^{bxy}$	$0,91 \pm 0,020^{by}$	$1,18 \pm 0,051^{bx}$	$0,80 \pm 0,077^{byz}$
	Kora	$3,11 \pm 0,138^{ax}$	$2,88 \pm 0,062^{ax}$	$2,71 \pm 0,203^{ay}$	$2,67 \pm 0,041^{ay}$	$2,53 \pm 0,017^{ayz}$	$2,35 \pm 0,075^{az}$
GR	**Pulpa**	$0,97 \pm 0,049^{cx}$	$1,05 \pm 0,019^{cx}$	$0,67 \pm 0,022^{cy}$	$0,79 \pm 0,027^{cz}$	$0,95 \pm 0,030^{cx}$	$0,80 \pm 0,064^{cy}$
	Kora pulpa	$1,07 \pm 0,024^{by}$	$1,14 \pm 0,007^{byz}$	$1,05 \pm 0,026^{byz}$	$1,22 \pm 0,030^{bxy}$	$1,22 \pm 0,010^{bx}$	$1,28 \pm 0,070^{bx}$
	Kora	$3,53 \pm 0,059^{ax}$	$3,57 \pm 0,072^{ax}$	$2,98 \pm 0,048^{ay}$	$2,61 \pm 0,136^{ay}$	$2,52 \pm 0,046^{az}$	$2,61 \pm 0,179^{ayz}$
Zamrznuti uzorci							
GS	**Pulpa**	$0,25 \pm 0,010^{cy}$	$0,30 \pm 0,032^{cxz}$	$0,20 \pm 0,007^{cz}$	$0,33 \pm 0,007^{cx}$	$0,30 \pm 0,007^{cx}$	$0,32 \pm 0,014^{cxy}$
	Kora pulpa	$0,40 \pm 0,006^{bxz}$	$0,40 \pm 0,019^{byz}$	$0,42 \pm 0,009^{bxy}$	$0,45 \pm 0,012^{bx}$	$0,44 \pm 0,031^{bx}$	$0,41 \pm 0,010^{by}$
	Kora	$1,49 \pm 0,037^{axyz}$	$1,92 \pm 0,128^{axyz}$	$1,61 \pm 0,060^{axy}$	$2,09 \pm 0,044^{ax}$	$1,96 \pm 0,026^{ax}$	$2,07 \pm 0,132^{axy}$
GR	**Pulpa**	$0,53 \pm 0,099^{bx}$	$0,52 \pm 0,128^{bxy}$	$0,35 \pm 0,022^{cyz}$	$0,57 \pm 0,026^{cx}$	$0,37 \pm 0,013^{cy}$	$0,44 \pm 0,019^{cxyz}$
	Kora pulpa	$0,64 \pm 0,017^{bx}$	$0,61 \pm 0,074^{bxyz}$	$0,65 \pm 0,003^{bx}$	$0,71 \pm 0,027^{bx}$	$0,59 \pm 0,016^{byz}$	$0,70 \pm 0,025^{bx}$
	Kora	$2,67 \pm 0,045^{ax}$	$2,35 \pm 0,088^{ax}$	$1,96 \pm 0,027^{ay}$	$1,86 \pm 0,026^{ay}$	$1,93 \pm 0,008^{ayz}$	$1,38 \pm 0,102^{az}$
Liofilizirani uzorci							
GS	**Pulpa**	$0,22 \pm 0,004^{cyz}$	$0,27 \pm 0,027^{cxyz}$	$0,24 \pm 0,019^{cxy}$	$0,29 \pm 0,003^{cxy}$	$0,26 \pm 0,009^{cx}$	$0,31 \pm 0,019^{cx}$
	Kora pulpa	$0,49 \pm 0,013^{byz}$	$0,45 \pm 0,022^{bxyz}$	$0,49 \pm 0,008^{by}$	$0,47 \pm 0,093^{bxy}$	$0,53 \pm 0,013^{bx}$	$0,49 \pm 0,029^{bx}$
	Kora	$1,79 \pm 0,037^{ayz}$	$2,30 \pm 0,106^{ayz}$	$2,04 \pm 0,030^{ax}$	$2,49 \pm 0,060^{axy}$	$2,06 \pm 0,018^{ax}$	$2,67 \pm 0,121^{ax}$
GR	**Pulpa**	$0,41 \pm 0,011^{cx}$	$0,34 \pm 0,008^{cx}$	$0,35 \pm 0,022^{cyz}$	$0,24 \pm 0,020^{cyz}$	$0,45 \pm 0,029^{cx}$	$0,27 \pm 0,023^{cy}$
	Kora pulpa	$0,70 \pm 0,004^{bx}$	$0,64 \pm 0,013^{bxyz}$	$0,62 \pm 0,005^{byz}$	$0,64 \pm 0,032^{bx}$	$0,72 \pm 0,021^{bx}$	$0,66 \pm 0,061^{bx}$
	Kora	$3,19 \pm 0,083^{ax}$	$2,76 \pm 0,087^{ax}$	$2,91 \pm 0,048^{ay}$	$2,40 \pm 0,056^{axyz}$	$2,77 \pm 0,056^{ayz}$	$2,47 \pm 0,261^{axy}$

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

GAE-ekvivalent galne kiseline (*engl. gallic acid equivalent*)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Vrijednosti u istom redu i u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (x-z) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 17 Antioksidacijska aktivnost, mjerena ABTS metodom (mmol TE/100 g)[a], u svježim, zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush* ubranih u dvije proizvodne sezone (2011. i 2012.) i skladištenih 180 dana.

Sorta	Dio ploda	0 dan		30 dan		180 dan	
		2011	2012	2011	2012	2011	2012
Svježi uzorci							
	Pulpa	$4,26 \pm 0,348^{cz}$	$3,35 \pm 0,016^{cyz}$	$17,00 \pm 0,315^{cy}$	$12,54 \pm 0,040^{bx}$	$14,42 \pm 0,230^{cx}$	$12,50 \pm 0,221^{bx}$
GS	**Kora pulpa**	$7,00 \pm 0,242^{bz}$	$7,35 \pm 0,068^{bz}$	$20,94 \pm 0,240^{bx}$	$12,00 \pm 0,076^{cy}$	$19,00 \pm 0,192^{by}$	$12,45 \pm 0,071^{bx}$
	Kora	$47,89 \pm 0,07^{az}$	$49,28 \pm 0,127^{ay}$	$74,00 \pm 0,173^{ax}$	$50,46 \pm 0,338^{ax}$	$52,38 \pm 0,369^{ay}$	$37,11 \pm 0,064^{az}$
	Pulpa	$9,06 \pm 0,161^{cz}$	$1,92 \pm 0,043^{cz}$	$9,61 \pm 0,210^{cy}$	$12,03 \pm 0,122^{cy}$	$10,45 \pm 0,108^{cx}$	$13,27 \pm 0,093^{cx}$
GR	**Kora pulpa**	$11,99 \pm 0,184^{byz}$	$12,78 \pm 0,188^{byz}$	$16,44 \pm 0,146^{bx}$	$15,47 \pm 0,035^{bx}$	$16,71 \pm 0,111^{bx}$	$15,48 \pm 0,153^{bx}$
	Kora	$14,08 \pm 0,185^{az}$	$44,83 \pm 0,159^{ay}$	$50,61 \pm 0,195^{ax}$	$50,46 \pm 0,087^{ax}$	$29,16 \pm 0,093^{ay}$	$37,09 \pm 0,002^{az}$
Zamrznuti uzorci							
	Pulpa	$1,10 \pm 0,092^{cz}$	-	$1,51 \pm 0,009^{cy}$	$0,98 \pm 0,031^{cy}$	$2,55 \pm 0,105^{cx}$	$6,51 \pm 0,084^{cx}$
GS	**Kora pulpa**	$3,30 \pm 0,305^{bz}$	$6,00 \pm 0,048^{bz}$	$5,40 \pm 0,049^{bx}$	$6,59 \pm 0,059^{by}$	$4,91 \pm 0,122^{by}$	$8,15 \pm 0,087^{bx}$
	Kora	$15,91 \pm 0,091^{ay}$	$20,4 \pm 0,078^{ay}$	$26,17 \pm 0,391^{ax}$	$27,73 \pm 0,148^{ax}$	$26,24 \pm 0,304^{ax}$	$27,09 \pm 0,151^{ax}$
	Pulpa	$5,18 \pm 0,152^{cx}$	-	$3,91 \pm 0,139^{cyz}$	$7,07 \pm 0,012^{cy}$	$4,01 \pm 0,152^{cy}$	$8,91 \pm 0,113^{cx}$
GR	**Kora pulpa**	$8,27 \pm 0,172^{by}$	$11,69 \pm 0,146^{bx}$	$11,37 \pm 0,046^{bx}$	$11,08 \pm 0,103^{by}$	$8,46 \pm 0,058^{by}$	$10,45 \pm 0,184^{bz}$
	Kora	$41,71 \pm 0,007^{ax}$	$34,67 \pm 0,131^{ax}$	$29,82 \pm 0,124^{ay}$	$26,75 \pm 0,101^{ay}$	$17,29 \pm 0,053^{az}$	$21,12 \pm 0,133^{az}$
Liofilizirani uzorci							
	Pulpa	-	$0,69 \pm 0,180^{cy}$	$1,28 \pm 0,107^{cx}$	$1,09 \pm 0,275^{cx}$	$0,87 \pm 0,038^{cy}$	-
GS	**Kora pulpa**	$4,55 \pm 0,123^{bz}$	$5,60 \pm 0,093^{bz}$	$6,36 \pm 0,229^{by}$	$7,95 \pm 0,132^{bx}$	$6,97 \pm 0,101^{bx}$	$7,18 \pm 0,175^{by}$
	Kora	$10,74 \pm 0,137^{az}$	$26,73 \pm 0,166^{az}$	$31,79 \pm 0,364^{ax}$	$29,99 \pm 0,198^{ax}$	$30,79 \pm 0,148^{ay}$	$28,8 \pm 0,116^{ay}$
	Pulpa	$3,37 \pm 0,065^{cyz}$	$2,49 \pm 0,161^{cx}$	$3,67 \pm 0,182^{cy}$	$2,24 \pm 0,043^{cy}$	$5,37 \pm 0,204^{cx}$	$0,77 \pm 0,117^{cz}$
GR	**Kora pulpa**	$9,20 \pm 0,081^{by}$	$8,00 \pm 0,184^{bx}$	$8,89 \pm 0,168^{bz}$	$7,96 \pm 0,108^{bx}$	$10,32 \pm 0,184^{bx}$	$5,52 \pm 0,142^{byz}$
	Kora	$46,00 \pm 0,017^{ax}$	$36,29 \pm 0,116^{ax}$	$31,5 \pm 0,045^{ay}$	$34,41 \pm 0,127^{ay}$	$29,89 \pm 0,161^{az}$	$25,18 \pm 0,169^{az}$

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)
TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.
Vrijednosti u istom redu i u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (x-z) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

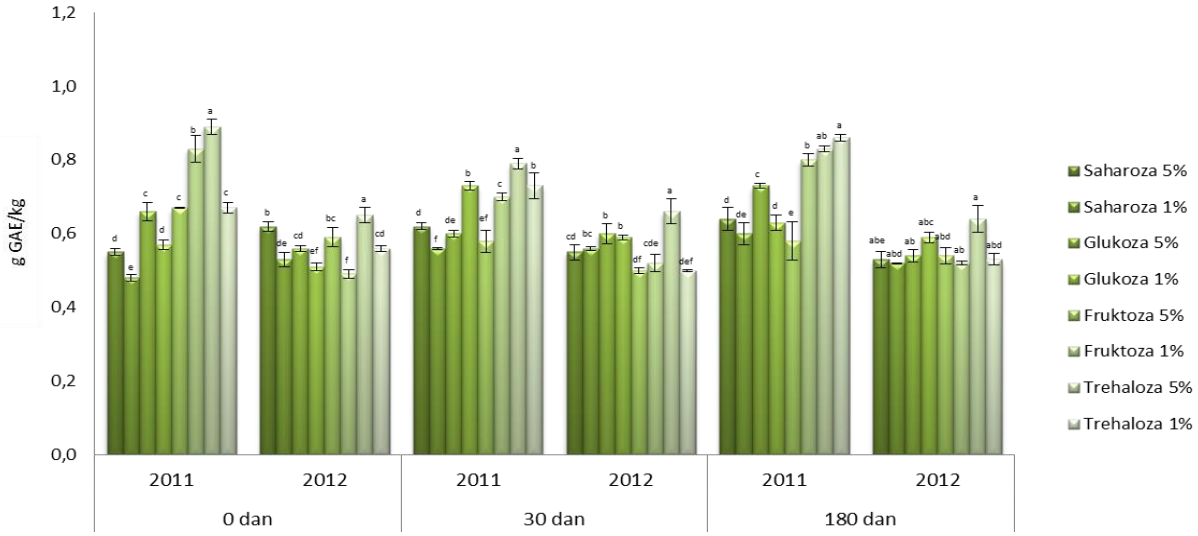
Tablica 18 Antioksidacijska aktivnost, mjerena DPPH metodom (mmol TE/100 g)[a], u svježim, zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush* ubranih u dvije proizvodne sezone (2011. i 2012.) i skladištenih 180 dana.

Sorta	Dio ploda	0 dan		30 dan		180 dan	
		2011	2012	2011	2012	2011	2012
Svježi uzorci							
	Pulpa	1,62 ± 0,008^{by}	2,04 ± 0,122^{bx}	1,37 ± 0,101^{bz}	1,13 ± 0,026^{by}	2,94 ± 0,048^{cx}	2,07 ± 0,084^{bx}
GS	**Kora pulpa**	1,69 ± 0,126^{by}	2,19 ± 0,052^{b}x	1,29 ± 0,015^{bz}	1,15 ± 0,025^{bz}	3,20 ± 0,011^{bx}	2,07 ± 0,069^{bxy}
	Kora	3,89 ± 0,129^{ax}	4,03 ± 0,116^{ax}	3,16 ± 0,014^{az}	2,40 ± 0,027^{az}	3,54 ± 0,040^{ay}	2,79 ± 0,033^{ay}
	Pulpa	1,77 ± 0,048^{bz}	1,66 ± 0,094^{cy}	1,93 ± 0,032^{by}	0,96 ± 0,017^{bz}	2,04 ± 0,018^{cx}	1,83 ± 0,063^{cx}
GR	**Kora pulpa**	1,79 ± 0,045^{bz}	2,04 ± 0,070^{bx}	1,93 ± 0,168^{bcy}	1,01 ± 0,072^{by}	2,28 ± 0,042^{bx}	2,00 ± 0,016^{bx}
	Kora	2,73 ± 0,064^{ax}	3,61 ± 0,095^{ax}	2,20 ± 0,072^{ayz}	2,40 ± 0,012^{ay}	2,68 ± 0,134^{ax}	3,72 ± 0,078^{ax}
Zamrznuti uzorci							
	Pulpa	0,85 ± 0,010^{cy}	1,99 ± 0,018^{bx}	1,39 ± 0,021^{bx}	1,35 ± 0,012^{cy}	0,87 ± 0,066^{cy}	0,83 ± 0,017^{bz}
GS	**Kora pulpa**	0,88 ± 0,002^{bz}	1,31 ± 0,088^{cy}	1,44 ± 0,074^{bx}	1,41 ± 0,004^{bx}	1,08 ± 0,024^{by}	0,86 ± 0,014^{bz}
	Kora	1,72 ± 0,005^{ay}	2,07 ± 0,013^{ay}	2,13 ± 0,0147^{ax}	3,03 ± 0,026^{ax}	1,67 ± 0,033^{ayz}	1,82 ± 0,022^{az}
	Pulpa	0,70 ± 0,013^{cx}	2,03 ± 0,049^{bx}	0,26 ± 0,038^{bz}	0,72 ± 0,025^{cy}	0,44 ± 0,043^{cy}	0,52 ± 0,054^{cz}
GR	**Kora pulpa**	0,83 ± 0,009^{bx}	2,02 ± 0,123^{bx}	0,33 ± 0,048^{bz}	1,04 ± 0,045^{by}	0,72 ± 0,021^{by}	0,90 ± 0,076^{bz}
	Kora	2,27 ± 0,093^{ax}	2,29 ± 0,036^{ay}	1,66 ± 0,106^{ay}	2,63 ± 0,169^{ax}	1,15 ± 0,022^{az}	2,15 ± 0,188^{az}
Liofilizirani uzorci							
	Pulpa	1,02 ± 0,018^{cy}	0,96 ± 0,083^{by}	1,20 ± 0,056^{cx}	1,35 ± 0,007^{bx}	0,95 ± 0,049^{cyz}	0,53 ± 0,118^{cz}
GS	**Kora pulpa**	1,17 ± 0,025^{bz}	0,98 ± 0,072^{by}	1,44 ± 0,028^{bx}	1,29 ± 0,006^{cx}	1,26 ± 0,047^{by}	0,85 ± 0,015^{bz}
	Kora	2,51 ± 0,148^{az}	1,49 ± 0,029^{ay}	2,78 ± 0,084^{ax}	2,88 ± 0,086^{ax}	1,79 ± 0,045^{ay}	1,27 ± 0,013^{az}
	Pulpa	0,87 ± 0,027^{cx}	0,98 ± 0,059^{bx}	0,45 ± 0,012^{cy}	0,75 ± 0,071^{by}	0,39 ± 0,055^{abz}	0,33 ± 0,075^{bz}
GR	**Kora pulpa**	1,03 ± 0,025^{bx}	1,02 ± 0,019^{bx}	0,62 ± 0,040^{by}	0,71 ± 0,035^{by}	0,48 ± 0,036^{az}	0,46 ± 0,047^{bz}
	Kora	2,37 ± 0,038^{ax}	1,85 ± 0,058^{ay}	1,30 ± 0,045^{ay}	2,71 ± 0,060^{ax}	0,52 ± 0,037^{az}	0,64 ± 0,040^{az}

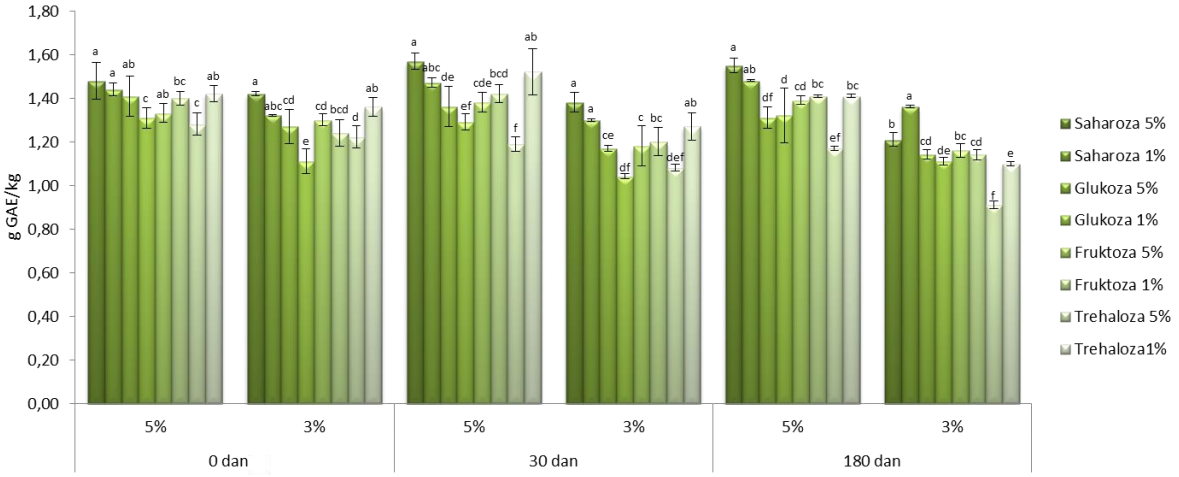
[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)
TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.
Vrijednosti u istom redu i u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (x-z) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Rezultati nakon pripreme uzoraka

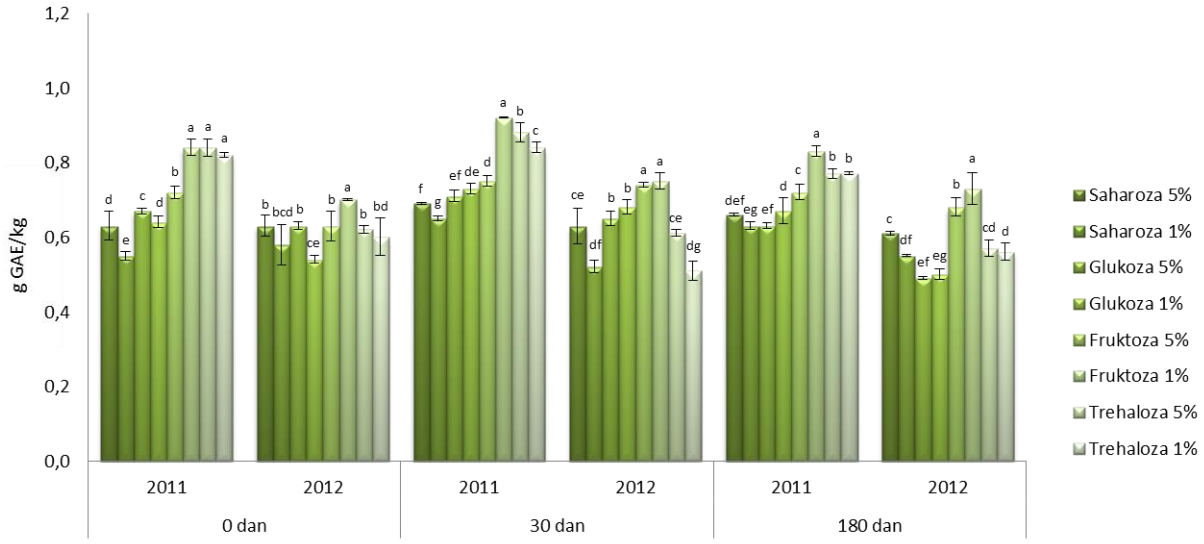
Utjecaj dodatka šećera na udio ukupnih polifenolnih tvari u kašama jabuka (GS, GR) nakon procesiranja i skladištenja prikazan je na Slikama 23-30.



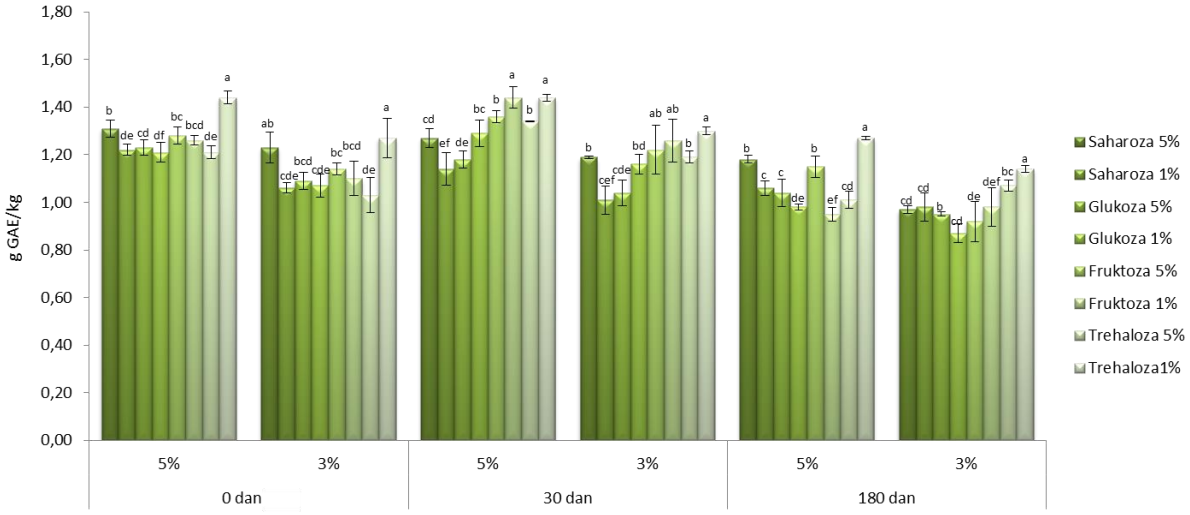
Slika 23 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u zamrznutim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera (1 i 5%) uzgajanim u dvije proizvodne sezone (2011.-2012.). Vrijednosti u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD



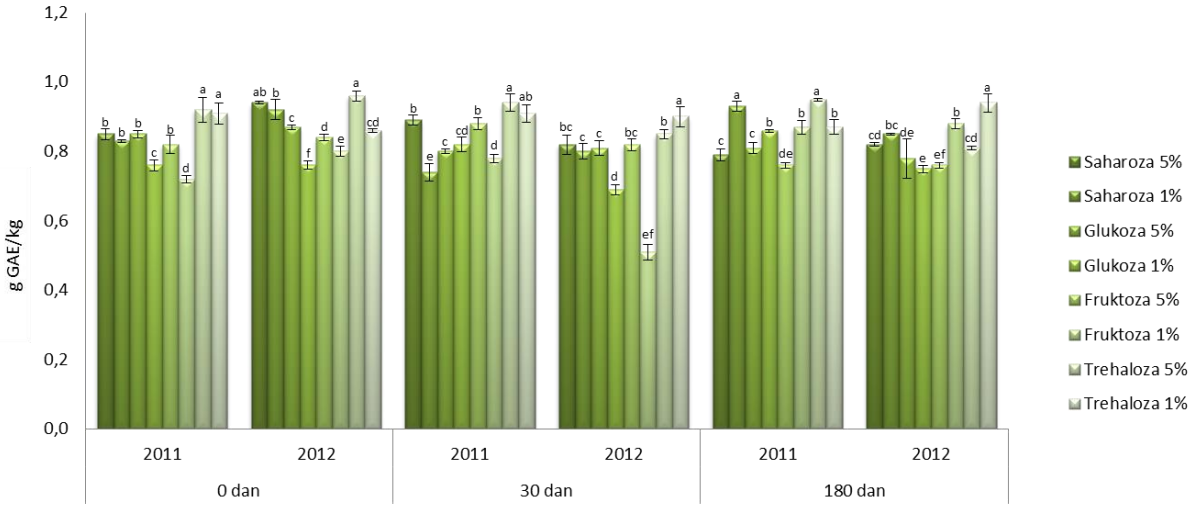
Slika 24 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u zamrznutim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) uzgajanim u proizvodnoj sezoni (2012.). Vrijednosti, s istim udjelom dodanog praha kore jabuka, s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD



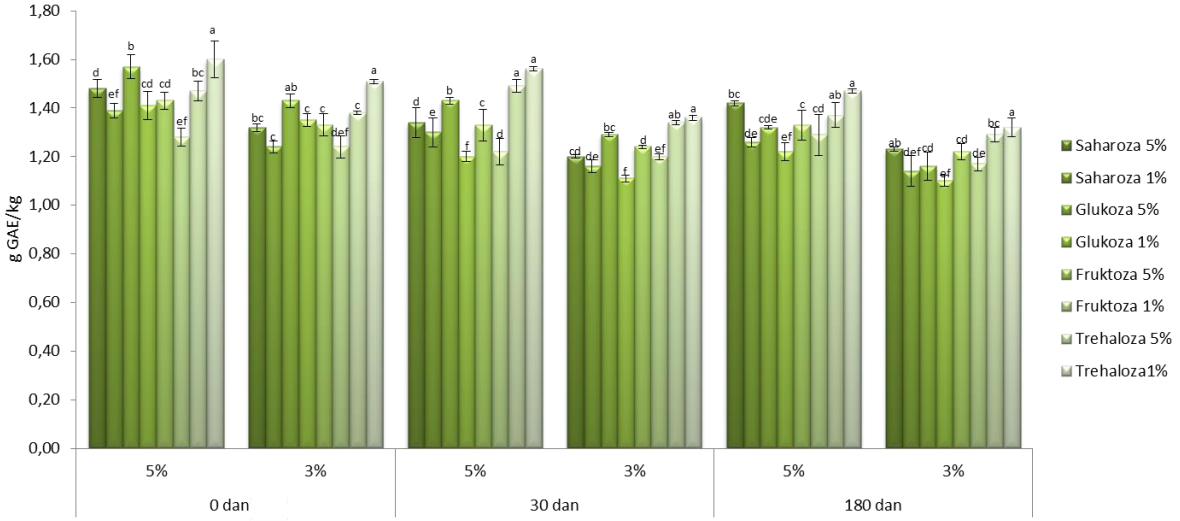
Slika 25 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera (1 i 5%) uzgajanim u dvije proizvodne sezone (2011.-2012.). Vrijednosti u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD



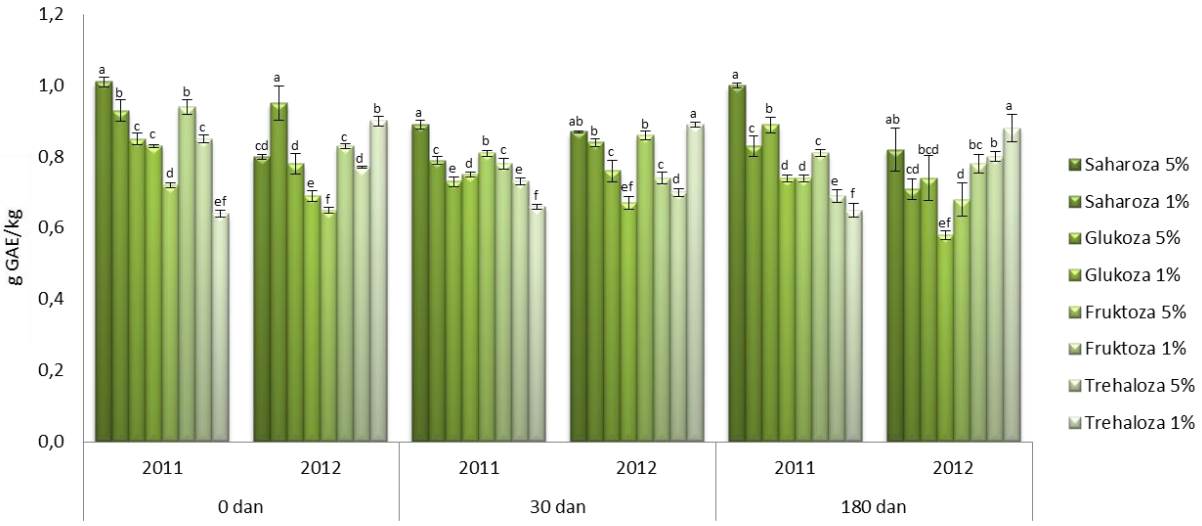
Slika 26 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) uzgajanim u proizvodnoj sezoni (2012.). Vrijednosti, s istim udjelom dodanog praha kore jabuka, s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD



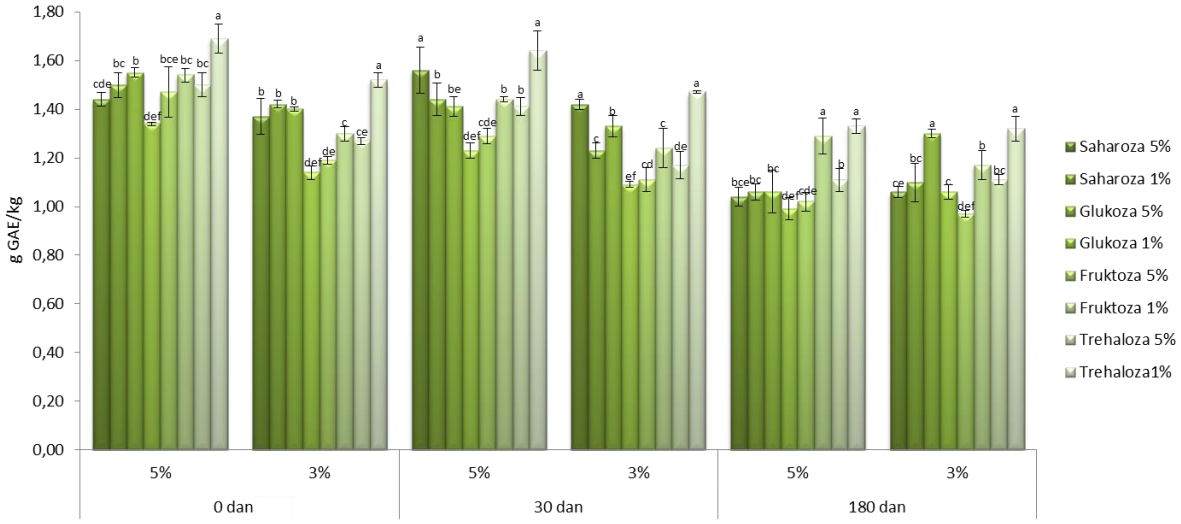
Slika 27 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u zamrznutim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera (1 i 5%) uzgajanim udvije proizvodne sezone (2011.-2012.). Vrijednosti u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD



Slika 28 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u zamrznutim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) uzgajanim u proizvodnoj sezoni (2012.). Vrijednosti, s istim udjelom dodanog praha kore jabuka, s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD



Slika 29 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera (1 i 5%) uzgajanim u dvije proizvodne sezone (2011.-2012.). Vrijednosti u istoj godini proizvodnje s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD



Slika 30 Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva (g GAE/kg) u liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) uzgajanim u proizvodnoj sezoni (2012.). Vrijednosti, s istim udjelom dodanog praha kore jabuka, s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD

Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na antioksidacijsku aktivnost kaša jabuka (GS, GR) mjerenu dvjema metodama nakon procesiranja i skladištenja prikazan je u Tablicama 19-26.

Tablica 19 Antioksidacijska aktivnost, mjerena ABTS metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i skladištenih 180 dana (jabuke su uzgajane 2011. i 2012. godine)

	0 dan		30 dan		180 dan	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Zamrznuti uzorci						
5% S	6,43 ± 0,226^{e}	6,12 ± 0,217^{c}	8,54 ± 0,250^{cd}	5,38 ± 0,081^{d}	8,66 ± 0,046^{c}	5,36 ± 0,053^{f}
1% S	4,99 ± 0,060^{f}	4,23 ± 0,243^{f}	6,07 ± 0,280^{f}	5,67 ± 0,154^{d}	7,93 ± 0,174^{e}	4,84 ± 0,061^{g}
5% G	8,81 ± 0,280^{d}	6,38 ± 0,194^{cd}	8,26 ± 0,180^{d}	6,52 ± 0,095^{c}	8,74 ± 0,156^{c}	7,36 ± 0,051^{d}
1% G	6,47 ± 0,240^{e}	5,43 ± 0,184^{e}	6,87 ± 0,100^{e}	4,69 ± 0,224^{e}	8,01 ± 0,201^{d}	7,48 ± 0,380^{d}
5% F	8,91 ± 0,120^{d}	5,67 ± 0,331^{de}	6,07 ± 0,440^{f}	4,90 ± 0,222^{e}	8,27 ± 0,192^{d}	6,36 ± 0,259^{d}
1% F	9,60 ± 0,200^{c}	7,87 ± 0,058^{b}	8,76 ± 0,190^{bc}	8,06 ± 0,190^{b}	14,03 ± 0,076^{b}	11,42 ± 0,112^{e}
5% T	12,02 ± 0,260^{a}	8,36 ± 0,259^{a}	10,64 ± 0,300^{a}	9,37 ± 0,129^{a}	14,44 ± 0,291^{a}	12,11 ± 0,137^{b}
1% T	10,36 ± 0,020^{b}	7,70 ± 0,191^{b}	8,92 ± 0,070^{b}	6,77 ± 0,243^{c}	14,53 ± 0,061^{a}	12,50 ± 0,164^{a}
Liofilizirani uzorci						
5% S	7,95 ± 0,100^{df}	8,15 ± 0,282^{e}	9,19 ± 0,050^{d}	7,51 ± 0,209^{e}	7,91 ± 0,070^{d}	8,17 ± 0,191^{e}
1% S	6,58 ± 0,290^{eg}	7,44 ± 0,092^{fg}	8,91 ± 0,030^{ef}	6,26 ± 0,226^{fg}	7,11 ± 0,140^{fg}	7,66 ± 0,139^{f}
5% G	8,53 ± 0,190^{bc}	9,29 ± 0,293^{d}	8,74 ± 0,070^{fg}	8,30 ± 0,131^{d}	7,13 ± 0,200^{f}	6,42 ± 0,116^{g}
1% G	8,04 ± 0,120^{cd}	9,09 ± 0,023^{d}	9,02 ± 0,130^{de}	7,60 ± 0,152^{e}	7,48 ± 0,110^{e}	6,33 ± 0,202^{g}
5% F	8,91 ± 0,130^{b}	11,04 ± 0,151^{c}	9,48 ± 0,050^{c}	10,35 ± 0,154^{c}	8,50 ± 0,120^{c}	9,19 ± 0,102^{d}
1% F	11,32 ± 0,300^{a}	11,18 ± 0,111^{bc}	13,07 ± 0,280^{a}	12,78 ± 0,141^{a}	11,32 ± 0,241^{a}	11,69 ± 0,257^{a}
5% T	11,76 ± 0,130^{a}	11,36 ± 0,008^{b}	12,78 ± 0,060^{b}	11,99 ± 0,051^{b}	10,68 ± 0,050^{b}	9,64 ± 0,132^{c}
1% T	11,69 ± 0,510^{a}	11,97 ± 0,152^{a}	13,01 ± 0,040^{a}	12,55 ± 0,042^{a}	10,76 ± 0,111^{b}	10,03 ± 0,161^{b}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)
TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 20 Antioksidacijska aktivnost, mjerena ABTS metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) i skladištenih 180 dana

	0 dan		30 dan		180 dan	
	5%	3%	5%	3%	5%	3%
Zamrznuti uzorci						
5% S	25,09 ± 0,116^{a}	15,86 ± 0,062^{a}	21,09 ± 0,077^{c}	12,53 ± 0,028^{d}	18,15 ± 0,037^{fh}	7,43 ± 0,001^{h}
1% S	23,07 ± 0,106^{b}	15,42 ± 0,029^{b}	19,92 ± 0,240^{e}	9,76 ± 0,082^{g}	20,26 ± 0,171^{d}	8,17 ± 0,102^{g}
5% G	22,30 ± 0,122^{c}	14,54 ± 0,052^{e}	23,63 ± 0,289^{a}	11,84 ± 0,035^{e}	22,28 ± 0,215^{b}	10,39 ± 0,106^{e}
1% G	21,61 ± 0,288^{d}	14,08 ± 0,042^{f}	19,12 ± 0,154^{f}	9,32 ± 0,007^{h}	18,55 ± 0,111^{eg}	8,41 ± 0,007^{f}
5% F	19,91 ± 0,236^{f}	14,81 ± 0,028^{c}	23,67 ± 0,213^{a}	15,77 ± 0,091^{a}	22,53 ± 0,210^{a}	14,35 ± 0,081^{a}
1% F	19,88 ± 0,140^{f}	14,72 ± 0,064^{d}	22,60 ± 0,126^{b}	15,64 ± 0,060^{b}	20,25 ± 0,064^{d}	13,18 ± 0,182^{d}
5% T	17,45 ± 0,180^{g}	11,19 ± 0,014^{h}	17,84 ± 0,222^{gh}	11,28 ± 0,020^{f}	21,69 ± 0,190^{c}	13,50 ± 0,065^{b}
1% T	20,41 ± 0,184^{e}	12,02 ± 0,056^{g}	20,43 ± 0,156^{d}	14,11 ± 0,022^{c}	21,58 ± 0,204^{c}	13,20 ± 0,042^{c}
Liofilizirani uzorci						
5% S	18,62 ± 0,185^{d}	16,47 ± 0,180^{fgh}	16,70 ± 0,291^{bc}	15,62 ± 0,087^{h}	12,02 ± 0,271^{gh}	14,24 ± 0,149^{fgh}
1% S	17,44 ± 0,142^{gh}	17,82 ± 0,242^{d}	16,54 ± 0,203^{cd}	17,30 ± 0,009^{d}	13,38 ± 0,182^{e}	17,84 ± 0,140^{b}
5% G	18,18 ± 0,103^{e}	17,70 ± 0,267^{d}	16,34 ± 0,135^{d}	16,11 ± 0,034^{f}	12,25 ± 0,149^{f}	15,74 ± 0,128^{e}
1% G	17,76 ± 0,076^{f}	17,02 ± 0,239^{e}	16,07 ± 0,298^{e}	15,99 ± 0,025^{g}	15,15 ± 0,105^{c}	17,78 ± 0,103^{b}
5% F	19,33 ± 0,186^{c}	18,63 ± 0,195^{c}	15,84 ± 0,105^{efg}	17,12 ± 0,026^{e}	14,11 ± 0,093^{d}	17,41 ± 0,115^{d}
1% F	19,77 ± 0,042^{b}	21,14 ± 0,149^{b}	18,37 ± 0,038^{a}	21,36 ± 0,048^{a}	16,86 ± 0,253^{a}	19,22 ± 0,193^{a}
5% T	19,85 ± 0,114^{b}	21,59 ± 0,249^{a}	16,39 ± 0,113^{d}	19,84 ± 0,029^{b}	16,34 ± 0,074^{b}	17,52 ± 0,156^{cd}
1% T	20,82 ± 0,051^{a}	21,79 ± 0,267^{a}	16,77 ± 0,189^{b}	18,15 ± 0,007^{c}	16,40 ± 0,149^{b}	17,58 ± 0,085^{c}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 21 Antioksidacijska aktivnost, mjerena DPPH metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i skladištenih 180 dana (jabuke su uzgajane 2011. i 2012. godine)

	0 dan		30 dan		180 dan	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Zamrznuti uzorci						
5% S	1,07 ± 0,041^{a}	1,10 ± 0,043^{b}	0,96 ± 0,083^{a}	1,18 ± 0,045^{a}	1,49 ± 0,042^{a}	0,98 ± 0,020^{a}
1% S	0,86 ± 0,036^{bc}	1,05 ± 0,103^{b}	0,93 ± 0,067^{a}	1,02 ± 0,009^{b}	1,47 ± 0,075^{a}	0,90 ± 0,032^{c}
5% G	0,93 ± 0,086^{abc}	0,99 ± 0,090^{b}	0,81 ± 0,052^{b}	1,10 ± 0,055^{a}	1,42 ± 0,060^{a}	0,93 ± 0,043^{ab}
1% G	0,82 ± 0,046^{bc}	1,02 ± 0,026^{b}	0,81 ± 0,069^{b}	0,68 ± 0,017^{ef}	1,03 ± 0,038^{b}	0,72 ± 0,012^{de}
5% F	0,60 ± 0,199^{d}	1,02 ± 0,046^{b}	0,92 ± 0,064^{a}	0,84 ± 0,003^{c}	0,66 ± 0,006^{cef}	0,78 ± 0,041^{c}
1% F	1,04 ± 0,043^{a}	1,09 ± 0,024^{b}	0,80 ± 0,047^{b}	0,72 ± 0,042^{de}	0,68 ± 0,060^{cde}	0,70 ± 0,003^{df}
5% T	0,96 ± 0,038^{ab}	1,22 ± 0,016^{a}	0,81 ± 0,049^{b}	0,76 ± 0,046^{d}	0,71 ± 0,054^{bcd}	0,71 ± 0,007^{def}
1% T	0,79 ± 0,046^{c}	0,68 ± 0,050^{cd}	0,63 ± 0,009^{cd}	0,65 ± 0,027^{f}	0,72 ± 0,046^{cf}	0,72 ± 0,036^{d}
Liofilizirani uzorci						
5% S	0,65 ± 0,068^{ef}	1,06 ± 0,031^{bc}	1,06 ± 0,042^{c}	1,00 ± 0,052^{ce}	1,14 ± 0,010^{b}	0,74 ± 0,041^{ac}
1% S	0,91 ± 0,033^{c}	1,04 ± 0,011^{cef}	0,94 ± 0,010^{e}	1,03 ± 0,074^{bc}	1,14 ± 0,015^{b}	0,79 ± 0,044^{ab}
5% G	0,91 ± 0,016^{c}	1,13 ± 0,017^{ab}	1,14 ± 0,007^{b}	1,09 ± 0,046^{ab}	1,06 ± 0,012^{c}	0,74 ± 0,052^{ab}
1% G	0,99 ± 0,054^{b}	1,04 ± 0,088^{cdf}	1,00 ± 0,012^{d}	1,06 ± 0,023^{abc}	1,08 ± 0,008^{c}	0,67 ± 0,047^{adf}
5% F	0,78 ± 0,005^{df}	1,08 ± 0,008^{bc}	1,05 ± 0,004^{c}	1,09 ± 0,005^{ab}	0,95 ± 0,041^{eg}	0,73 ± 0,097^{ac}
1% F	1,36 ± 0,021^{a}	1,19 ± 0,040^{a}	1,21 ± 0,003^{a}	0,81 ± 0,059^{dg}	1,20 ± 0,004^{a}	0,83 ± 0,085^{a}
5% T	1,00 ± 0,014^{b}	1,04 ± 0,029^{c}	0,83 ± 0,017^{g}	0,86 ± 0,053^{df}	1,01 ± 0,005^{df}	0,66 ± 0,041^{aeg}
1% T	0,96 ± 0,059^{bc}	1,17 ± 0,066^{a}	0,88 ± 0,008^{f}	1,13 ± 0,040^{a}	1,09 ± 0,023^{c}	0,73 ± 0,046^{ac}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 22 Antioksidacijska aktivnost, mjerena DPPH metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Granny Smith* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) i skladištenih 180 dana

	0 dan		30 dan		180 dan	
	5%	3%	5%	3%	5%	3%
Zamrznuti uzorci						
5% S	1,57 ± 0,101^{b}	1,11 ± 0,011^{e}	1,61 ± 0,051^{b}	1,68 ± 0,043^{a}	1,79 ± 0,098^{cde}	1,73 ± 0,035^{a}
1% S	1,09 ± 0,085^{d}	1,09 ± 0,003^{e}	1,33 ± 0,044^{c}	1,64 ± 0,051^{a}	1,91 ± 0,023^{a}	1,77 ± 0,068^{a}
5% G	1,19 ± 0,112^{cd}	1,11 ± 0,078^{e}	1,16 ± 0,107^{d}	1,51 ± 0,012^{b}	1,89 ± 0,076^{ab}	1,70 ± 0,020^{a}
1% G	1,25 ± 0,107^{c}	1,17 ± 0,058^{de}	1,03 ± 0,084^{e}	1,48 ± 0,009^{b}	1,88 ± 0,045^{ab}	1,67 ± 0,086^{a}
5% F	1,59 ± 0,107^{b}	1,26 ± 0,027^{c}	0,97 ± 0,008^{e}	1,35 ± 0,038^{ce}	1,75 ± 0,087^{cd}	1,50 ± 0,090^{bc}
1% F	1,84 ± 0,050^{a}	1,39 ± 0,060^{b}	1,80 ± 0,052^{a}	1,67 ± 0,042^{a}	1,81 ± 0,027^{bc}	1,55 ± 0,053^{b}
5% T	1,93 ± 0,074^{a}	1,50 ± 0,051^{a}	1,83 ± 0,118^{a}	1,25 ± 0,067^{de}	1,70 ± 0,060^{de}	1,37 ± 0,088^{de}
1% T	1,68 ± 0,047^{b}	1,20 ± 0,044^{cd}	1,79 ± 0,038^{a}	1,37 ± 0,072^{c}	1,90 ± 0,008^{ab}	1,42 ± 0,044^{cde}
Liofilizirani uzorci						
5% S	1,33 ± 0,052^{a}	1,20 ± 0,045^{a}	1,38 ± 0,024^{a}	1,21 ± 0,075^{b}	2,27 ± 0,141^{a}	1,83 ± 0,067^{a}
1% S	1,13 ± 0,022^{b}	1,10 ± 0,006^{a}	1,37 ± 0,082^{a}	1,26 ± 0,024^{a}	2,30 ± 0,144^{a}	1,83 ± 0,028^{a}
5% G	1,27 ± 0,051^{a}	1,17 ± 0,014^{a}	1,18 ± 0,035^{bc}	1,17 ± 0,007^{b}	1,91 ± 0,049^{b}	1,81 ± 0,155^{a}
1% G	1,28 ± 0,018^{a}	1,18 ± 0,012^{a}	1,27 ± 0,063^{ab}	1,19 ± 0,003^{ab}	1,73 ± 0,075^{c}	1,56 ± 0,089^{bde}
5% F	1,05 ± 0,013^{cd}	0,99 ± 0,092^{bd}	1,03 ± 0,037^{cde}	0,74 ± 0,060^{de}	1,47 ± 0,081^{d}	1,69 ± 0,070^{abc}
1% F	1,04 ± 0,078^{de}	0,99 ± 0,066^{b}	1,09 ± 0,045^{cd}	0,68 ± 0,024^{de}	1,43 ± 0,040^{d}	1,61 ± 0,038^{bd}
5% T	0,99 ± 0,058^{de}	0,83 ± 0,015^{cde}	1,06 ± 0,139^{cde}	0,75 ± 0,081^{d}	1,34 ± 0,096^{de}	1,60 ± 0,064^{bd}
1% T	1,12 ± 0,033^{bc}	0,85 ± 0,063^{cde}	1,18 ± 0,175^{bc}	0,89 ± 0,004^{c}	1,39 ± 0,039^{de}	1,54 ± 0,151^{bde}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline (*engl.* trolox equivalent)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 23 Antioksidacijska aktivnost, mjerena ABTS metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i skladištenih 180 dana (jabuke su uzgajane 2011. i 2012. godine)

	0 dan		30 dan		180 dan	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Zamrznuti uzorci						
5% S	12,54 ± 0,141^{b}	12,62 ± 0,184^{cd}	12,62 ± 0,263^{d}	9,79 ± 0,303^{e}	9,60 ± 0,263^{d}	13,01 ± 0,045^{a}
1% S	12,12 ± 0,012^{c}	12,32 ± 0,084^{de}	10,37 ± 0,071^{g}	9,90 ± 0,280^{e}	11,15 ± 0,215^{bc}	11,60 ± 0,264^{b}
5% G	14,00 ± 0,092^{a}	12,97 ± 0,099^{c}	11,05 ± 0,081^{f}	14,90 ± 0,224^{a}	9,49 ± 0,042^{df}	10,15 ± 0,140^{d}
1% G	12,13 ± 0,131^{c}	11,11 ± 0,443^{f}	11,71 ± 0,232^{e}	11,75 ± 0,204^{d}	10,82 ± 0,252^{c}	11,52 ± 0,236^{b}
5% F	13,79 ± 0,217^{a}	12,03 ± 0,285^{e}	15,39 ± 0,111^{b}	13,64 ± 0,240^{b}	8,91 ± 0,198^{eg}	7,97 ± 0,299^{efg}
1% F	9,84 ± 0,083^{g}	10,66 ± 0,053^{g}	11,65 ± 0,075^{e}	7,31 ± 0,209^{fg}	11,25 ± 0,105^{b}	10,83 ± 0,305^{c}
5% T	14,00 ± 0,112^{a}	16,36 ± 0,105^{a}	14,82 ± 0,065^{c}	13,21 ± 0,129^{c}	12,45 ± 0,217^{a}	11,45 ± 0,245^{b}
1% T	13,79 ± 0,218^{a}	15,56 ± 0,134^{b}	16,14 ± 0,107^{a}	13,13 ± 0,065^{c}	12,27 ± 0,129^{a}	12,75 ± 0,291^{a}
Liofilizirani uzorci						
5% S	11,62 ± 0,091^{c}	13,45 ± 0,183^{b}	12,33 ± 0,179^{b}	12,44 ± 0,302^{b}	12,98 ± 0,114^{a}	10,67 ± 0,207^{c}
1% S	13,08 ± 0,305^{b}	14,05 ± 0,071^{a}	10,43 ± 0,262^{de}	13,20 ± 0,040^{a}	9,60 ± 0,213^{e}	13,51 ± 0,366^{a}
5% G	9,22 ± 0,081^{e}	9,03 ± 0,291^{fg}	10,18 ± 0,092^{e}	13,05 ± 0,321^{a}	10,74 ± 0,151^{c}	8,53 ± 0,141^{d}
1% G	9,07 ± 0,023^{efg}	9,11 ± 0,293^{f}	9,39 ± 0,236^{fg}	10,53 ± 0,183^{c}	9,89 ± 0,076^{d}	6,90 ± 0,245^{efg}
5% F	11,30 ± 0,095^{c}	12,57 ± 0,164^{c}	12,51 ± 0,031^{b}	12,93 ± 0,235^{a}	9,94 ± 0,112^{d}	7,07 ± 0,223^{ef}
1% F	9,13 ± 0,296^{e}	12,21 ± 0,042^{d}	13,12 ± 0,092^{a}	9,69 ± 0,084^{df}	11,23 ± 0,232^{b}	11,00 ± 0,360^{c}
5% T	14,12 ± 0,162^{a}	13,66 ± 0,172^{b}	11,95 ± 0,073^{c}	9,07 ± 0,183^{efg}	9,07 ± 0,121^{fg}	10,62 ± 0,132^{c}
1% T	9,84 ± 0,068^{d}	11,41 ± 0,053^{e}	10,46 ± 0,023^{d}	12,48 ± 0,088^{b}	9,14 ± 0,182^{f}	12,83 ± 0,213^{b}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 24 Antioksidacijska aktivnost, mjerena ABTS metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) i skladištenih 180 dana

	0 dan		30 dan		180 dan	
	5%	3%	5%	3%	5%	3%
Zamrznuti uzorci						
5% S	22,72 ± 0,258^{b}	16,32 ± 0,061^{d}	23,99 ± 0,343^{b}	14,25 ± 0,025^{f}	19,07 ± 0,936^{d}	12,12 ± 0,031^{d}
1% S	21,57 ± 0,282^{c}	16,09 ± 0,041^{ef}	26,50 ± 0,855^{a}	14,16 ± 0,021^{g}	16,67 ± 0,098^{ef}	11,31 ± 0,065^{f}
5% G	23,85 ± 0,355^{a}	17,45 ± 0,097^{b}	23,18 ± 0,559^{b}	15,34 ± 0,011^{b}	20,14 ± 0,288^{c}	12,21 ± 0,047^{d}
1% G	21,94 ± 0,307^{c}	16,99 ± 0,061^{c}	19,49 ± 0,554^{d}	15,36 ± 0,037^{b}	19,60 ± 0,231^{cd}	11,87 ± 0,093^{e}
5% F	19,52 ± 0,391^{e}	16,03 ± 0,082^{f}	15,02 ± 0,296^{e}	14,98 ± 0,024^{d}	23,35 ± 0,411^{a}	13,94 ± 0,093^{c}
1% F	20,30 ± 0,609^{d}	16,94 ± 0,031^{c}	13,58 ± 0,154^{ef}	14,56 ± 0,064^{e}	20,98 ± 0,461^{b}	10,72 ± 0,082^{g}
5% T	23,78 ± 0,420^{a}	17,61 ± 0,001^{a}	20,32 ± 0,185^{c}	15,98 ± 0,039^{a}	23,49 ± 0,246^{a}	16,57 ± 0,081^{a}
1% T	20,84 ± 0,242^{d}	16,19 ± 0,041^{e}	15,40 ± 0,251^{e}	15,04 ± 0,011^{c}	20,13 ± 0,044^{c}	15,63 ± 0,103^{b}
Liofilizirani uzorci						
5% S	21,30 ± 0,042^{b}	19,01 ± 0,586^{cd}	16,32 ± 0,262^{ef}	15,64 ± 0,148^{b}	13,73 ± 0,432^{g}	13,02 ± 0,064^{c}
1% S	21,16 ± 0,101^{b}	18,46 ± 0,600^{def}	19,14 ± 0,299^{c}	14,82 ± 0,154^{c}	15,34 ± 0,169^{d}	12,03 ± 0,986^{c}
5% G	17,94 ± 0,225^{ce}	18,65 ± 0,886^{def}	18,33 ± 0,652^{d}	12,64 ± 0,066^{fg}	14,79 ± 0,148^{de}	8,17 ± 0,074^{eg}
1% G	17,40 ± 0,600^{cdf}	22,21 ± 1,082^{b}	15,71 ± 0,426^{eg}	14,95 ± 0,051^{c}	14,04 ± 0,056^{fg}	9,54 ± 0,213^{d}
5% F	17,13 ± 0,203^{dg}	17,67 ± 0,295^{eg}	18,07 ± 0,258^{d}	13,64 ± 0,086^{eg}	14,57 ± 0,192^{ef}	7,77 ± 0,056^{efg}
1% F	21,22 ± 0,555^{b}	19,03 ± 0,735^{cd}	20,18 ± 0,604^{b}	14,54 ± 0,010^{d}	21,39 ± 0,363^{b}	15,29 ± 0,757^{b}
5% T	21,37 ± 0,501^{b}	20,13 ± 0,455^{c}	19,92 ± 0,614^{b}	15,81 ± 0,002^{b}	18,02 ± 0,502^{c}	12,66 ± 0,767^{c}
1% T	24,32 ± 0,579^{a}	24,38 ± 0,224^{a}	22,76 ± 0,356^{a}	17,84 ± 0,072^{a}	22,11 ± 0,765^{a}	19,34 ± 0,816^{a}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 25 Antioksidacijska aktivnost, mjerena DPPH metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i skladištenih 180 dana(jabuke su uzgajane 2011. i 2012. godine)

	0 dan		30 dan		180 dan	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Zamrznuti uzorci						
5% S	0,84 ± 0,018^{abc}	1,24 ± 0,085^{a}	1,22 ± 0,006^{b}	1,04 ± 0,005^{a}	1,14 ± 0,038^{a}	0,91 ± 0,003^{b}
1% S	0,85 ± 0,064^{abc}	1,23 ± 0,007^{a}	1,34 ± 0,022^{a}	0,97 ± 0,036^{a}	1,00 ± 0,035^{c}	0,83 ± 0,026^{bcd}
5% G	0,92 ± 0,030^{a}	1,03 ± 0,010^{b}	1,36 ± 0,016^{a}	0,85 ± 0,095^{b}	1,06 ± 0,030^{b}	1,13 ± 0,071^{a}
1% G	0,83 ± 0,008^{abc}	0,91 ± 0,045^{c}	0,91 ± 0,010^{c}	0,69 ± 0,013^{cde}	0,92 ± 0,022^{d}	0,89 ± 0,034^{bc}
5% F	0,91 ± 0,054^{ab}	0,92 ± 0,042^{c}	0,65 ± 0,008^{d}	0,71 ± 0,070^{c}	1,00 ± 0,033^{c}	0,89 ± 0,071^{bc}
1% F	0,72 ± 0,034^{cd}	0,72 ± 0,030^{df}	0,62 ± 0,022^{e}	0,68 ± 0,044^{cdf}	0,91 ± 0,009^{d}	0,81 ± 0,049^{cde}
5% T	0,64 ± 0,045^{d}	0,76 ± 0,043^{de}	0,58 ± 0,004^{f}	0,82 ± 0,011^{b}	0,74 ± 0,020^{f}	0,76 ± 0,036^{df}
1% T	0,78 ± 0,181^{bc}	0,88 ± 0,044^{c}	0,65 ± 0,007^{d}	0,95 ± 0,030^{a}	0,80 ± 0,013^{e}	0,88 ± 0,036^{bc}
Liofilizirani uzorci						
5% S	1,21 ± 0,005^{a}	1,01 ± 0,005^{a}	1,20 ± 0,023^{a}	0,93 ± 0,050^{de}	0,97 ± 0,011^{a}	0,78 ± 0,051^{abd}
1% S	0,70 ± 0,038^{d}	0,84 ± 0,037^{bd}	1,26 ± 0,007^{a}	0,98 ± 0,049^{bcd}	0,88 ± 0,018^{b}	0,58 ± 0,062^{cef}
5% G	1,03 ± 0,062^{b}	0,99 ± 0,023^{a}	0,95 ± 0,046^{b}	1,03 ± 0,051^{abc}	0,92 ± 0,056^{ab}	0,81 ± 0,074^{ab}
1% G	0,89 ± 0,049^{c}	0,97 ± 0,031^{a}	0,82 ± 0,011^{cd}	0,85 ± 0,032^{ef}	0,88 ± 0,015^{bd}	0,77 ± 0,052^{bde}
5% F	0,88 ± 0,017^{c}	0,86 ± 0,004^{bd}	0,80 ± 0,010^{def}	0,97 ± 0,015^{cd}	0,90 ± 0,070^{ab}	0,78 ± 0,050^{abd}
1% F	0,86 ± 0,019^{c}	0,83 ± 0,047^{bd}	0,87 ± 0,033^{c}	1,07 ± 0,048^{a}	0,88 ± 0,037^{bd}	0,92 ± 0,080^{a}
5% T	0,73 ± 0,033^{d}	0,76 ± 0,026^{cde}	0,80 ± 0,061^{d}	1,05 ± 0,042^{ab}	0,77 ± 0,023^{cd}	0,90 ± 0,056^{ab}
1% T	0,54 ± 0,013^{ef}	0,88 ± 0,027^{b}	0,81 ± 0,023^{d}	1,07 ± 0,026^{a}	0,74 ± 0,033^{cde}	0,86 ± 0,165^{ab}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 26 Antioksidacijska aktivnost, mjerena DPPH metodom (mmol TE/100 g)[a], u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima jabuke *Gold Rush* s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i praha kore jabuke (3 i 5%) i skladištenih 180 dana

	0 dan		30 dan		180 dan	
	5%	3%	5%	3%	5%	3%
Zamrznuti uzorci						
5% S	1,91 ± 0,158^{a}	1,72 ± 0,084^{a}	2,17 ± 0,119^{a}	1,83 ± 0,019^{a}	1,85 ± 0,080^{a}	1,78 ± 0,057^{a}
1% S	1,54 ± 0,102^{b}	1,34 ± 0,086^{d}	2,06 ± 0,097^{ab}	1,56 ± 0,058^{d}	1,77 ± 0,131^{ab}	1,75 ± 0,088^{a}
5% G	1,85 ± 0,114^{a}	1,68 ± 0,043^{ab}	2,17 ± 0,049^{a}	1,81 ± 0,053^{a}	1,59 ± 0,142^{a}	1,53 ± 0,031^{b}
1% G	1,80 ± 0,116^{a}	1,60 ± 0,073^{abc}	2,15 ± 0,014^{a}	1,73 ± 0,007^{b}	1,41 ± 0,090^{a}	1,40 ± 0,050^{c}
5% F	1,97 ± 0,113^{a}	1,71 ± 0,036^{a}	2,08 ± 0,064^{ab}	1,68 ± 0,036^{bc}	1,53 ± 0,096^{ab}	1,37 ± 0,088^{c}
1% F	1,82 ± 0,054^{a}	1,62 ± 0,004^{ab}	2,01 ± 0,023^{bc}	1,63 ± 0,004^{c}	1,13 ± 0,045^{bc}	1,10 ± 0,056^{d}
5% T	1,90 ± 0,039^{a}	1,58 ± 0,047^{bc}	1,87 ± 0,058^{d}	1,40 ± 0,015^{e}	1,18 ± 0,158^{d}	1,04 ± 0,001^{de}
1% T	1,88 ± 0,140^{a}	1,51 ± 0,065^{c}	1,91 ± 0,022^{cd}	1,42 ± 0,008^{e}	1,11 ± 0,169^{cd}	1,05 ± 0,016^{de}
Liofilizirani uzorci						
5% S	2,65 ± 0,045^{a}	2,59 ± 0,137^{a}	1,87 ± 0,153^{a}	1,84 ± 0,053^{b}	1,83 ± 0,072^{a}	1,68 ± 0,141^{abc}
1% S	2,29 ± 0,049^{c}	2,27 ± 0,098^{b}	1,87 ± 0,067^{a}	1,92 ± 0,007^{ab}	1,88 ± 0,058^{a}	1,73 ± 0,059^{ab}
5% G	2,43 ± 0,108^{b}	2,23 ± 0,059^{b}	1,66 ± 0,067^{ab}	1,96 ± 0,036^{a}	1,76 ± 0,072^{a}	1,77 ± 0,009^{a}
1% G	1,96 ± 0,104^{d}	1,88 ± 0,085^{c}	1,41 ± 0,111^{bcd}	1,71 ± 0,038^{c}	1,61 ± 0,091^{b}	1,69 ± 0,111^{abc}
5% F	1,75 ± 0,042^{e}	1,86 ± 0,086^{cd}	1,18 ± 0,254^{def}	1,68 ± 0,042^{cd}	1,49 ± 0,076^{bcd}	1,63 ± 0,056^{bcd}
1% F	1,53 ± 0,067^{f}	1,79 ± 0,132^{cde}	1,04 ± 0,139^{ef}	1,66 ± 0,062^{cd}	1,56 ± 0,058^{bc}	1,59 ± 0,066^{cde}
5% T	1,65 ± 0,072^{ef}	1,77 ± 0,077^{cde}	1,34 ± 0,142^{cd}	1,60 ± 0,054^{def}	1,42 ± 0,088^{def}	1,54 ± 0,006^{def}
1% T	1,57 ± 0,101^{f}	1,90 ± 0,230^{c}	1,57 ± 0,096b^{c}	1,64 ± 0,039^{cde}	1,44 ± 0,027^{cde}	1,49 ± 0,002^{ef}

[a]srednje vrijednosti tri mjerenja ± standardna devijacija (SD)

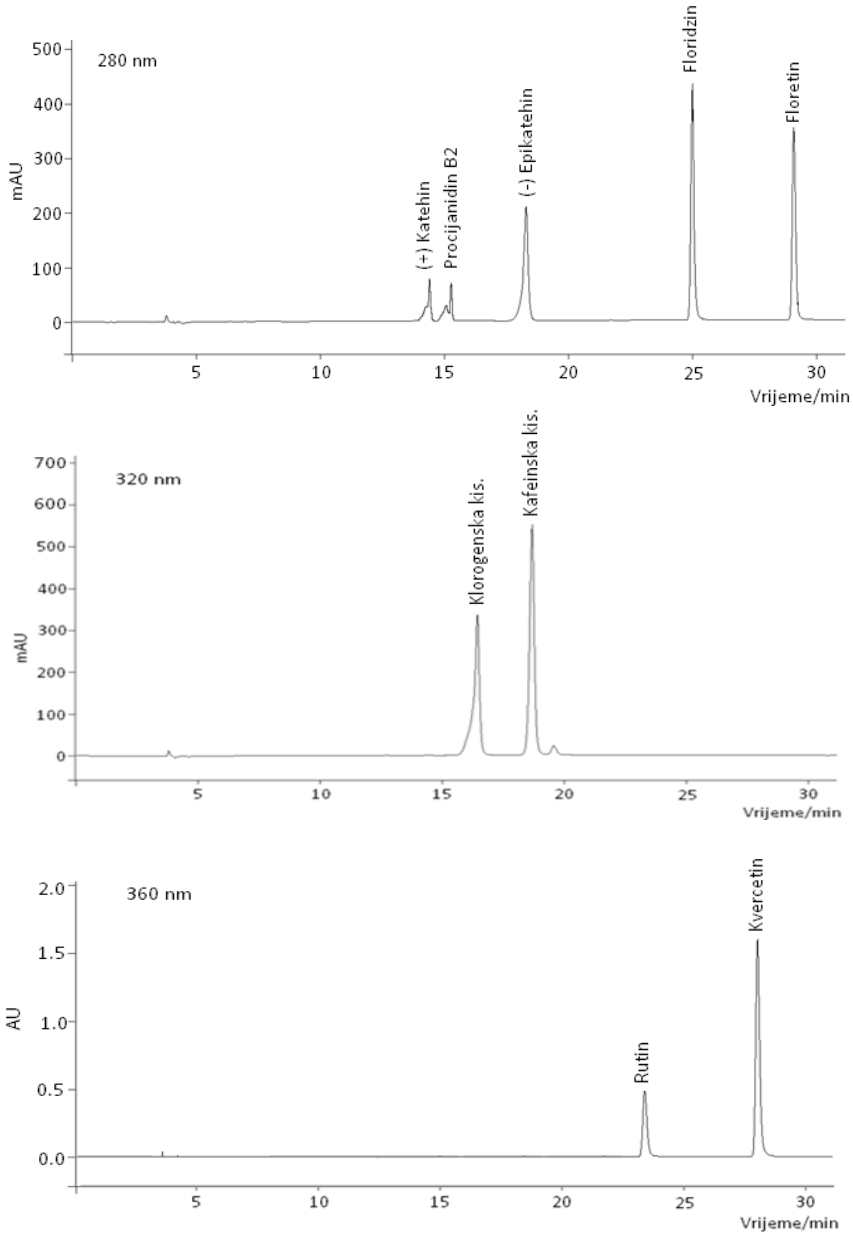
TE – ekvivalent trolox kiseline *(engl. trolox equivalent)*

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Identifikacija polifenolnih spojeva

Validacija HPLC metode, identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva u kaši od jabuka

Slika 31 prikazuje kromatograme standarda flavanola (A), dihidrohalkona (A), fenolnih kiselina (B) i flavonola (C). Rezultati validacije HPLC metoda dani su u Tablicama 27-28. Na Slikama 32-34 prikazani su primjeri kromatograma nekih uzoraka voća u koje su dodani standardi polifenola u svrhu identifikacije tih spojeva preklopljeni s kromatogramima voća bez dodanih standarda.



Slika 31 Kromatogrami standarda flavanola (A), dihidrohalkona (A), fenolnih kiseline (B) i flavonola (C)

Tablica 27 Linearnost[a], granica detekcije (LOD) i granica kvantifikacije (LOQ) HPLC metode.

Standardi	Valna duljina (nm)	Retencijsko vrijeme (min)	Raspon koncentracija (mg/L)	Nagib	Odsječak na osi y	r^2	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
(+) Katehin	280	14,899	1-200	59847	-43541	0,999898	0,068	0,207
Procijanidin B2	280	15,603	1-200	74163	-85217	0,999047	0,041	0,125
(-) Epikatehin	280	18,163	1-200	88168	112760	0,999538	0,030	0,092
Floridzin	280	24,941	1-200	172730	34267	0,999955	0,044	0,135
Floretin	280	28,709	1-200	1099230	-1168600	0,997165	0,037	0,111
Klorogenska kiselina	320	16,098	1-200	644950	-705310	0,998975	0,045	0,135
Kava kiselina	320	18,963	1-200	731290	-517590	0,999761	0,032	0,097
Rutin	360	23,512	1-200	83371	118400	0,998041	0,058	0,176
Kvercetin	360	27,952	1-200	539330	360170	0,999475	0,034	0,104

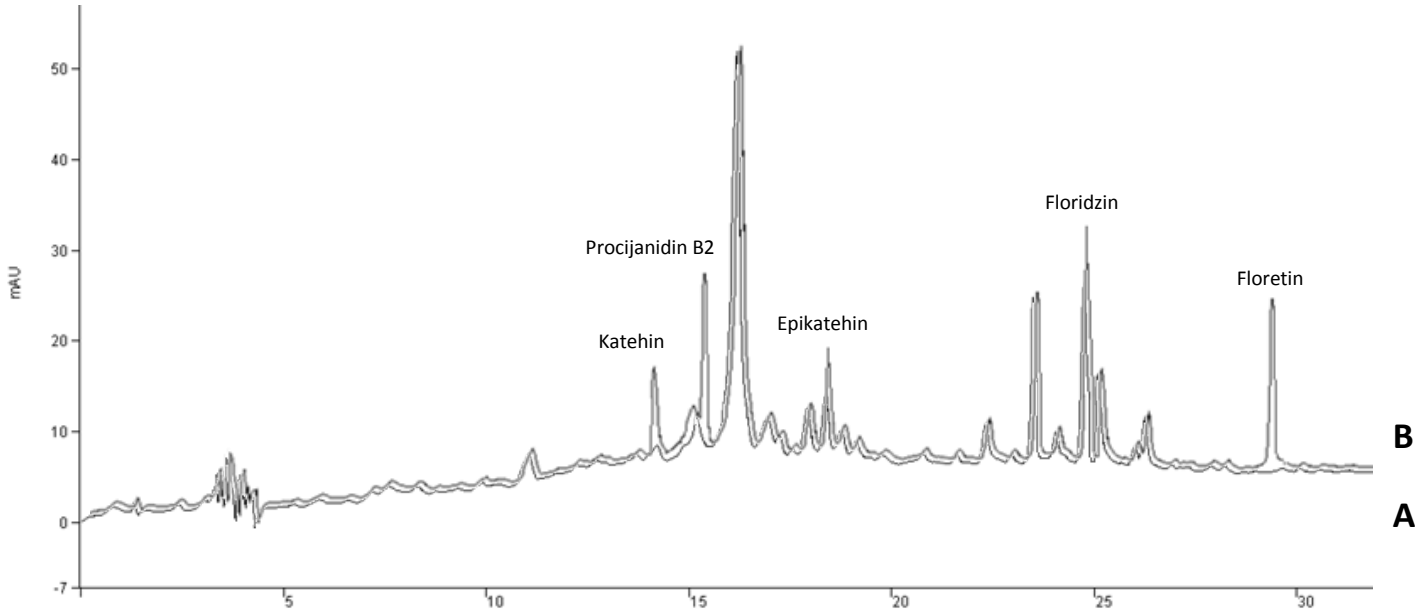
[a]izražena koeficijentom determinacije r^2

Tablica 28 Preciznost[a] i točnost[b] HPLC metode za određivanje polifenolnih spojeva

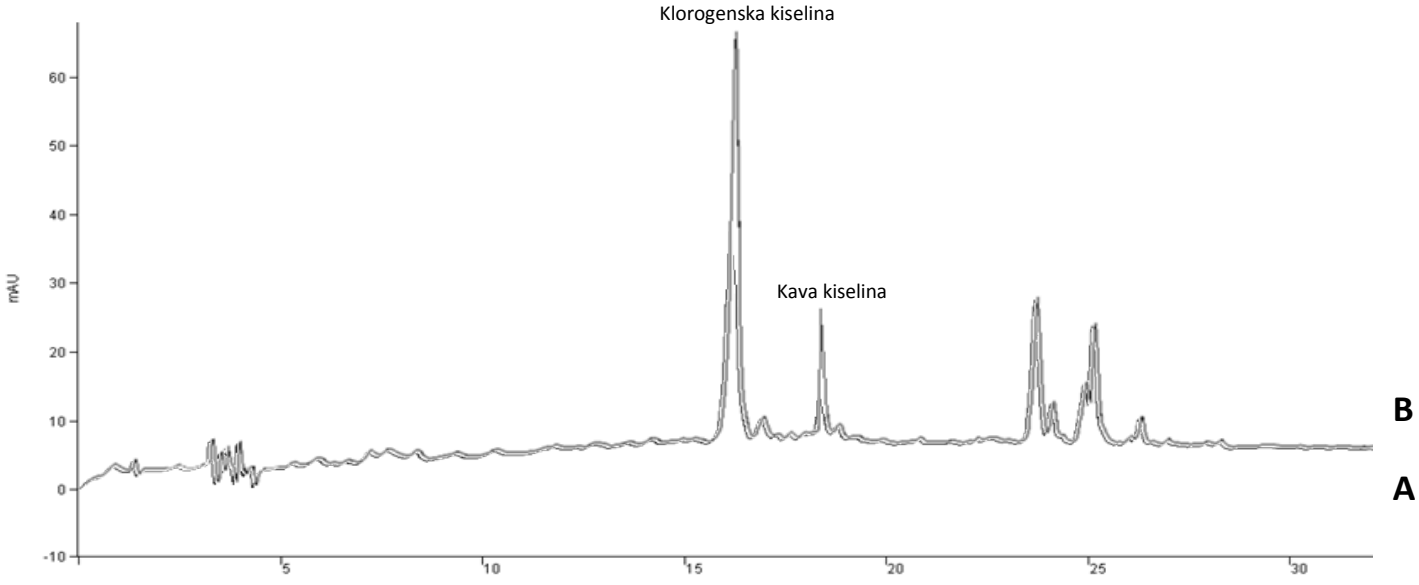
Polifenolni spojevi	Koeficijent varijacije[a] %		Iskorištenje[b]
	Gold Rush	***Granny Smith***	
Procijanidin B2	1,35	1,30	98,11
(-) Epikatehin	1,33	0,54	96,64
Floridzin	0,59	0,47	92,63
Floretin	1,04	0,53	98,74
Klorogenska kiselina	0,39	0,33	93,17
Kava kiselina	0,28	0,32	98,34
Rutin	0,41	0,53	92,29
Kvercetin	0,11	0,16	97,22

[a] preciznost metode izražena računanjem koeficijenta varijacije (KV) površina pikova iz tri uzastopna mjerenja svakog uzorka voća.

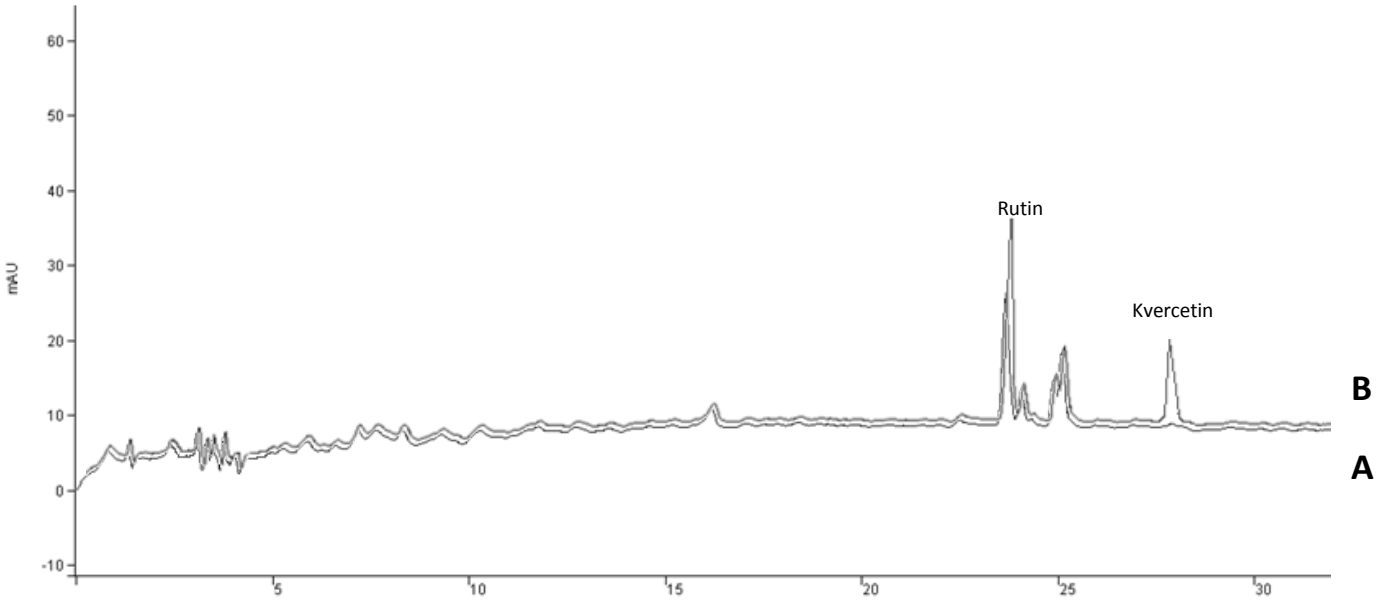
[b] točnost metode izražena računanjem iskorištenja nakon dodavanja čistih spojeva u sve uzorke voća. Podaci iskorištenja su srednje vrijednost.



Slika 32 Preklopljeni kromatogram uzorka jabuke (A) i kromatogram uzorka jabuke u koji su dodani standardi katehni, procijanidin B2, epikatehin, floridzin i floretin (B) (280 nm)



Slika 33 Preklopljeni kromatogram uzorka jabuke (A) i kromatogram uzorka jabuke u koji su dodani standardi klorogenska i kava kiselina (B) (320 nm)



Slika 34 Preklopljeni kromatogrami uzorka jabuke (A) i kromatogrami uzorka jabuke u koji su dodani standardi rutin i kvercetin (B) (360 nm)

Tablica 29 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u svježim i procesiranim uzorcima jabuke *Granny Smith* (2011. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Svježi										
GS KoraPulpa	1,75 ± 0,119	0,1 ± 0,022	0,11 ± 0,009	0,12 ± 0,003	1,88 ± 0,097	<lod	<lod	<lod	<lod	0,51 ± 0,038
Liofilizirani										
GS KoraPulpa	<lod**	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,19 ± 0,033^{c}
GS + 5% S	<lod	<lod	0,17 ± 0,003^{a}	0,32 ± 0,007^{a}	<lod	<lod	<lod	0,07 ± 0,002^{a}	0,15 ± 0,002^{a}	0,21 ± 0,059^{c}
GS + 1% S	0,35 ± 0,043^{b}	0,07 ± 0,001^{a}	<lod	0,11 ± 0,004^{c}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,20 ± 0,052^{c}
GS + 5% G	0,31 ± 0,007^{c}	<lod	<lod	0,14 ± 0,007^{b}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,28 ± 0,070^{b}
GS + 1% G	0,23 ± 0,116^{d}	0,03 ± 0,001^{b}	<lod	0,11 ± 0,002^{c}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,25 ± 0,011^{bc}
GS + 5% F	<lod	<lod	<lod	0,14 ± 0,013^{b}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,24 ± 0,013^{bc}
GS + 1% F	<lod	<lod	<lod	0,10 ± 0,000^{c}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,12 ± 0,005^{d}
GS + 5% T	0,31 ± 0,003^{c}	0,03 ± 0,001^{b}	<lod	0,14 ± 0,002^{b}	0,09 ± 0,003^{a}	<lod	<lod	<lod	0,03 ± 0,008^{b}	0,42 ± 0,061^{a}
GS + 1% T	0,75 ± 0,012^{a}	<lod	<lod	0,14 ± 0,008^{b}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,28 ± 0,006^{b}
Zamrznuti										
GS KoraPulpa	<lod	0,05 ± 0,001^{c}	<lod	0,18 ± 0,001^{d}	<lod	<lod	<lod	<lod	0,04 ± 0,013^{c}	0,34 ± 0,007^{d}
GS + 5% S	0,38 ± 0,024^{c}	<lod	0,04 ± 0,001^{b}	0,27 ± 0,015^{c}	0,05 ± 0,004^{b}	0,06 ± 0,001^{a}	<lod	0,13 ± 0,007^{a}	0,35 ± 0,006^{a}	1,02 ± 0,136^{a}
GS + 1% S	0,24 ± 0,032^{d}	0,09 ± 0,004^{b}	0,04 ± 0,002^{bc}	0,33 ± 0,013^{b}	<lod	<lod	0,03 ± 0,002^{abc}	<lod	0,04 ± 0,004^{c}	0,58 ± 0,152^{cd}
GS + 5% G	0,72 ± 0,068^{b}	<lod	0,05 ± 0,002^{b}	0,33 ± 0,018^{b}	0,04 ± 0,004^{c}	0,03 ± 0,018^{b}	0,04 ± 0,014^{ab}	0,03 ± 0,008^{c}	0,04 ± 0,011^{c}	0,53 ± 0,026^{cde}
GS + 1% G	0,72 ± 0,100^{b}	0,03 ± 0,001^{d}	0,04 ± 0,002^{b}	0,34 ± 0,025^{b}	<lod	<lod	0,04 ± 0,006^{ab}	<lod	0,04 ± 0,008^{c}	0,74 ± 0,033^{bc}
GS + 5% F	<lod	<lod	0,04 ± 0,007^{bcd}	0,32 ± 0,031^{b}	<lod	<lod	<lod	<lod	0,04 ± 0,005^{de}	0,55 ± 0,031^{cde}
GS + 1% F	<lod	0,04 ± 0,002^{c}	<lod	0,32 ± 0,001^{c}	<lod	<lod	<lod	<lod	0,04 ± 0,013^{de}	0,33 ± 0,014^{d}
GS + 5% T	0,43 ± 0,015^{c}	<lod	0,04 ± 0,007^{bcd}	0,34 ± 0,018^{b}	<lod	<lod	0,03 ± 0,004^{bcd}	<lod	0,05 ± 0,001^{de}	0,88 ± 0,015^{b}
GS + 1% T	0,95 ± 0,019^{a}	0,09 ± 0,003^{a}	0,06 ± 0,018^{a}	0,39 ± 0,006^{a}	0,07 ± 0,003^{a}	<lod	0,04 ± 0,009^{a}	0,04 ± 0,002^{b}	0,07 ± 0,002^{b}	1,19 ± 0,173^{a}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-e) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 30 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u svježim i procesiranim uzorcima jabuke *Granny Smith* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH – floridzin ; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Svježi										
GS KoraPulpa	2,80 ± 0,075	0,36 ± 0,016	0,47 ± 0,047	0,26 ± 0,002	0,37 ± 0,027	0,05 ± 0,002	<lod	0,06 ± 0,022	0,04 ± 0,003	1,31 ± 0,057
Liofilizirani										
GS KoraPulpa	<lod**	<lod	<lod	<lod	<lod	0,06 ± 0,007^{a}	<lod	0,08 ± 0,013^{a}	0,05 ± 0,014^{ab}	0,19 ± 0,074^{e}
GS + 5% S	0,54 ± 0,040^{d}	0,10 ± 0,019^{cd}	0,04 ± 0,016^{f}	0,17 ± 0,028^{c}	<lod	<lod	<lod	0,03 ± 0,006^{ad}	<lod	0,43 ± 0,037^{d}
GS + 1% S	0,77 ± 0,073^{bc}	0,12 ± 0,010^{b}	0,06 ± 0,009^{e}	0,22 ± 0,023^{b}	<lod	0,03 ± 0,003c	<lod	0,04 ± 0,016^{ac}	0,03 ± 0,001^{ac}	0,63 ± 0,016^{c}
GS + 5% G	0,39 ± 0,071^{e}	0,03 ± 0,008^{f}	0,07 ± 0,018^{e}	0,21 ± 0,044^{b}	<lod	0,04 ± 0,000^{b}	<lod	0,04 ± 0,005^{ac}	0,04 ± 0,003^{ac}	0,64 ± 0,017^{c}
GS + 1% G	0,52 ± 0,007^{d}	0,04 ± 0,026^{f}	0,11 ± 0,014^{c}	0,20 ± 0,011^{b}	<lod	0,03 ± 0,001^{c}	<lod	0,04 ± 0,017^{acd}	0,03 ± 0,000^{ac}	0,59 ± 0,008^{c}
GS + 5% F	0,63 ± 0,019^{cd}	0,12 ± 0,006^{b}	0,15 ± 0,002^{b}	0,24 ± 0,077^{a}	<lod	0,03 ± 0,004^{c}	<lod	0,05 ± 0,005^{ac}	0,03 ± 0,006^{ac}	0,88 ± 0,062^{ab}
GS + 1% F	1,03 ± 0,023^{a}	0,15 ± 0,046^{a}	0,15 ± 0,006^{b}	0,28 ± 0,031^{a}	<lod	0,06 ± 0,002^{cd}	<lod	0,08 ± 0,007^{ab}	0,09 ± 0,044^{a}	0,90 ± 0,062^{ab}
GS + 5% T	0,98 ± 0,011^{ab}	0,08 ± 0,009^{d}	0,16 ± 0,010^{a}	0,15 ± 0,000^{cf}	<lod	<lod	<lod	0,04 ± 0,000^{ac}	<lod	0,82 ± 0,001^{b}
GS + 1% T	0,69 ± 0,000^{cd}	0,06 ± 0,000^{e}	0,13 ± 0,001^{c}	0,21 ± 0,011^{b}	<lod	0,03 ± 0,006^{c}	<lod	0,04 ± 0,003^{ad}	0,03 ± 0,001^{ad}	0,97 ± 0,004^{a}
Zamrznuti										
GS KoraPulpa	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,06 ± 0,037^{g}	<lod	0,12 ± 0,004^{e}	0,07 ± 0,016^{h}	0,20 ± 0,047^{fg}
GS + 5% S	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,22 ± 0,005^{bc}	<lod	0,39 ± 0,003^{b}	0,21 ± 0,004^{f}	0,41 ± 0,020^{d}
GS + 1% S	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,22 ± 0,002^{b}	<lod	0,36 ± 0,003^{cd}	0,27 ± 0,004^{b}	0,46 ± 0,049^{c}
GS + 5% G	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,21 ± 0,007^{c}	<lod	0,38 ± 0,003^{bc}	0,26 ± 0,005^{c}	0,44 ± 0,059^{c}
GS + 1% G	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,22 ± 0,003^{c}	<lod	0,33 ± 0,008^{d}	0,23 ± 0,006^{d}	0,61 ± 0,028^{b}
GS + 5% F	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,29 ± 0,002^{a}	<lod	0,42 ± 0,009^{a}	0,31 ± 0,001^{a}	0,80 ± 0,007^{a}
GS + 1% F	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,13 ± 0,003^{e}	<lod	0,39 ± 0,004^{ab}	0,16 ± 0,005^{g}	0,27 ± 0,065^{e}
GS + 5% T	0,51 ± 0,005^{a}	<lod	0,33 ± 0,005^{a}	0,17 ± 0,002^{a}	<lod	0,11 ± 0,001^{f}	<lod	0,37 ± 0,005^{bc}	0,14 ± 0,007^{g}	0,21 ± 0,053^{f}
GS + 1% T	0,38 ± 0,009^{b}	<lod	0,32 ± 0,001^{b}	0,17 ± 0,003^{a}	<lod	0,16 ± 0,006^{d}	<lod	0,39 ± 0,003^{b}	0,20 ± 0,004^{e}	0,29 ± 0,018^{e}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-h) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 31 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u svježim i procesiranim uzorcima jabuke *Gold Rush* (2011. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R – rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Svježi										
GR KoraPulpa	1,79 ± 0,053	0,23 ± 0,007	0,08 ± 0,009	<lod	1,85 ± 0,028	<lod	<lod	<lod	<lod	0,61 ± 0,006
Liofilizirani										
GR KoraPulpa	0,36 ± 0,010^{e}	0,14 ± 0,010^{d}	0,09 ± 0,005^{c}	<lod	0,25 ± 0,030^{ef}	<lod	<lod	<lod	0,04 ± 0,004^{e}	0,45 ± 0,007^{ce}
GR + 5% S	1,14 ± 0,002^{c}	0,33 ± 0,085^{a}	0,19 ± 0,033^{b}	0,28 ± 0,017^{ab}	0,57 ± 0,041^{ab}	0,03 ± 0,004^{b}	<lod	0,03 ± 0,004^{b}	0,05 ± 0,007^{bd}	0,55 ± 0,080^{bcd}
GR + 1% S	1,07 ± 0,087^{d}	0,20 ± 0,016^{bc}	0,20 ± 0,017^{ab}	0,26 ± 0,006^{bcd}	0,60 ± 0,092^{a}	0,04 ± 0,011^{ab}	<lod	0,04 ± 0,015^{ab}	0,06 ± 0,014^{abc}	0,81 ± 0,054^{a}
GR + 5% G	1,16 ± 0,015^{c}	0,18 ± 0,011^{cd}	0,19 ± 0,009^{ab}	0,27 ± 0,003^{abc}	0,49 ± 0,015^{sbc}	0,03 ± 0,016^{ab}	<lod	0,03 ± 0,006^{b}	0,05 ± 0,001^{bd}	0,55 ± 0,044^{bcd}
GR + 1% G	1,07 ± 0,003^{d}	0,15 ± 0,002^{cd}	0,19 ± 0,014^{ab}	0,26 ± 0,014^{abc}	0,42 ± 0,039^{cd}	<lod	<lod	0,03 ± 0,004^{b}	0,05 ± 0,005^{abcd}	0,53 ± 0,074^{bce}
GR + 5% F	1,34 ± 0,039^{a}	0,27 ± 0,122^{ab}	0,22 ± 0,015^{a}	0,28 ± 0,012^{a}	0,49 ± 0,013^{abc}	0,03 ± 0,002^{b}	<lod	0,04 ± 0,003^{a}	0,06 ± 0,020^{a}	0,72 ± 0,017^{ab}
GR + 1% F	1,28 ± 0,014^{ab}	0,21 ± 0,032^{bc}	0,18 ± 0,029^{b}	0,25 ± 0,021^{bcd}	0,46 ± 0,032^{bcd}	<lod	<lod	0,03 ± 0,000^{b}	0,06 ± 0,005^{ab}	0,64 ± 0,016^{abc}
GR + 5% T	1,11 ± 0,011^{cd}	0,33 ± 0,014^{a}	0,21 ± 0,012^{ab}	0,26 ± 0,016^{bcd}	0,34 ± 0,002^{d}	0,03 ± 0,004^{b}	<lod	0,03 ± 0,006^{b}	0,05 ± 0,004^{abc}	0,80 ± 0,146^{a}
GR + 1% T	1,23 ± 0,002^{b}	0,15 ± 0,002^{cd}	0,19 ± 0,011^{b}	0,24 ± 0,012^{d}	0,27 ± 0,019^{e}	0,03 ± 0,008^{b}	<lod	0,03 ± 0,008^{b}	0,05 ± 0,009^{abc}	0,79 ± 0,231^{a}
Zamrznuti										
GR KoraPulpa	<lod**	<lod	<lod	<lod	0,05 ± 0,018^{f}	<lod	<lod	<lod	<lod	0,31 ± 0,055^{e}
GR + 5% S	0,96 ± 0,046^{a}	0,13 ± 0,004^{a}	0,10 ± 0,016^{a}	0,34 ± 0,042^{a}	0,41 ± 0,051^{a}	0,05 ± 0,015^{a}	<lod	<lod	0,08 ± 0,004^{ab}	0,84 ± 0,023^{ab}
GR + 1% S	<lod	<lod	0,07 ± 0,002^{b}	0,31 ± 0,005^{b}	0,12 ± 0,016^{bcd}	<lod	<lod	<lod	0,07 ± 0,005^{abc}	0,34 ± 0,135^{def}
GR + 5% G	<lod	<lod	<lod	<lod	0,15 ± 0,013^{b}	<lod	<lod	0,05 ± 0,007^{a}	0,04 ± 0,002^{e}	0,47 ± 0,049^{bcd}
GR + 1% G	0,54 ± 0,025^{b}	0,11 ± 0,003^{b}	0,07 ± 0,004^{b}	0,27 ± 0,006^{c}	0,12 ± 0,014^{bcd}	0,03 ± 0,007^{b}	<lod	0,03 ± 0,000^{c}	0,07 ± 0,019^{abc}	0,62 ± 0,071^{bc}
GR + 5% F	<lod	<lod	<lod	<lod	0,11 ± 0,015^{d}	<lod	<lod	0,04 ± 0,000^{b}	0,08 ± 0,001^{a}	0,37 ± 0,131^{de}
GR + 1% F	<lod	<lod	<lod	<lod	0,15 ± 0,024^{bc}	<lod	<lod	0,04 ± 0,003^{b}	0,06 ± 0,012^{cde}	0,49 ± 0,273^{bc}
GR + 5% T	<lod	<lod	<lod	<lod	0,11 ± 0,006^{cd}	<lod	<lod	0,03 ± 0,007^{c}	0,05 ± 0,005^{de}	0,91 ± 0,073^{a}
GR + 1% T	<lod	<lod	<lod	<lod	0,06 ± 0,011^{e}	<lod	<lod	<lod	0,06 ± 0,007^{bcd}	0,38 ± 0,091^{cde}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 32 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u svježim i procesiranim uzorcima jabuke *Gold Rush* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB3	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Svježi										
GR KoraPulpa	3,02 ± 0,146	0,61 ± 0,072	0,36 ± 0,031	0,26 ± 0,082	1,19 ± 0,042	<lod	<lod	0,03 ± 0,008	0,04 ± 0,019	1,33 ± 0,040
Liofilizirani										
GR KoraPulpa	0,31 ± 0,006^{e}	0,16 ± 0,005^{b}	0,07 ± 0,134^{e}	0,11 ± 0,028^{e}	0,16 ± 0,156^{f}	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod
GR + 5% S	1,16 ± 0,086^{c}	0,09 ± 0,002^{e}	0,27 ± 0,014^{ab}	0,22 ± 0,084^{a}	0,28 ± 0,014^{bcd}	0,03 ± 0,002^{b}	<lod	0,04 ± 0,004^{ab}	0,07 ± 0,004^{bc}	0,80 ± 0,055^{b}
GR + 1% S	1,05 ± 0,031^{c}	0,14 ± 0,011^{bc}	0,26 ± 0,062^{bc}	0,18 ± 0,015^{abc}	0,37 ± 0,034^{ab}	0,04 ± 0,001^{a}	<lod	0,06 ± 0,027^{a}	<lod	0,83 ± 0,080^{b}
GR + 5% G	1,04 ± 0,050^{c}	0,14 ± 0,011^{bc}	0,19 ± 0,044^{d}	0,21 ± 0,063^{ac}	0,34 ± 0,065^{ab}	<lod	<lod	<lod	0,05 ± 0,018^{d}	0,39 ± 0,020^{e}
GR + 1% G	0,45 ± 0,103^{d}	0,15 ± 0,039^{b}	0,29 ± 0,010^{a}	0,22 ± 0,078^{a}	0,23 ± 0,053^{de}	0,03 ± 0,006^{b}	<lod	0,03 ± 0,015	0,06 ± 0,013^{bcd}	0,65 ± 0,033^{c}
GR + 5% F	1,53 ± 0,026^{b}	0,25 ± 0,056^{a}	0,25 ± 0,076^{bc}	0,16 ± 0,018^{bcd}	0,18 ± 0,038^{ef}	0,03 ± 0,003^{b}	<lod	<lod	0,09 ± 0,009^{a}	0,54 ± 0,048^{d}
GR + 1% F	1,13 ± 0,093^{c}	0,29 ± 0,044^{a}	0,31 ± 0,041^{a}	0,18 ± 0,001^{abc}	0,33 ± 0,035^{abc}	0,04 ± 0,015^{ab}	<lod	0,07 ± 0,030^{a}	0,07 ± 0,013^{ab}	0,76 ± 0,029^{b}
GR + 5% T	1,71 ± 0,095^{a}	0,11 ± 0,022^{cd}	0,22 ± 0,012^{bc}	0,22 ± 0,029^{a}	0,25 ± 0,050^{cde}	0,03 ± 0,003^{b}	<lod	0,03 ± 0,012^{ab}	0,05 ± 0,003^{cd}	0,55 ± 0,033^{d}
GR + 1% T	1,77 ± 0,050^{a}	0,15 ± 0,032^{b}	0,22 ± 0,039^{bc}	0,25 ± 0,038^{a}	0,42 ± 0,048^{a}	0,03 ± 0,008^{b}	<lod	0,03 ± 0,002^{b}	0,06 ± 0,010^{bcd}	0,95 ± 0,048^{a}
Zamrznuti										
GR KoraPulpa	<lod**	<lod	0,13 ± 0,035^{a}	0,13 ± 0,030^{c}	0,13 ± 0,011^{a}	0,22 ± 0,003^{f}	<lod	0,30 ± 0,002^{de}	0,55 ± 0,002^{d}	0,46 ± 0,002^{e}
GR + 5% S	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,17 ± 0,002^{i}	<lod	0,20 ± 0,001^{h}	0,40 ± 0,002^{h}	0,33 ± 0,001^{h}
GR + 1% S	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,19 ± 0,002^{g}	<lod	0,33 ± 0,002^{b}	0,58 ± 0,003^{b}	0,40 ± 0,001^{f}
GR + 5% G	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,18 ± 0,001^{h}	<lod	0,26 ± 0,003^{g}	0,34 ± 0,001^{i}	0,28 ± 0,003^{i}
GR + 1% G	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,22 ± 0,000^{e}	<lod	0,31 ± 0,001^{d}	0,51 ± 0,001^{e}	0,50 ± 0,002^{c}
GR + 5% F	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,27 ± 0,002^{b}	<lod	0,32 ± 0,007^{c}	0,57 ± 0,010^{c}	0,49 ± 0,001^{d}
GR + 1% F	<lod	<lod	<lod	<lod	<lod	0,23 ± 0,001^{d}	<lod	0,29 ± 0,001^{e}	0,49 ± 0,003^{f}	0,40 ± 0,004^{g}
GR + 5% T	0,30 ± 0,001^{a}	0,38 ± 0,001^{a}	0,09 ± 0,000^{ab}	0,25 ± 0,001^{a}	<lod	0,33 ± 0,001^{a}	<lod	0,40 ± 0,006^{a}	0,62 ± 0,001^{a}	0,62 ± 0,001^{a}
GR + 1% T	0,14 ± 0,001^{b}	0,21 ± 0,001^{b}	0,07 ± 0,001^{c}	0,22 ± 0,002^{b}	<lod	0,24 ± 0,004^{c}	<lod	0,29 ± 0,006^{f}	0,45 ± 0,004^{g}	0,57 ± 0,002^{b}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 33 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari u kori svježih jabuka sorte GS i GR (mg/100g FW) proizvedenih u dvije proizvodne sezone

		Granny Smith		*Gold Rush*	
Polifenoli		**2011**	**2012**	**2011**	**2012**
Procijanidin B2		4,25 ± 0,024^{c}	4,31 ± 0,081^{c}	5,68 ± 0,032^{b}	7,97 ± 0,062^{a}
Floridzin		0,50 ± 0,163^{c}	1,26 ± 0,016^{b}	1,28 ± 0,016^{a}	1,38 ± 0,081^{b}
(-) Epikatehin		8,86 ± 0,260^{c}	8,60 ± 0,165^{c}	9,60 ± 0,098^{b}	14,13 ± 0,227^{a}
Floridzin		0,37 ± 0,054^{d}	1,37 ± 0,022^{a}	1,31 ± 0,013^{b}	1,02 ± 0,217^{c}
Klorogenska kiselina		1,56 ± 0,193^{c}	10,24 ± 0,010^{b}	<lod	13,63 ± 0,044^{a}
Kava kiselina		1,24 ± 0,035^{a}	0,18 ± 0,001^{c}	<lod	0,18 ± 0,004^{b}
Kvercetin* glikozid	23,517	0,70 ± 0,038^{b}	<lod	2,51 ± 0,029^{a}	<lod
	24,280	0,89 ± 0,025^{c}	1,72 ± 0,034^{a}	0,82 ± 0,005^{d}	1,48 ± 0,050^{b}
	24,605	1,07 ± 0,034^{b}	0,91 ± 0,019^{c}	3,29 ± 0,035^{a}	<lod
	24,848	<lod**	2,34 ± 0,036^{b}	2,73 ± 0,018^{a}	1,76 ± 0,058^{c}
	25,605	<lod	1,44 ± 0,008^{b}	0,37 ± 0,003^{c}	2,52 ± 0,088^{a}
Rutin		3,96 ± 0,322^{d}	5,47 ± 0,089^{b}	4,78 ± 0,338^{c}	5,54 ± 0,020^{a}

Tablica 34 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari u dehidriranoj kori jabuka sorte GS i GR (mg/100 g FW) proizvedenih u dvije proizvodne sezone (2011. i 2012.) nakon skladištenja (180 dana)

		Granny Smith		*Gold Rush*	
Polifenoli		**2011**	**2012**	**2011**	**2012**
Procijanidin B2		4,22 ± 0,098^{c}	4,59 ± 0,048^{c}	5,93 ± 0,204^{b}	8,22 ± 0,275^{a}
Floridzin		0,46 ± 0,011^{d}	0,78 ± 0,044^{c}	1,23 ± 0,147^{b}	1,36 ± 0,115^{a}
(-)Epikatehin		8,28 ± 0,030^{c}	9,06 ± 0,054^{b}	9,58 ± 0,108^{b}	14,35 ± 0,149^{a}
Floridzin		0,62 ± 0,051^{c}	1,09 ± 0,022^{a}	0,89 ± 0,036^{b}	0,91 ± 0,086^{b}
Klorogenska kiselina		<lod**	<lod	<lod	4,11 ± 0,020^{a}
Kava kiselina		<lod	<lod	<lod	<lod
Kvercetin* glikozid	23,517	<lod	<lod	<lod	<lod
	24,280	0,82 ± 0,002^{d}	3,03 ± 0,018^{a}	1,72 ± 0,010^{c}	1,95 ± 0,004^{b}
	24,605	1,17 ± 0,063^{a}	1,16 ± 0,008^{a}	<lod	<lod
	24,848	0,77 ± 0,048^{d}	4,48 ± 0,028^{a}	1,84 ± 0,016^{c}	2,27 ± 0,006^{b}
	25,605	0,30 ± 0,004^{d}	2,66 ± 0,018^{b}	2,36 ± 0,022^{c}	3,37 ± 0,013^{a}
Rutin		3,61 ± 0,046^{b}	4,39 ± 0,1,88^{a}	3,36 ± 0,008^{c}	4,43 ± 0,143^{a}

*Retencijska vremena kvercetin glikozida.
**<lod: limit detekcije.
Vrijednosti u istom redu s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite ($P < 0,05$) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 35 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u procesiranim uzorcima jabuke *Granny Smith* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i 3% praha kore jabuka (3K). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Liofilizirani										
GS + 3K	0,53 ± 0,060^{f}	0,06 ± 0,005^{efi}	0,09± 0,004^{ab}	0,24 ± 0,047^{a}	<lod	0,05 ± 0,007^{a}	<lod	0,09 ± 0,009^{a}	0,05 ± 0,007^{a}	0,58 ± 0,073^{def}
GS + 5S + 3K	1,29 ± 0,072^{a}	0,12 ± 0,009^{c}	0,05 ± 0,002^{bceg}	0,15 ± 0,004^{bc}	<lod	0,03 ± 0,002^{b}	<lod	0,04 ± 0,001^{cdef}	0,03 ± 0,001^{b}	0,65 ± 0,009^{cde}
GS + 1S + 3K	0,71 ± 0,052^{d}	0,06 ± 0,008^{eg}	<lod	0,10 ± 0,008^{cdef}	<lod	0,03 ± 0,004^{b}	<lod	0,04 ± 0,004^{def}	0,03 ± 0,005^{b}	0,67 ± 0,065^{c}
GS + 5G + 3K	0,59 ± 0,012^{e}	0,10 ± 0,001^{d}	0,06 ± 0,001^{bce}	0,12 ± 0,004^{cde}	<lod	0,03 ± 0,000^{b}	<lod	0,07 ± 0,017^{ab}	0,03 ± 0,007^{b}	0,78 ± 0,060^{ab}
GS + 1G + 3K	0,45 ± 0,004^{fi}	0,06 ± 0,000^{efh}	<lod	0,08 ± 0,008^{cdef}	<lod	0,03 ± 0,005^{b}	<lod	0,05 ± 0,041^{abc}	0,03 ± 0,004^{b}	0,87 ± 0,086^{a}
GS + 5F + 3K	1,13 ± 0,037^{b}	0,15 ± 0,001^{b}	0,08 ± 0,007^{abc}	0,15 ± 0,005^{bc}	<lod	0,03 ± 0,002^{b}	<lod	0,08 ± 0,004^{a}	0,04 ± 0,008^{ab}	0,88 ± 0,035^{a}
GS + 1F + 3K	0,95 ± 0,075^{c}	0,10 ± 0,003^{d}	0,07 ± 0,004^{bcd}	0,14 ± 0,064^{bcd}	<lod	0,03 ± 0,001^{b}	<lod	0,05 ± 0,007^{bc}	0,03 ± 0,007^{b}	0,72 ± 0,041^{bc}
GS + 5T + 3K	1,32 ± 0,053^{a}	0,13 ± 0,005^{bc}	0,09 ± 0,005^{ab}	0,17 ± 0,006^{b}	<lod	0,03 ± 0,003^{b}	<lod	0,05 ± 0,008^{bcde}	0,03 ± 0,012^{b}	0,67 ± 0,039^{c}
GS + 1T + 3K	1,34 ± 0,000^{a}	0,20 ± 0,036^{a}	0,12± 0,007^{a}	0,31 ± 0,063^{a}	<lod	0,03 ± 0,006^{b}	<lod	0,05 ± 0,012^{bcd}	0,03 ± 0,004^{b}	0,66 ± 0,078^{ce}
Zamrznuti										
GS + 3K	<lod**	<lod	<lod	<lod	<lod	0,06 ± 0,007^{a}	0,21 ± 0,006^{a}	0,08 ± 0,008^{b}	0,06 ± 0,004^{b}	0,50 ± 0,007^{g}
GS + 5S + 3K	0,47 ± 0,004^{d}	0,09 ± 0,023^{bc}	0,16 ± 0,081^{ad}	0,29 ± 0,011^{ab}	<lod	0,06 ± 0,003^{a}	0,03 ± 0,002^{c}	0,12 ± 0,030^{a}	0,07 ± 0,037^{ab}	1,95 ± 0,073^{a}
GS + 1S + 3K	0,28 ± 0,007^{e}	0,07 ± 0,003^{bcd}	0,10 ± 0,005^{bd}	0,19 ± 0,003^{c}	<lod	0,05 ± 0,005^{ab}	<lod	0,07 ± 0,005^{bd}	0,06 ± 0,001^{b}	1,33 ± 0,001^{e}
GS + 5G + 3K	1,54 ± 0,051^{b}	0,10 ± 0,004^{b}	0,15 ± 0,044^{abd}	0,29 ± 0,043^{ab}	<lod	0,06 ± 0,006^{a}	0,03 ± 0,001^{c}	0,09 ± 0,008^{b}	0,07 ± 0,008^{ab}	1,37 ± 0,029^{e}
GS + 1G + 3K	1,13 ± 0,006^{c}	0,04 ± 0,004	0,16 ± 0,014^{a}	0,29 ± 0,001^{ab}	<lod	0,06 ± 0,005^{a}	0,07 ± 0,005^{b}	0,10 ± 0,026^{ab}	0,07 ± 0,032^{ab}	1,66 ± 0,049^{c}
GS + 5F + 3K	1,51 ± 0,032^{b}	0,04 ± 0,009^{d}	0,15 ± 0,006^{ad}	0,26 ± 0,031^{b}	<lod	0,05 ± 0,001^{ab}	<lod	0,07 ± 0,008^{bc}	0,06 ± 0,029^{b}	1,08 ± 0,041^{f}
GS + 1F + 3K	1,49 ± 0,052^{b}	0,03 ± 0,009^{d}	0,11 ± 0,003^{bd}	0,22 ± 0,022^{b}	<lod	0,04 ± 0,001^{ab}	<lod	0,05 ± 0,008^{bc}	0,06 ± 0,029^{b}	1,00 ± 0,047^{fh}
GS + 5T + 3K	1,79 ± 0,063^{a}	0,15 ± 0,046^{a}	0,16 ± 0,004^{a}	0,28 ± 0,010^{ab}	<lod	0,05 ± 0,015^{ab}	<lod	0,07 ± 0,023^{b}	0,06 ± 0,018^{b}	1,45 ± 0,005^{d}
GS + 1T + 3K	1,49 ± 0,004^{b}	0,06 ± 0,016^{cd}	0,16 ± 0,012^{a}	0,31 ± 0,035^{a}	<lod	0,06 ± 0,028^{a}	<lod	0,10 ± 0,015^{ab}	0,06 ± 0,008^{b}	1,84 ± 0,083^{b}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-i) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 36 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u procesiranim uzorcima jabuke *Granny Smith* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i 5% praha kore jabuka (5K). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Liofilizirani										
GS + 5K	0,47 ± 0,039^{fg}	0,07 ± 0,019^{c}	0,22 ± 0,045^{cd}	0,39 ± 0,013^{a}	<lod	0,07 ± 0,015^{a}	<lod	0,10 ± 0,027^{ab}	0,06 ± 0,028^{a}	0,41 ± 0,073^{e}
GS + 5S + 5K	0,94 ± 0,055^{bc}	0,08 ± 0,007^{bc}	0,20 ± 0,015^{efg}	0,24 ± 0,062^{def}	<lod	0,05 ± 0,005^{b}	<lod	0,06 ± 0,001^{ac}	0,03 ± 0,004^{cde}	1,13 ± 0,050^{d}
GS + 1S + 5K	0,72 ± 0,013^{de}	<lod	0,25 ± 0,002^{bc}	0,25 ± 0,007^{de}	<lod	0,04 ± 0,002^{c}	<lod	0,08 ± 0,009^{a}	0,04 ± 0,006^{c}	1,36 ± 0,033^{cd}
GS + 5G + 5K	0,64 ± 0,012^{e}	<lod	0,25 ± 0,002^{bc}	0,23 ± 0,000^{ef}	<lod	0,03 ± 0,001^{cd}	<lod	0,07 ± 0,005^{ab}	0,03 ± 0,007^{cd}	1,77 ± 0,003^{ab}
GS + 1G + 5K	0,44 ± 0,040^{f}	<lod	0,24 ± 0,001^{c}	0,20 ± 0,013^{f}	<lod	<lod	<lod	0,05 ± 0,003^{ad}	<lod	1,62 ± 0,008^{abc}
GS + 5F + 5K	0,96 ± 0,018^{bc}	0,07 ± 0,016^{ce}	0,21 ± 0,021^{def}	0,33 ± 0,007^{bc}	<lod	0,05 ± 0,006^{b}	<lod	0,12 ± 0,002^{a}	0,05 ± 0,004^{b}	1,76 ± 0,029^{ab}
GS + 1F + 5K	1,38 ± 0,068^{a}	0,17 ± 0,017^{a}	0,27 ± 0,002^{a}	0,34 ± 0,026^{b}	<lod	0,07 ± 0,005^{a}	<lod	0,04 ± 0,006^{ad}	0,03 ± 0,005^{cd}	1,93 ± 0,015^{a}
GS + 5T + 5K	1,05 ± 0,018^{b}	0,15 ± 0,005^{a}	0,27 ± 0,025^{a}	0,29 ± 0,023^{cd}	<lod	0,03 ± 0,002^{cd}	<lod	0,05 ± 0,002^{ac}	0,03 ± 0,002^{cde}	1,80 ± 0,040^{ab}
GS + 1T + 5K	0,84 ± 0,007^{cd}	0,10 ± 0,024^{b}	0,26 ± 0,006^{ab}	0,20 ± 0,044^{fg}	<lod	0,03 ± 0,006^{d}	<lod	0,05 ± 0,004^{ac}	0,03 ± 0,002^{d}	1,59 ± 0,039^{bc}
Zamrznuti										
GS + 5K	<lod**	<lod	<lod	<lod	<lod	0,92 ± 0,006^{a}	0,04± 0,001^{a}	0,34 ± 0,022^{d}	0,19 ± 0,005^{a}	0,57 ± 0,023^{f}
GS + 5S + 5K	0,61 ± 0,020^{de}	0,14 ± 0,017^{bde}	0,29 ± 0,097^{a}	0,46 ± 0,044^{bd}	<lod	0,22 ± 0,020^{e}	0,04 ± 0,002^{a}	0,26 ± 0,004^{f}	0,12 ± 0,041^{b}	1,54 ± 0,018^{c}
GS + 1S + 5K	0,59 ± 0,025^{e}	0,15 ± 0,032^{bd}	0,26 ± 0,016^{abc}	0,42 ± 0,047^{beg}	<lod	0,27 ± 0,005^{d}	0,03 ± 0,003^{e}	0,28 ± 0,005^{e}	0,07 ± 0,038^{c}	1,07 ± 0,079^{e}
GS + 5G + 5K	0,67 ± 0,049^{c}	0,16 ± 0,070^{b}	0,29 ± 0,068^{a}	0,46 ± 0,050^{b}	<lod	0,28 ± 0,008^{cd}	0,03 ± 0,002^{cd}	0,37 ± 0,016^{b}	0,08 ± 0,013^{bc}	1,56 ± 0,038^{c}
GS + 1G + 5K	0,59 ± 0,060^{e}	0,13 ± 0,038^{be}	0,28 ± 0,027^{a}	0,44 ± 0,074^{beg}	<lod	0,29 ± 0,001^{cd}	0,03 ± 0,000^{d}	0,35 ± 0,005^{c}	0,09 ± 0,017^{bc}	1,60 ± 0,042^{bc}
GS + 5F + 5K	0,66 ± 0,036^{cd}	0,17 ± 0,040^{b}	0,24 ± 0,082^{bc}	0,44 ± 0,034^{bde}	<lod	0,28 ± 0,014^{cd}	0,04 ± 0,013^{ab}	0,32 ± 0,016^{d}	0,09 ± 0,016^{bc}	1,36 ± 0,045^{d}
GS + 1F + 5K	0,71 ± 0,025^{c}	0,17 ± 0,007^{b}	0,30 ± 0,074^{a}	0,48 ± 0,065^{ab}	<lod	0,29 ± 0,009^{bc}	0,04 ± 0,003^{ab}	0,44 ± 0,025^{a}	0,19 ± 0,022^{a}	1,75 ± 0,046^{a}
GS + 5T + 5K	0,78 ± 0,045^{b}	0,11 ± 0,028^{be}	0,28 ± 0,090^{ab}	0,49 ± 0,028^{ab}	<lod	0,31 ± 0,014^{b}	0,03 ± 0,002^{bc}	0,35 ± 0,011^{c}	0,09 ± 0,007^{bc}	1,70 ± 0,048^{ab}
GS + 1T + 5K	0,96 ± 0,040^{a}	0,25 ± 0,051^{a}	0,27 ± 0,072^{abc}	0,53 ± 0,081^{a}	<lod	0,29 ± 0,004^{bc}	0,04 ± 0,011^{ab}	0,35 ± 0,021^{c}	0,10 ± 0,010^{bc}	1,61 ± 0,040^{bc}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 37 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u procesiranim uzorcima jabuke *Gold Rush* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i 3% praha kore jabuka (3K). PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R – rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Liofilizirani										
GR + 3K	1,21 ± 0,159^{abc}	0,22 ± 0,051^{ab}	0,17 ± 0,029^{d}	0,26 ± 0,048^{ab}	0,22 ± 0,033^{ef}	0,03 ± 0,006^{b}	<lod	0,03 ± 0,006^{b}	0,07 ± 0,026^{b}	0,26 ± 0,030^{f}
GR + 5S + 3K	1,21 ± 0,097^{ab}	0,18 ± 0,052^{abc}	0,29 ± 0,010^{bc}	0,17 ± 0,011^{c}	0,38 ± 0,035^{bc}	0,04 ± 0,009^{ab}	<lod	0,05 ± 0,005^{a}	0,08 ± 0,014^{a}	0,30 ± 0,004^{cde}
GR + 1S + 3K	1,06 ± 0,046^{bc}	0,26 ± 0,067^{a}	0,28 ± 0,007^{bc}	0,16 ± 0,004^{cd}	0,42 ± 0,045^{ab}	0,04 ± 0,004^{ab}	<lod	0,04 ± 0,019^{ab}	0,08 ± 0,040^{abc}	0,86 ± 0,033^{a}
GR + 5G + 3K	1,20 ± 0,029^{abc}	0,23 ± 0,066^{ab}	0,31 ± 0,043^{ab}	0,25 ± 0,033^{ab}	0,47 ± 0,046^{a}	0,03 ± 0,005^{b}	<lod	0,03 ± 0,005^{b}	0,06 ± 0,014^{bc}	0,43 ± 0,074^{bcd}
GR + 1G + 3K	1,01 ± 0,102^{c}	0,13 ± 0,006^{bc}	0,24 ± 0,005^{c}	0,14 ± 0,035^{cd}	0,29 ± 0,000^{de}	0,03 ± 0,004^{b}	<lod	<lod	0,04 ± 0,001^{c}	0,29 ± 0,057^{cef}
GR + 5F + 3K	1,13 ± 0,145^{abc}	0,14 ± 0,044^{bc}	0,16 ± 0,034^{d}	0,17 ± 0,006^{c}	0,21 ± 0,073^{f}	<lod	<lod	0,03 ± 0,006^{b}	0,06 ± 0,063^{bc}	0,34 ± 0,041^{cd}
GR + 1F + 3K	1,21 ± 0,218^{ab}	0,17 ± 0,074^{abc}	0,27 ± 0,059^{bc}	0,18 ± 0,009^{c}	0,33 ± 0,030^{cd}	0,04 ± 0,010^{ab}	<lod	0,04 ± 0,001^{ab}	0,07 ± 0,019^{b}	0,73 ± 0,080^{a}
GR + 5T + 3K	1,21 ± 0,038^{ab}	0,19 ± 0,079^{abc}	0,27 ± 0,005^{bc}	0,24 ± 0,021^{b}	0,34 ± 0,024^{cd}	0,03 ± 0,006^{b}	<lod	0,03 ± 0,003^{b}	0,06 ± 0,003^{bc}	0,63 ± 0,062^{ab}
GR + 1T + 3K	1,32 ± 0,051^{a}	0,25 ± 0,034^{a}	0,35 ± 0,037^{a}	0,32 ± 0,052^{a}	0,42 ± 0,047^{ab}	0,03 ± 0,003^{b}	<lod	0,04 ± 0,009^{ab}	0,07 ± 0,018^{b}	0,70 ± 0,082^{a}
Zamrznuti										
GR + 3% K	0,24 ± 0,007^{f}	0,07 ± 0,001^{cd}	0,18 ± 0,001^{def}	<lod**	<lod	0,05 ± 0,000^{a}	<lod	<lod	0,08 ± 0,002^{a}	0,49 ± 0,001^{f}
GR + 5S + 3K	0,42 ± 0,016^{abc}	0,16 ± 0,000^{ab}	0,20 ± 0,091^{cd}	0,21 ± 0,084^{acd}	0,48 ± 0,057^{bcd}	0,03 ± 0,001^{d}	<lod	0,05 ± 0,030^{ab}	0,06 ± 0,018a^{bd}	0,93 ± 0,005^{a}
GR + 1S + 3K	0,44 ± 0,038^{ab}	0,12 ± 0,028^{bc}	0,29 ± 0,064^{ab}	0,25 ± 0,071^{a}	0,55 ± 0,011^{ab}	0,04 ± 0,004^{ab}	<lod	0,05 ± 0,014^{ab}	0,08 ± 0,019^{a}	0,64 ± 0,006^{c}
GR + 5G + 3K	0,40 ± 0,079^{abc}	0,05 ± 0,044^{df}	0,22 ± 0,083^{bc}	0,23 ± 0,056^{ac}	0,46 ± 0,037^{cd}	0,04 ± 0,002^{ab}	<lod	0,06 ± 0,054^{a}	0,07 ± 0,036^{abc}	0,82 ± 0,071^{b}
GR + 1G + 3K	0,34 ± 0,015^{cef}	0,07 ± 0,034^{cd}	0,18 ± 0,006^{cd}	0,19 ± 0,021^{cde}	0,41 ± 0,020^{d}	0,03 ± 0,004^{d}	<lod	0,03 ± 0,014^{c}	0,04 ± 0,006^{de}	0,51 ± 0,009^{df}
GR + 5F + 3K	0,38 ± 0,004^{abc}	0,10 ± 0,061^{cd}	0,22 ± 0,005^{bc}	0,25 ± 0,040^{a}	0,49 ± 0,094^{bc}	0,04 ± 0,009^{bc}	<lod	0,05 ± 0,021^{ab}	0,06 ± 0,008^{abc}	0,80 ± 0,040^{b}
GR + 1F + 3K	0,35 ± 0,004^{bc}	0,17 ± 0,009^{ab}	0,18 ± 0,010^{cde}	0,22 ± 0,038^{acd}	0,43 ± 0,036^{cd}	0,03 ± 0,001^{d}	<lod	0,04 ± 0,013^{bc}	0,05 ± 0,005^{de}	0,58 ± 0,103^{cd}
GR + 5T + 3K	0,45 ± 0,089^{a}	0,20 ± 0,058^{a}	0,13 ± 0,027^{de}	0,19 ± 0,067^{cde}	0,61 ± 0,041^{a}	0,04 ± 0,001^{bc}	<lod	0,05 ± 0,004^{ab}	0,07 ± 0,007^{ab}	0,83 ± 0,017^{b}
GR + 1T + 3K	0,38 ± 0,090^{abc}	0,07 ± 0,008^{cd}	0,32 ± 0,020^{a}	0,25 ± 0,022^{a}	0,41 ± 0,011^{cd}	0,03 ± 0,004^{cd}	<lod	0,05 ± 0,001^{ab}	0,06 ± 0,008^{bcd}	0,81 ± 0,031^{b}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-f) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD.

Tablica 38 Udio pojedinačnih polifenolnih tvari (mg/100 g) u procesiranim uzorcima jabuke *Gold Rush* (2012. god.) s dodatkom šećera, saharoze – S; glukoze – G; fruktoze – F; trehaloze - T (1 i 5%) i 5% praha kore jabuka. PCB2 - procijanidin B2; E - (-) epikatehin; P – floretin; PH - floridzin; CA – klorogenska kiselina; 24,181, 24,440, 24,997, 25,213 – retencijska vremena QG - kvercetin glukozida; R - rutin

Uzorci	PCB2	E	P	PH	CA	QG 24,181	QG 24,440	QG 24,997	QG 25,213	R
Liofilizirani										
GR + 5K	0,46 ± 0,073^{g}	0,07 ± 0,004^{e}	0,24 ± 0,011^{cd}	0,29 ± 0,027^{ab}	0,33 ± 0,094^{cd}	0,09 ± 0,040^{a}	<lod	0,06 ± 0,006^{b}	0,11 ± 0,026^{a}	0,41 ± 0,028^{ef}
GR + 5S + 5K	1,30 ± 0,058^{ef}	0,22 ± 0,049^{c}	0,33 ± 0,035^{ab}	0,18 ± 0,043^{d}	0,39 ± 0,060^{bc}	0,04 ± 0,008^{bc}	<lod	0,05 ± 0,015^{bc}	0,09 ± 0,001^{ab}	1,08 ± 0,076^{b}
GR + 1S + 5K	1,55 ± 0,090^{c}	0,20 ± 0,068^{cd}	0,34 ± 0,075^{ab}	0,19 ± 0,032^{cd}	0,39 ± 0,061^{bc}	0,04 ± 0,003^{bc}	<lod	0,05 ± 0,004^{c}	0,08 ± 0,053^{abc}	1,08 ± 0,041^{b}
GR + 5G + 5K	1,23 ± 0,020^{f}	0,14 ± 0,083^{de}	0,21 ± 0,018^{d}	0,23 ± 0,039^{bcd}	0,44 ± 0,064^{ab}	<lod**	<lod	<lod	0,04 ± 0,018^{c}	0,34 ± 0,063^{f}
GR + 1G + 5K	1,38 ± 0,028^{de}	0,23 ± 0,049^{c}	0,25 ± 0,072^{bcd}	0,16 ± 0,010^{d}	0,25 ± 0,018^{d}	0,03 ± 0,013^{c}	<lod	0,03 ± 0,004^{de}	0,06 ± 0,019^{bc}	0,46 ± 0,073^{e}
GR + 5F + 5K	1,34 ± 0,027^{e}	0,18 ± 0,053^{cd}	0,29 ± 0,036^{bcd}	0,22 ± 0,080^{cd}	0,25 ± 0,026^{d}	<lod	<lod	0,03 ± 0,007^{de}	0,05 ± 0,011^{bc}	0,38 ± 0,049^{ef}
GR + 1F + 5K	2,02 ± 0,033^{b}	0,38 ± 0,022^{b}	0,30 ± 0,056^{bc}	0,30 ± 0,043^{a}	0,49 ± 0,086^{a}	0,05 ± 0,005^{b}	<lod	0,07 ± 0,003^{a}	0,08 ± 0,017^{abc}	0,89 ± 0,043^{c}
GR + 5T + 5K	1,48 ± 0,129^{cd}	0,15 ± 0,021^{cde}	0,26 ± 0,052^{bcd}	0,26 ± 0,029^{abc}	0,38 ± 0,070^{bc}	0,03 ± 0,006^{bc}	<lod	0,03 ± 0,008^{d}	0,06 ± 0,020^{bc}	0,63 ± 0,047^{d}
GR + 1T + 5K	2,56 ± 0,058^{a}	0,47 ± 0,006^{a}	0,35 ± 0,069^{a}	0,21 ± 0,026^{cd}	0,43 ± 0,017^{ab}	0,04 ± 0,007^{bc}	<lod	0,05 ± 0,003^{bc}	0,08 ± 0,001^{abc}	1,52 ± 0,047^{a}
Zamrznuti										
GR + 5K	0,96 ± 0,014^{d}	0,54 ± 0,011^{a}	0,15 ± 0,006^{e}	0,22 ± 0,004^{de}	0,27 ± 0,002^{de}	0,64 ± 0,006^{c}	<lod	0,55 ± 0,007^{cde}	0,50 ± 0,005^{f}	0,60 ± 0,205^{f}
GR + 5S + 5K	1,64 ± 0,058^{a}	0,43 ± 0,026^{b}	0,38 ± 0,038^{a}	0,35 ± 0,022^{a}	0,21 ± 0,077^{de}	0,66 ± 0,006^{b}	<lod	0,67 ± 0,034^{b}	0,50 ± 0,004^{b}	1,08 ± 0,040^{a}
GR + 1S + 5K	1,53 ± 0,076^{a}	0,35 ± 0,029^{ce}	0,29 ± 0,082^{bc}	0,28 ± 0,003^{ab}	0,66 ± 0,023^{ab}	0,64 ± 0,001^{c}	<lod	0,65 ± 0,020^{b}	0,59 ± 0,023^{bcd}	0,79 ± 0,052^{c}
GR + 5G + 5K	1,24 ± 0,043^{bc}	0,47 ± 0,033^{b}	0,30 ± 0,074^{ab}	0,25 ± 0,027^{bc}	0,67 ± 0,029^{ab}	0,65 ± 0,008^{c}	<lod	0,65 ± 0,016^{b}	0,59 ± 0,009^{bc}	0,91 ± 0,043^{b}
GR + 1G + 5K	0,44 ± 0,132^{e}	0,35 ± 0,019^{ce}	0,25 ± 0,012^{bcd}	0,19 ± 0,06^{ce}	0,65 ± 0,035^{ab}	0,63 ± 0,010^{cde}	<lod	0,63 ± 0,008^{bde}	0,56 ± 0,011^{e}	0,68 ± 0,044^{ef}
GR + 5F + 5K	0,39 ± 0,088^{e}	0,58 ± 0,016^{a}	0,21 ± 0,042^{cde}	0,18 ± 0,042^{ce}	0,61 ± 0,022^{b}	0,64 ± 0,006^{ce}	<lod	0,64 ± 0,008^{b}	0,58 ± 0,003b^{cd}	0,77 ± 0,048^{cd}
GR + 1F + 5K	1,31 ± 0,041^{b}	0,26 ± 0,052^{de}	0,24 ± 0,008^{bcd}	0,19 ± 0,081^{c}	0,70 ± 0,033^{a}	0,64 ± 0,009^{c}	<lod	0,64 ± 0,024^{b}	0,57 ± 0,012^{cde}	0,75 ± 0,062^{cde}
GR + 5T + 5K	1,13 ± 0,046^{c}	0,58 ± 0,047^{a}	0,30 ± 0,053^{ab}	0,27 ± 0,026^{b}	0,71 ± 0,094^{a}	0,75 ± 0,012^{a}	<lod	0,75 ± 0,025^{a}	0,69 ± 0,023^{a}	0,94 ± 0,020^{b}
GR + 1T + 5K	0,37 ± 0,002^{e}	0,46 ± 0,024^{b}	0,19 ± 0,060^{de}	0,22 ± 0,065^{bc}	0,46 ± 0,071^{ce}	0,63 ± 0,005^{cde}	<lod	0,63 ± 0,016^{be}	0,57 ± 0,009^{de}	0,69 ± 0,055^{def}

**<lod: limit detekcije.

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-g) su statistički značajno različite (P < 0,05) ANOVA, Fisher's LSD

Tablica 39 Korelacija između polifenolnih spojeva, antioksidacijske aktivnosti i pH vrijednosti

	TPC	ABTS	DPPH	pH	Flavanoli	Dihidrohalkoni	Flavonoli
Zamrznuti							
TPC	1,000	**0,826**	**0,791**	**-0,807**	**0,550**	**0,726**	**0,554**
ABTS	**0,826**	1,000	**0,475**	0,022	**0,573**	**0,643**	**0,609**
DPPH	**0,791**	**0,475**	1,000	-0,132	**0,525**	**0,689**	**0,479**
pH	**-0,807**	0,022	-0,132	1,000	0,088	-0,025	-0,074
Flavanoli	**0,500**	**0,573**	**0,525**	0,088	1,000	**0,650**	0,496
Dihidrohalkoni	**0,726**	**0,643**	**0,689**	-0,025	**0,650**	1,000	**0,429**
Flavonoli	**0,554**	**0,609**	**0,479**	-0,074	**0,469**	**0,429**	1,000
Liofilizirani							
TPC	1,000	**0,802**	**0,761**	**-0,681**	**0,550**	**0,484**	**0,373**
ABTS	**0,802**	1,000	**0,492**	-0,223	**0,565**	**0,529**	**0,573**
DPPH	**0,761**	**0,492**	1,000	-0,208	0,161	0,184	**0,302**
pH	**-0,681**	-0,223	-0,208	1,000	0,130	0,076	**-0,322**
Flavanoli	**0,550**	**0,565**	0,161	0,130	1,000	**0,612**	0,224
Dihidrohalkoni	**0,484**	**0,529**	0,184	0,076	**0,612**	1,000	**0,519**
Flavonoli	**0,373**	**0,573**	**0,302**	**-0,322**	0,224	**0,519**	1,000

Podebljane vrijednosti označavaju značajnu korelaciju za $P \leq 0,050$

5. RASPRAVA

Cilj svake prehrambene prerađivačke industrije je proizvesti što kvalitetnije proizvode odnosno poluproizvode. Međutim, prerađivačka industrija ne može uvijek iskoristiti svu polaznu sirovinu, a što ovisi o vrsti (grupi) proizvoda, kvaliteti sirovine, načinu i metodi prerade i mnogim drugim čimbenicima. Nakon prerade sirovine u različite proizvode može zaostati, više ili manje, tzv. ''otpada'', a koji se u nekim slučajevima može i kvalitetno iskoristiti preradom u cijeli niz vrijednih proizvoda, koji se mogu upotrebljavati kao takvi ili kao dodaci cijelom nizu različitih proizvoda. Taj tzv. ''otpad'' može se ekonomski iskoristiti na različite načine jer može sadržavati i veći udio (količinu) visokovrijednih sastojaka nego sam finalni proizvod dobiven od polazne sirovine.

Predmet istraživanja u ovom radu je upravo bio ispitati mogućnost iskorištenja otpada u preradi jabuke, točnije kore jabuke, koja je u preradi jabuka (npr. u sokove) otpad nakon prešanja odnosno pasiranja.

Kako se kora može smatrati i poluproizvodom, ako se namjerava i dalje iskorištavati u svrhu dobivanja različitih visokovrijednih sastojaka ili kao dodatak (u određenom stabilnom obliku) različitim proizvodima, bilo na bazi voća ili drugih sirovina, nastojalo se je ispitati utjecaj različitih dodataka na kvalitetu poluprerađevina, odnosno prerađevina (proizvoda) od voća.

U ovom radu ispitivan je utjecaj monosaharida (glukoze i fruktoze) i disaharida (saharoze i trehaloze) na stabilnost i očuvanje polifenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka pripremljenih zamrzavanjem i liofilizacijom (vidi Zadatak rada, str. 70). Osim dodatkom različitih vrsta i količina (%) šećera, u kaše od jabuka se je dodavala liofilizirana kora jabuka, bogata polifenolima.

Za razumijevanje utjecaja različitih šećera na svojstva kaša od jabuka potrebno je uzeti u obzir da se radi o realnom sustavu. Jabuka se odlikuje kompleksnim, višekomponentnim matriksom u kojem su vrlo značajne interakcije između sastojaka, te utjecaj primjene različitih procesa na te interakcije, jer su one te koje u krajnjem slučaju dovode do poboljšanja ili pak smanjenja kvalitete finalnog proizvoda. Nije nužno da u višekomponentnom, kompleksnom matriksu hrane dolazi do istog utjecaja nekih komponenata na određena svojstva kao u modelnim, jednostavnijim sustavima, odnosno ne

znači da će se pojedine komponente jednako ponašati u realnom kompleksnom matriksu kao u modelnim sustavima.

Analiza sirovine

Fizikalno kemijski sastav voća ne ovisi samo o vrsti i sorti voća već na njega značajno utječe geografski položaj (uzgoja), podloga i praksa za uzgoj odnosno agrotehničke mjere, vremenske (klimatske) prilike i stupanj zrelosti prije branja, dok nakon branja ovisi znakovito o uvjetima skladištenja (FAO, 2014). Kako bi eliminirali što veći broj utjecaja, sirovina je kroz dvije godine (2011. i 2012.) nabavljena s istog mjesta uzgoja, uzgojena na istoj podlozi za uzgoj, primijenjene su iste prakse tijekom uzgoja, te je ubrana u istom stupnju zrelosti i skladištena u jednakim uvjetima.

Rezultati određivanja kemijskog sastava sirovina kroz dvije proizvodne godine mogu se vidjeti u Tablici 15. Provedene analize pokazale su da se ispitivane sorte jabuka međusobno značajno razlikuju po većini parametara kvalitete. Prosječna masa ploda jabuka sorte *Granny Smith* (GS) je u obje proizvodne godine bila veća od mase ploda jabuka sorte *GoldRush* (GR); 2011. godine 206,83, 192,74 g; 2012. godine 168,51, 107,95 g. Jabuka sorte *Granny Smith* je u obje proizvodne godine imala manju topljivu suhu tvar, manji sadržaj L - askorbinske kiseline, nižu pH vrijednost i veći sadržaj ukupnih i reducirajućih šećera (Tablica 15). Dosadašnja istraživanja su potvrdila da najznačajniji utjecaj na sadržaj polifenola u jabukama ima sorta jabuka dok ostali čimbenici kao što su vremenski uvjeti, podloga za uzgoj i praksa tijekom uzgoja imaju utjecaja ali ne u značajnijoj mjeri (McGhie i sur., 2005.; Treutter, 2010.; Mainla i sur., 2011., Alfaro i sur., 2013.). Rezultati analiza su također pokazali da jabuka sorte *Granny Smith* sadrži manji udio ukupnih polifenolnih tvari od jabuka sorte *Gold Rush*. Statistička obrada podataka, obje sorte, je pokazala da se razlika između ukupnih polifenola kore, cijele jabuka (kora + pulpa) i pulpe značajno razlikuje ($P < 0,05$).

Utjecaj proizvodne sezone (godine) na kvalitetu sirovine

Iz rezultata (Slika 22) se može vidjeti da su vremenski uvjeti kroz dvije proizvodne godine različito utjecali na neke parametre kvalitete jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush*. U 2012. godini, temperatura je bila viša u prosjeku za 0,5 °C, insolacija je bila veća za 128,2 h, a također je palo i više oborina, 204,8 L/m^2 (Slika 22). Sve navedeno je ponajviše utjecalo na masu plodova. U 2012. godini prosječna masa plodova je bila značajno manja nego u 2011. godini (*Granny Smith* 206,83 g, 168,51 g; *Gold Rush* 192,74 g, 107,95 g). Također, u 2012. godini u obje sorte je izmjerena veća topljiva suha tvar, veća količina kiselina, reducirajućih i ukupnih šećera (Tablica 15). Nadalje, u 2012. godini je izmjeren veći sadržaj polifenolnih tvari i antioksidacijska aktivnost. Ukupan sadržaj polifenolnih spojeva ispitivanog voća, koji je određen primjenom spektrofotometrijske Folin-Ciocalteu metode, i antioksidacijska aktivnost pomoću dvije metode prikazana je u Tablici 15. Veći sadržaj ukupnih polifenolnih tvari posljedica je duljeg vremena insolacije u 2012. godini što je povoljno utjecalo na sintezu polifenolnih spojeva posebice kvercetin glikozida. Sadržaj ukupnih polifenolnih spojeva dobivene u ispitivanim uzorcima voća u skladu su s podacima drugih istraživača (Podsedek i sur., 2000.; Imeh i Khokhar, 2002.; Lee i sur., 2003.; Vrhovsek i sur., 2004.; Wojdylo i sur., 2008.; Neveu i sur., 2010.).

Utjecaj skladištenja na udio polifenola i antioksidativnu aktivnost jabuka

Kroz dosadašnja istraživanja se je utvrdilo da skladištenje jabuka značajno ne utječe na sadržaj polifenola (Burda i sur., 1998.; van Sluis i sur., 2001.; Golding i sur., 2001. Lattanzio i sur., 2001.; Awad i de Jager, 2003.; Napolitano i sur., 2004.). U Tablicama 16-18 prikazani su rezultati ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti (AOA) svježih i procesiranih jabuka skladištenih 180 dana. U navedenim tablicama se može vidjeti da skladištenje ima mali utjecaj na udio ukupnih polifenola, međutim također se može zamijetiti trend smanjenja ukupnih polifenola koji je najizraženiji u kori jabuka. Mjerenjem antioksidacijske aktivnosti, jabuka skladištenih 180 dana, pomoću dvije metode (ABTS i DPPH) možemo primijetiti da tijekom skladištenja dolazi do porasta AOA. Mjerenjem AOA pomoću ABTS metode taj porast je zabilježen nakon prvih 30 dana skladištenja, dok je mjerenjem AOA pomoću DPPH metode taj porast zabilježen nakon 180 dana. Porast antioksidativne aktivnosti nakon skladištenja može se objasniti nastajanjem produkata degradacije polifenola (Tsai i Huang, 2004.) i

produkta Maillard-ovih reakcija (Lingnert i Waller, 1983.; Nicoli i sur., 1997.; Manzocco i sur., 2001.) s obzirom da je dokazano da ti produkti pokazuju antioksidacijsku aktivnost. Antioksidacijskoj aktivnosti doprinose i produkti Maillard-ovih reakcija, a ne samo fenolne komponente, jer oni sudjeluju u vezanju (zarobljavanju) radikala (Siddhuraju i Becker, 2007.).

Utjecaj procesiranja na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša jabuka

Tijekom pripreme sirovine za procesiranje najčešće dolazi do narušavanja stanične stjenke uslijed dezintegracije plodova što za posljedicu ima miješnje enzima i supstrata i u konačnici oksidaciju polifenolnih spojeva, askorbinske kiseline i drugih tvari kaše jabuka. Istraživanja su pokazala da preradom jabuka u proizvode kao što su kaše, pirei, umaci, mutni i bistri sokovi dolazi do gubitka polifenolnih spojeva (Spanos i sur., 1992.; Tsao i McCallum, 2010.; Mahdavi i sur., 2010.). Markowski i Plocharski (2006.) su u svom istraživanju utvrdili da taj gubitak može iznositi od 3% u proizvodnji umaka do 81% u proizvodnji bistrog soka od jabuka.

Kao što se može vidjeti u Tablici 16 procesiranjem dolazi do većeg ili manjeg gubitka polifenolnih spojeva. Prosječni gubitak ukupnih polifenolnih spojeva prilikom zamrzavanja jabuke sorte *Granny Smith* u kori iznosio je 30,36%, u kori i pulpi 64,94% i u pulpi 65,85%. Prosječni gubitak ukupnih polifenolnih spojeva tijekom zamrzavanja jabuke sorte *Gold Rush* u kori iznosio je 32,01%, u kori i pulpi 43,92% i u pulpi 46,25%. Tijekom liofilizacije navedeni gubitak za jabuku sorte *Granny Smith* u kori iznosio je 16,50%, u kori i pulpi 52,95% i u pulpi 68,15%, dok je isti taj gubitak za jabuku sorte *Gold Rush* iznosio 6,36%, 45,33% i 60,27%. Relativno veliki gubitak polifenolnih spojeva tijekom liofilizacije je posljedica sporog zamrzavanja prije samog procesa sušenja (sublimacijom). Također se iz rezultata može zamijetiti da je gubitak polifenolnih spojeva u kori znatno manji nego u cijeloj jabuci (kora i pulpa) odnosno samo u pulpi jabuke. Razlog tome može biti distribucija pojedinačnih polifenolnih spojeva, budući da se u pulpi jabuke nalazi znatno veći udio fenolnih kiselina za razliku od kore u kojoj se nalazi veći udio flavonola (Treutter, 2001.). Oksidacija polifenolnih spojeva ovisi o udjelu i prirodi polifenolnih spojeva prisutnih u tkivu. Istraživanja su pokazala da se afinitet polifenoloksidaze prema polifenolnim spojevima razlikuje, najveći afinitet ima prema fenolnim kiselinama i flavanolima dok je manji prema flavonolima (Robards, 1999.; Rocha i Morais, 2001.).

U Tablicama 17 i 18 su prikazani rezultati AOA svježih i procesiranih jabuka skladištenih 180 dana. AOA mjerena ABTS i DPPH metodom je u pozitivnoj korelaciji s ukupnim polifenolnim spojevima.

Utjecaj dodataka šećera na udio polifenola u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

Mnogi autori su do sada istraživali utjecaje šećera na kvalitetu proizvoda od voća, međutim neka istraživanja su pokazala kontradiktorne rezultate. Dosadašnja istraživanja utjecaj šećera su bila usmjerena isključivo na očuvanje polifenolnih spojeva odgovornih za boju voća, kao i na aromatske tvari voća (Lovrić i Piližota, 1980.; Piližota i sur., 1983.; Dyrby i sur., 2001.; Malien-Aubert i sur., 2001.; Hubbermann i sur., 2006.; Kopjar i sur., 2008.; Kopjar i sur., 2009.; Scibisz i Mitek, 2009.).

U ovom radu istraživan je utjecaj monosaharida (glukoze i fruktoze) i disaharida (saharoze i trehaloze) u udjelima od 1 i 5% na očuvanje glavnih polifenolnih spojeva u procesiranim (zamrznutim i liofiliziranim) uzorcima kaša jabuka.

Zamrznute kaše jabuka

U zamrznutim uzorcima kaše jabuke, sorte *Granny Smith,* u obje proizvodne godine (2011. i 2012.)najznačajniji utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva imao je dodatak trehaloze (5%). Prosječno očuvanje polifenolnih spojeva dodatkom 5% trehaloze iznosilo je 30,54%. Utjecaj dodatka šećera u uzorcima kaše jabuke sorte *Gold Rush* se razlikuje između proizvodnih godina. Najveće očuvanje polifenolnih spojeva u uzorcima zamrznute kaše jabuka, proizvedenih 2011. godine, je postignuto dodatkom 5% trehaloze i iznosilo je 27,22%, dok je najveće očuvanje polifenola, 18,75% bilo u uzorcima zamrznute kaše jabuka, proizvedene 2012., s dodatkom 1% trehaloze.

Uzimajući u obzir, ukupno utjecaj šećera na obje sorte jabuka može se zaključiti da je u zamrznutim uzorcima kaša dodatak šećera s vremenom skladištenja imao veći utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva.

Liofilizirane kaše jabuka

Liofilizacijom uzoraka kaša jabuke došlo je do manjeg gubitka polifenolnih spojeva u odnosu na zamrznute kaše, dok je dodatak šećera utjecao na očuvanje polifenolnih spojeva

tijekom procesiranja. U liofiliziranim uzorcima kaše jabuke, sorte *Granny Smith,* u obje proizvodne godine najznačajniji utjecaja na očuvanje polifenolnih spojeva imao je dodatak fruktoze (1%). Prosječno očuvanje polifenolnih spojeva dodatkom 1% fruktoze iznosilo je 29,44%. Kao i kod kaše sorte *Granny Smith,* liofilizacijom uzoraka kaše sorte *Gold Rush* došlo je do manjeg gubitka polifenolnih spojeva, međutim u oba slučaja je dodatak šećera utjecao na očuvanje polifenolnih spojeva. U jabukama proizvedenim u 2011. godini najveće očuvanje polifenolnih spojeva u uzorcima kaše jabuka postignuto je dodatkom 5% saharoze i iznosio je 25,88%, dok je u kašama jabuka ubranih u 2012. godini najznačajni utjecaj imao dodatak 1% trehaloze, a očuvanje polifenolnih spojeva iznosilo je 25,37%.

U liofiliziranim uzorcima kaša jabuka najveće očuvanje zabilježeno nakon 30 dana skladištenja nakon čega je došlo do smanjenja očuvanja polifenolnih spojeva. Veće (7,8%) zadržavanje polifenolnih spojeva u zamrznutim uzorcima u odnosu na liofilizirane uzorke vjerojatno je posljedica načina pripreme uzoraka odnosno različitih interakcija između sastavnih i dodanih komponenata uzrokovanih različitim načinom pripreme uzoraka.

Utjecaj dodataka šećera i praha kore jabuke na udio polifenola u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

U ovome radu se također osim utjecaja šećera istraživao i utjecaj dodatka 3 i 5% praha (liofilizirane) kore jabuka na polifenolne spojeve i antioksidacijsku aktivnost u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima kaša jabuka. Rezultati istraživanja prikazani su na Slikama 23 - 30 i u Tablicama 19 - 26.

Dodatkom praha kore jabuka u zamrznute i liofilizirane kaše jabuka došlo je do povećanja udjela ukupnih polifenolnih spojeva u usporedbi s kašama jabuka koje su zamrznute (0,40 (GS), 0,61 (GR) g GAE/kg) i liofilizirane (0,45 (GS); 0,64 (GR) g GAE/kg) bez dodatka praha kore jabuka, što je bilo i za očekivati. Povećanje je u prosjeku iznosilo 223% dodatkom 5% praha kore jabuka (zamrznuti uzorci kaša jabuka 1,06 (GS), 1,08 (GR) g GAE/kg; liofilizirani uzorci kaša jabuka 1,11 (GS), 1,30 (GR) g GAE/kg), odnosno 179% dodatkom 3% praha kore jabuka (zamrznuti uzorci kaša jabuka 0,84 (GS), 0,90 (GR) g GAE/kg; liofilizirani uzorci kaša jabuka 0,91 (GS), 1,02 (GR) g GAE/kg). Dodatkom šećera i praha kore jabuka došlo je do još većeg povećanja ukupnih polifenolnih spojeva, što je isto bilo za očekivati.

Zamrznute kaše jabuka

U zamrznutim uzorcima kaše jabuke, sorte *Granny Smith* s dodatkom šećera i praha kore jabuka najznačajniji utjecaj na povećanje polifenolnih spojeva imao je dodatak saharoze (5%). Prosječno povećanje polifenolnih spojeva dodatkom 5% saharoze i 5% praha kore jabuka iznosio je 365,65%, odnosno 318,93% dodatkom 3% praha kore jabuka. Dodatak šećera i praha kore jabuka u zamrznute uzorke kaša jabuka sorte *Gold Rush* također je imao značajan utjecaj na povećanje polifenolnih spojeva. Do najvećeg povećanja sadržaja polifenolnih spojeva u zamrznutim kašama jabuka sorte *Gold Rush* došlo je dodatkom trehaloze (1%) i praha kore jabuka (5%), i to 230,67%, odnosno 209,22% dodatkom 3% praha kore jabuka (Slika 24 i 28).

Iz rezultat se također može vidjeti da dodatkom šećera i praha kore jabuka tijekom skladištenja zamrznutih uzoraka udio ukupnih polifenolnih spojeva ostaje relativno jednak (Slika 24 i 28).

Liofilizirane kaše jabuka

U uzorcima liofiliziranih kaša jabuke, sorte *Granny Smith* s dodatkom šećera i praha kore jabuka najznačajniji utjecaj na povećanje polifenolnih spojeva imao je dodatak trehaloze (1%). Prosječno povećanje sadržaja polifenola dodatkom 1% trehaloze i 5% praha kore jabuka iznosilo je 295,19%, odnosno 263,82% dodatkom 3% praha kore jabuka. Dodatak šećera i praha kore jabuka u liofilizirane uzorke kaša jabuka sorte *Gold Rush* također je imao značajan utjecaj na povećanje polifenolnih spojeva. U liofiliziranim uzorcima također je dodatak trehaloze (1%) imao najveći utjecaj na povećanje sadržaja ukupnih polifenolnih spojeva. Povećanje sadržaja ukupnih polifenolnih spojeva dodatkom 1% trehaloze i 5% praha kore jabuka iznosio je 269,81%, odnosno 251,38% dodatkom 3% praha kore jabuka (Slika 26 i 30).

U liofiliziranim kašama jabuka s dodatkom šećera i praha kore jabuka došlo je do smanjenja udjela polifenola nakon 30 dana skladištenja (Slika 26 i 30).

Utjecaj dodataka šećera na pojedinačne polifenole u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

Rezultati ranijih istraživanja potvrdili su flavanole, flavonole, dihidrohalkone i hidroksicimetne kiseline (kava i klorogenska kiselina) kao najvažnije polifenolne skupine zastupljene u jabukama (Ceymann i sur., 2012.; Mendoza-Wilsona i sur., 2013.). Iz navedenih skupina u ovom radu su određivani procijanidin B2, (-)-epikatehin, floretin, floridzin, klorogenska kiselina, kava kiselina, kvercetin glikozidi i rutin.

U Tablicama 29-38 prikazani su rezultati određivanja pojedinačnih polifenolnih spojeva u uzorcima kaša jabuka bez dodataka, s dodatkom šećera i u uzorcima s dodatkom šećera i praha kore jabuka. Provedenom linearnom regresijom između sadržaja ukupnih polifenola i zbroja pojedinačnih polifenolnih spojeva, pronađeno je da postoji korelacija između tih varijabli (r = 0,680). Iz rezultata se može uočiti da su u zamrznutim i liofiliziranim kašama obiju sorti jabuka najzastupljenije polifenolne grupe flavanoli (procijanidin B2, (+)-katehin i (-) - epikatehin), dihidrohalkoni (floretin i floridzin) i flavonoli (kvercetin, rutin). Predstavnici navedenih grupa su procijanidin B2, floridzin i rutin. Iz Tablica 29-32 je vidljivo da obje sorte jabuka sadrže navedene polifenolne spojeve. Razlika između sorti jabuka i između jabuka iz dviju proizvodnih godina (2011. i 2012.) je samo u sadržaju pojedinačnih određivanih polifenolnih spojeva. Sorta jabuka *Gold Rush* sadržavala je veći udio flavanola, fenolnih kiselina i flavonola, dok je sorta jabuka *Granny Smith* sadržavala veći udio dihidrohalkona. Uspoređujući proizvodne godine može se vidjeti da su jabuke proizvedene u 2012. godini sadržavale količinski više svih određivanih polifenolnih spojeva, osim klorogenske kiseline, u odnosu na jabuke proizvedene 2011. godine. Budući da se flavonoli uglavnom nalaze u kori jabuka, povećana insolacija u 2012. godini je doprinijela sintezi flavonola što je rezultiralo i većom količinom flavonola u jabukama ubranim 2012. godine (Awad i sur., 2001.). Veća količina kvercetin glikozida i procijanida B2 je u korelaciji s višom antioksidacijskom aktivnosti jabuka iz 2012. godine. Sadržaj epikatehina je u korelaciji (r = 0,535) s količinama procijanidina B2 što se može objasniti time što je molekula procijanidina B2 građena iz dvije molekule epikatehina.

Rezultati mjerenja pojedinačnih polifenolnih spojeva su pokazali da je dodatak šećera utjecao na očuvanje polifenolnih spojeva. Dodatak šećera imao je najveći učinak na očuvanje

flavanola i flavonola, posebice procijanidina B2 i rutina. Međutim, utjecaj šećera na pojedinačne polifenolne spojeve se razlikovao za pojedine sorte jabuka, iz različitih proizvodnih godina i primijenjenog procesa prerade, zamrzavanja i liofilizacije (Tablica 29 - 32).

Zamrznute kaše jabuka

U zamrznutim uzorcima kaše jabuka sorte *Granny Smith,* proizvedenih 2011. godine, dodatak trehaloze (1%) imao je najveći utjecaj na očuvanje gotovo svih grupa polifenolnih spojeva. Međutim, iz rezultata se može vidjeti da se utjecaj dodatka 1% trehaloze na flavonole statistički ne razlikuje značajno od utjecaja dodatka 5% saharoze. U uzorcima kaša jabuka iz sezone 2012. godine najznačajni utjecaj na očuvanje flavanola i dihidrohalkona u zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* imao je dodatak trehaloze (5%), dok je najznačajni utjecaj na očuvanje flavonola imao dodatak 5% fruktoze (Tablica 29 i 30).

Što se tiče sorte *Gold Rush* proizvedene 2011. godine najznačajni utjecaj na očuvanje flavanola i dihidrohalkona u zamrznutim uzorcima kaša imala je saharoza (5%). Iz rezultata je vidljivo da nema statistički značajne razlike između utjecaja dodatka 5% trehaloze i dodatka 5% saharoze na očuvanje flavonola. U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* (iz 2012.) dodatak 5% trehaloze je imao je najveći učinak na očuvanje svih grupa polifenolnih spojeva (Tablica 31 i 32).

Liofilizirane kaše jabuka

U liofiliziranim uzorcima kaše jabuka sorte *Granny Smith* najznačajni utjecaj na očuvanje flavanola imala je trehaloza (1%), na dihidrohalkone saharoza (5%) i na flavonole trehaloza (5%) i saharoza (5%). U uzorcima kaša jabuka iz sezone 2012. godine najveći učinak na očuvanje svih grupa polifenolnih spojeva u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* imao je dodatak 1% fruktoze (Tablica 29 i 30).

U liofiliziranim uzorcima kaša jabuke sorte *Gold Rush* proizvedenih 2011. godine nema statistički značajne razlike između utjecaja trehaloze (1%) i saharoze (1%) na očuvanje flavonola, dok na očuvanje flavanola i dihidrohalkona najznačajni utjecaj ima dodatak fruktoze (5%). Dodatak 5% saharoze imao je najveći učinak na očuvanje klorogenske kiseline u zamrznutim i liofiliziranim uzorcima kaša jabuka. U liofiliziranim uzorcima kaša jabuke iz

sezone 2012. godine najveći utjecaj na očuvanje flavanola i flavonola u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* imao je dodatak 1% trehaloze (Tablica 31 i 32). Dodatak šećera utjecao je na očuvanje dihidrohalkona u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka, međutim, bez statistički značajne razlike između pojedinih vrsta šećera.

Utjecaj dodataka šećera i praha kore jabuka na pojedinačne polifenole u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

U Tablicama 33 i 34 prikazani su rezultati određivanja pojedinačnih polifenolnih tvari u kori jabuka odmah nakon branja plodova i nakon skladištenja 180 dana. Iz rezultata se može vidjeti da kora jabuke sorte *Gold Rush* sadrži veći udio svih promatranih polifenolnih grupa spojeva. Također se može vidjeti da je u kori jabuka proizvedenih 2012. godine sadržaj polifenolnih spojeva veći u usporedbi s jabukama proizvedenim 2011. godine. Skladištenjem kore jabuke obiju sorti, tijekom 180 dana, nije došlo do većeg gubitka polifenolnih spojeva. U prosjeku je gubitak iznosio 15,47%, međutim treba napomenuti da je za taj gubitak uglavnom zaslužna degradacija fenolnih kiselina i dihidrohalkona, dok su udjeli flavanola i flavonola uglavnom bili stabilni tijekom skladištenja. Razlog tomu je vjerojatno veći afinitet polifenol oksidaze prema fenolnim kiselinama (Robards, 1999.; Rocha i Morais, 2001.). Također, jedan od razloga degradacije fenolnih kiselina u kori jabuka tijekom skladištenja može biti i viša pH vrijednost kore, budući da klorogenska i kava kiselina nisu stabilne pri višim pH vrijednostima (Friedman i Jürgens, 2000.).

Dodatkom praha kore jabuka u kaše došlo je do povećanja udjela svih grupa polifenolnih spojeva posebice kvercetin glukozida i procijanidina B2. Iz rezultata prikazanih u Tablicama 35-38 može se vidjeti da je dodatak svih šećera dodatno utjecao na očuvanje polifenolnih spojeva nakon procesiranja (zamrzavanja i liofilizacije) i skladištenja svih uzoraka.

Zamrznute kaše jabuka

U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom 3% praha kore jabuka najveći utjecaj na očuvanje flavanola imao je dodatak trehaloze (5%), na očuvanje dihidrohalkona dodatak trehaloze (1%) i očuvanje flavonola dodatak saharoze (5%). U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom 5% praha kore jabuka,

dodatak 1% trehaloze imao najveći učinak na očuvanje flavanola i dihidrohalkona, a dodatak 1% na očuvanje flavonola (Tablica 35 i 36).

U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* s dodatkom 3% praha kore jabuka, dodatak trehaloze (5%) najviše je utjecao na očuvanje flavanola i klorogenske kiseline, dok je dodatak trehaloze, ali u manjem udjelu (1%), najviše utjecao na očuvanje dihidrohalkona, a dodatak saharoze (5%) na očuvanje flavonola. U zamrznutim uzorcima kaša jabuke sorte *Gold Rush* s dodatkom 5% praha kore jabuka najveći učinak na očuvanje flavonola i dihidrohalkona imao je dodatak 5% saharoze, dok je na očuvanje klorogenske kiseline i flavanola najveći učinak imao dodatak 5% trehaloze (Tablica 37 i 38).

Liofilizirane kaše jabuka

U liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom 3 % praha kore jabuka dodatak trehaloze (1%) imao je najznačajniji utjecaj na očuvanje flavanola i dihidrohalkona, dok je na očuvanje flavonola najznačajni utjecaj imao dodatak fruktoze (5%). U uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom 5% praha kore jabuka najveći učinak na očuvanje svih polifenolnih grupa u liofiliziranim uzorcima imao je dodatak 1% fruktoze (Tablica 35 i 36).

U liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* s dodatkom 3% praha kore jabuka najveći učinak na očuvanje flavanola i dihidrohalkona imao je dodatak trehaloze (1%), dok je dodatak glukoze (5%) imao najveći učinak na očuvanje klorogenske kiseline, a dodatak saharoze (1%) na očuvanje flavonola. U liofiliziranim uzorcima kaša jabuke sorte *Gold Rush* s dodatkom 5% praha kore jabuka najveći učinak na očuvanje flavanola i flavonola imao je dodatak 1% trehaloze. Dodatak 1% fruktoze imao je najveći učinak na očuvanje dihidrohalkona i klorogenske kiseline (Tablica 37 i 38).

Utjecaj dodataka šećera na antioksidacijsku aktivnost u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

Utjecaj šećera na antioksidacijsku aktivnost (AOA) kaša jabuka sorte *Granny Smith* i *Gold Rush* se može vidjeti u Tablicama 19-26. Iz rezultata je vidljivo da AOA i zamrznutih i liofiliziranih kaša s dodatkom šećera slijedi trend povećanja očuvanja polifenolnih spojeva.

Zamrznute kaše jabuka

Iz rezultata određivanja AOA pomoću DPPH metode se može vidjeti da procesiranjem dolazi do smanjenja AOA. Zamrzavanje je utjecalo na smanjenje AOA kaša jabuka sorte *Granny Smith*, proizvedenih 2011. godine, za 34,18% odnosno 25,34% za kaše jabuka proizvedenih 2012. godine. Rezultati AOA mjereni pomoću ABTS metode su također pokazali da zamrzavanjem dolazi do smanjenja AOA, tako da je smanjenje AOA kaša jabuka sorte *Granny Smith*, proizvedenih 2011. godine, bilo 67,08% odnosno kaša jabuka proizvedenih 2012. godine za 33,10% (Tablica 17 i 18).

Nakon dodatka šećera se mogu primijetiti razlike u rezultatima AOA mjerene ovim dvjema metodama. Rezultati određivanja AOA dobiveni mjerenjem pomoću DPPH metode su pokazali da dodatak šećera ne utječe na očuvanje AOA, dok su rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću ABTS metode pokazali da šećeri utječu na očuvanje AOA. Iz rezultata za AOA dobivenih pomoću ABTS metode se može vidjeti da je dodatak šećera u kaše jabuka sorte *Granny Smith*, proizvedenih 2011. godine, utjecao na očuvanje AOA za 38,63%, odnosno kaše jabuka sorte *Granny Smith* proizvedenim 2012. godine za 7,95% za. Od svih šećera najveći utjecaj na očuvanje AOA je imao dodatak 5% trehaloze.

Što se tiče kaša jabuka sorte *Gold Rush*, iz rezultata AOA mjerene objema metodama se može vidjeti da je zamrzavanje utjecalo na smanjenje AOA. Rezultati određivanja AOA mjereni pomoću DPPH metode su pokazali da je došlo do smanjenja AOA uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, proizvedenih 2011. godine, za 68,32%, odnosno uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, proizvedenih 2012. godine za 42,64%. Rezultati dobiveni mjerenjem AOA pomoću ABTS metode su također pokazali da je došlo do smanjenja AOA, uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, proizvedenih 2011. godine, za 63,09%, odnosno uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, proizvedenih 2012. godine za 23,13%.

Rezultati određivanja AOA dobiveni mjerenjem pomoću DPPH metode su pokazali da dodatak šećera ne utječe na očuvanje AOA uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, dok su rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću ABTS metode pokazali da šećeri utječu na očuvanje AOA. Rezultati dobiveni pomoću ABTS metode su pokazali da je dodatak svih šećera u prosjeku utjecao na očuvanje AOA uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*, proizvedenih 2011. godine, za 46,33%, odnosno uzoraka kaša jabuka sorte *Gold Rush*,

proizvedenih 2012. godine, za 6,20%. Najveći utjecaj na očuvanje AOA je imao dodatak 5% trehaloze 0-ti dan, dok se je nakon skladištenja (180 dana) pokazalo da nema statistički značajne razlike u očuvanju AOA između dodatka trehaloze 1% i 5% u uzorcima kaša jabuke *Gold Rush*, proizvedenih 2011. godine, odnosno dodatka 1% trehaloze i 5% saharoze uzoraka kaša jabuke *Gold Rush*, proizvedenih 2012. godine.

Liofilizirane kaše jabuka

Liofilizacija je, također, utjecala na smanjenje AOA, kaša jabuka sorte *Granny Smith*, mjerene pomoću DPPH metode za 26,59% (za jabuke proizvedene 2011. god.) odnosno 34,00% (za jabuke proizvedene 2012. god.). Rezultati dobiveni mjerenjem AOA pomoću ABTS metode su pokazali smanjenje AOA 55,98% (za jabuke proizvedene 2011. god.), odnosno 33,83% (za jabuke proizvedene 2012. god.) (Tablica 17 i 18).

Rezultati AOA mjerene pomoću DPPH metode su pokazali da dodatkom šećera kao i kod zamrznutih kaša jabuka sorte *Granny Smith* nije došlo do očuvanja AOA, dok su rezultati dobiveni mjerenjem AOA pomoću ABTS metode pokazali da je dodatak šećera (S, F i T) utjecao na očuvanje za 32,79% (za jabuke proizvedene 2011. god.), odnosno 22,77% (za jabuke proizvedene 2012. god.). Najveći utjecaj na očuvanje AOA liofiliziranih kaša jabuka sorte *Granny Smith* imao je dodatak 1% fruktoze.

Rezultati mjerenja AOA pomoću DPPH metode su pokazali da se AOA kaša jabuke sorte *Gold Rush* smanjila za 37,08% (jabuke proizvedene 2011. god.), odnosno 52,23% (jabuke proizvedene 2012. god.). Rezultati dobiveni mjerenjem AOA pomoću ABTS metode su pokazali slično smanjenje AOA kaša jabuke sorte *Gold Rush*, 35,81% (jabuke proizvedene 2011. god.), odnosno 50,10% kaša jabuke sorte *Gold Rush* (jabuke proizvedene 2012. god.).

Rezultati mjerenje AOA pomoću DPPH metode su pokazali da dodatkom šećera (S, F, G i T) u kaše jabuka sorte *Gold Rush* u 2011. godini nije došlo do očuvanja AOA, dok je u 2012. godini došlo do očuvanja AOA 12,43%. Prema rezultatima dobivenim mjerenjem AOA pomoću ABTS metode dodatkom šećera (S, F, G i T) došlo je do očuvanja AOA liofiliziranih kaša jabuka sorte *Gold Rush*, 9,67% (jabuke proizvedene 2011. god.), odnosno 28,22% (jabuke proizvedene 2012. god.). Najveće utjecaje na očuvanje AOA u liofiliziranim kašama jabuka sorte *Gold Rush* pokazali su dodaci 5% saharoze, odnosno 5% trehaloze.

Utjecaj dodataka šećera i praha kore jabuka na antioksidacijsku aktivnost u zamrznutim i liofiliziranim kašama jabuka

Dosadašnja istraživanja o utjecaju dodatka kore jabuka odnosno ekstrakta kore jabuke na udio polifenola i AOA su pokazala običavajuće rezultate. Istraživanjem, o utjecaju dodatka praha kore jabuka na kvalitetu muffina, kojeg su proveli Rupesinghe i sur. (2008.; 2009.) je utvrđeno da dodatak praha kore jabuka (16% na ukupnu masu zamjesa) nema utjecaja na senzorska svojstva muffina, ali ima na povećanje udjela ukupnih polifenola i AOA. Također, utvrđeno je da je ekstrakt kore jabuka, koji je bogat polifenolima i sadrži visoku AOA, učinkovit u inhibiciji oksidacije lipida, emulzije eikozapentaenske kiseline i ribljeg ulja, izazvane visokom temperaturom, UV svijetlom i peroksid radikalima (Rupesinghe i sur., 2010.). Nadalje, Sekhon-Loodu i sur. (2013.) su utvrdili da dodatak polifenolnih spojeva iz dehidratirane i zamrznute kore jabuka ima veće inhibicijsko djelovanje na oksidaciju masti od α – tokoferola, butil hidroksitoulena (BHT) i ekstrakta kore jabuka.

Dodatak praha kore jabuka u zamrznute i liofilizirane kaše jabuka je značajno utjecao na povećanje AOA u obje sorte. Povećanje AOA je bilo u skladu s količinom dodanog praha kore jabuka, 3% odnosno 5% (Tablica 20, 22, 24, 26).

Zamrznute kaše jabuka

Iz rezultata dobivenih mjerenjem AOA pomoću DPPH metode se može vidjeti da je dodatak praha kore jabuka značajno utjecao na povećanje AOA u zamrznutim kašama jabuka sorte *Granny Smith*. Dodatak 5% praha kore jabuka je utjecao na povećanje AOA za 113,23%, a dodatak 3% praha kore jabuka za 32,14%. Rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću ABTS metode su također pokazali da je dodatak praha kore jabuka imao značajan utjecaj na povećanje AOA. U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* dodatkom 5% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 194,70%, dok je dodatkom 3% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 71,96%. Najveći utjecaj na očuvanje AOA u zamrznutim kašama jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom praha kore jabuka je imao dodatak saharoze 5% (0-ti dan), odnosno dodatak fruktoze 5% (180 dan). Također se može primijetiti da je AOA

uzoraka kaša jabuke nakon dodatka praha kore jabuka stabilna do 30 dana skladištenja, nakon čega dolazi do smanjenja AOA.

Kao i u slučaju uzoraka kaša jabuka sorte *Granny Smith* dodatak praha kore jabuka je utjecao na povećanje AOA u zamrznutim kašama jabuka sorte *Gold Rush* mjerene pomoću DPPH metode. Dodatak 5% praha kore jabuka je utjecao na povećanje AOA za 109,91%, a dodatak 3% praha kore jabuka za 80,43%. Rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću ABTS metode su također pokazali da je dodatak praha kore jabuka imao značajan utjecaj na povećanje AOA. U zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* dodatkom 5% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 78,26% dok je dodatkom 3% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 23,83%. Najveći utjecaj na očuvanje AOA u zamrznutim kašama jabuka sorte *Gold Rush* s dodatkom praha kore jabuka je imao dodatak 5% saharoze (DPPH), odnosno 5% trehaloze (ABTS).

Liofilizirane kaše jabuka

Rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću DPPH metode su pokazali da dodatak 5% praha kore jabuka u kaše jabuka sorte *Granny Smith* je utjecao na povećanje AOA za 89,30%, odnosno 63,56% dodatkom 3% praha kore jabuka. Rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću ABTS metode su pokazali da je dodatak praha kore jabuka imao značajan utjecaj na povećanje AOA. U liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Granny Smith* dodatkom 5% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 108,63% dok je dodatkom 3% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 93,99%. Najveći utjecaj na očuvanje AOA u liofiliziranim kašama jabuka sorte *Granny Smith* s dodatkom praha kore jabuka je imao dodatak 5% saharoze (DPPH), odnosno dodatak 1% fruktoze (ABTS).

Dodatak praha kore jabuka je utjecao na povećanje AOA i u liofiliziranim kašama jabuka sorte *Gold Rush* mjerene pomoću obje metode. Rezultati AOA dobiveni mjerenjem pomoću DPPH metode su pokazali da dodatak 5% praha kore jabuka u kaše jabuka sorte *Gold Rush* je utjecao na povećanje AOA za 109,19%, odnosno 97,42% dodatkom 3% praha kore jabuka. U liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte *Gold Rush* dodatkom 5% praha kore jabuka došlo je do povećanja AOA za 68,99%, dok je dodatkom 3% praha kore jabuka povećanje AOA iznosilo 41,42%. Najveći utjecaj na očuvanje AOA u liofiliziranim kašama jabuka sorte *Gold*

Rush s dodatkom praha kore jabuka je imao dodatak 5% saharoze (DPPH), odnosno dodatak 1% trehaloze (ABTS).

Iz svih navedenih rezultata se može uočiti da su vrijednosti AOA dobivene mjerenjem pomoću ABTS metode znatno veće od vrijednosti dobivenih mjerenjem pomoću DPPH metode. Također se mogu uočiti razlike u između rezultata dobivenih ovim metodama kada se promatra utjecaj dodataka na AOA kaša jabuka. Kao što je već navedeno bolju korelaciju između sadržaja ukupnih polifenola i AOA je pokazala ABTS metoda.

Razlika u samoj prirodi primijenjenih radikala pri određivanju AOA može biti razlog razlika između navedenih metoda. Kao i $ABTS^{\bullet+}$, DPPH reagira i s elektronima i s H-donorima, iako sporije, a kao rezultat toga, DPPH radikal može podcijeniti brze reaktante. DPPH radikal je selektivniji od $ABTS^{\bullet+}$ radikala u reakciji s H-donorima. Na primjer, za koeficijent inhibicije katehina iz čaja je pronađeno da je gotovo jednak broju OH – skupina prisutnih u fragmentima katehola i pirogalola (Nanjo i sur., 1999.). Nasuprot $ABTS^{\bullet+}$, DPPH radikal ne reagira s flavonoidima koji sadrže OH skupine u B prstenu kao ni s aromatskim kiselinama koje sadrže samo jednu OH skupinu (Yokozawa i sur., 1998.; Roginsky i Lissi, 2005.). Što se tiče $ABTS^{\bullet+}$, on često može reagirati nespecifično što u konačnici može dovesti do precjenjivanja stvarne AOA (Roginsky i Lissi, 2005.). Pronađeno je da je AOA resorcinola određena mikrosomalnim modelom manja od AOA katehola za 150 puta i p – hidrokinona za 10 puta, međutim rezultati mjerenje AOA pomoću ABTS metode su pokazali da rescinol (2,49) sadrži veću AOA i od katehola (1,43) i p – hidrokinona (1,33) (Arts i sur., 2003.).

Korelacija između pojedinih grupa polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti

AOA mjerena ABTS metodom je pokazala veću korelaciju s ukupnim polifenolnim spojevima od AOA mjerene DPPH metodom. Provedenom linearnom regresijom između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti uzoraka mjerene ABTS metodom, utvrđeno je da postoji korelacija između tih varijabli ($r = 0,843$), što znači da povećanjem sadržaja ukupnih polifenola u uzorcima raste i antioksidacijska aktivnost. Antioksidacijska aktivnost je također porasla dodatkom praha kore jabuka te je provedenom linearnom regresijom između sadržaja ukupnih polifenola i antioksidacijske aktivnosti uzoraka pronađeno da postoji korelacija između tih varijabli (ABTS $r = 0,814$; DPPH $r = 0,776$).

Potrebno je napomenuti da je uočena negativna korelacija između ukupnih polifenolnih spojeva i pH vrijednosti, tj. povećanjem pH vrijednosti došlo je do smanjenja udjela ukupnih polifenolnih spojeva. Navedena korelacija u zamrznutim uzorcima kaša jabuka iznosi r = 0,807, dok je u liofiliziranim r = 0,681.Iako je pronađena pozitivna korelacija između ukupnih polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti, polifenolni spojevi mogu doprinositi različito ukupnoj antioksidacijskoj aktivnosti voća te je zbog toga potrebno promatrati postojanje korelacije između antioksidacijske aktivnosti i pojedinih grupa polifenolnih spojeva kao što su flavanoli, dihidrohalkoni, fenolne kiseline i flavonoli. Provedenom linearnom regresijom između pojedinih grupa polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti uzoraka, pronađeno je da postoji korelacija između tih varijabli. Veća korelacija je pronađena između pojedinih grupa polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti uzoraka mjerene ABTS metodom. Navedena korelacija u zamrznutim uzorcima kaša jabuke iznosi za flavanole r = 0,573, za dihidrohalkone r = 0,643 i za flavonole r = 0,609. U liofiliziranim uzorcima navedena korelacija iznosi za flavanole r = 0,565, za dihidrohalkone r = 0,529 i za flavonole r = 0,573. Od navedenih grupa polifenolnih spojeva antioksidacijskoj aktivnosti najviše doprinose procijanidin B2, floridzin i kvercetin glukozidi što je u skladu s rezultatima koje su objavili Lee i sur. (2003.).

Kao što se može vidjeti, iz prikazanih rezultata (Slika 23 - 30 i Tablica 19 - 26), dodatak šećera i praha kore jabuka imao je utjecaj na zadržavanje odnosno povećanje sadržaja polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti. Dodatkom praha kore jabuka očekivano je došlo do povećanja udjela polifenolnih spojeva, posebice onih grupa koje su najzastupljenije u kori jabuka, a to su flavanoli i flavonoli. Povećanje polifenolnih spojeva utjecalo je na povećanje antioksidacijske aktivnosti kaša u koje je dodan prah kore jabuka.

Utjecaj šećera na očuvanje polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti ovisi o vrsti šećera i udjelu dodanog šećera. Iz rezultata ovog rada vidljivo je da trehaloza ima najveći učinak na očuvanje navedenih parametara dok glukoza ima najmanji. Kaše jabuka su vrlo kompleksan matriks unutar kojeg dolazi do raznih i kompleksnih interakcija između sastojaka. Zaštitni utjecaj šećera na polifenolne spojeve i antioksidacijsku aktivnost je vjerojatno rezultat kombinacije nekoliko mehanizama, međutim mehanizmi djelovanja šećera još uvijek nisu poznati, odnosno do kraja objašnjeni. Do sada je u literaturi predloženo nekoliko teorija pomoću kojih se objašnjava učinak šećera na svojstva prehrambenih

proizvoda (Colaço i Roser, 1995.; Morelli i sur., 2003.; Shpigelman i sur., 2013.;). Na interakcije između sastojka ne utječu samo sastojci već i način procesiranja. Dehidratacijom se namirnice stabiliziraju uklanjanjem vode do vrijednosti koja neće više podržavati rast živih organizama ili kemijske reakcije. Iz rezultata se može vidjeti da je tijekom liofilizacije dodatak manjeg udjela šećera imao bolji utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva. Razlog tome može biti utjecaj šećera na udio uklonjene vode tijekom liofilizacije, dodatkom manje količine šećera se je uklonila veća količina vode nego dodatkom veće količine.

Za utjecaj šećera tijekom zamrzavanja vjerojatno su odgovorni i neki drugi zaštitni mehanizmi. Dodatak šećera u uzorke kaša jabuke prije zamrzavanja smanjuju površinsku napetost vode čime se tijekom zamrzavanja usporava rast kristala leda. Također se povećava maseni udio vezane vode čime se sprječava oštećenje stanice. Najznačajnije krioprotektorsko djelovanje pokazuju monosaharidi, disaharidi, šećerni alkoholi te polisaharidi (polidekstroza i karagen) (Reid, 1996.). Šećeri, osim toga, posjeduju sposobnost da se u otopini transformiraju u ‘’staklasto stanje’’ (*engl. ''glass''*), ili ga zadržavaju, umjesto kristaliničnog što također može biti jedan od zaštitnih mehanizama djelovanja šećera. Trehaloza je jedinstvena u tome jer stvara nehigroskopno ''staklo'' stabilno pri visokim temperaturama i kada se staklo u potpunosti osuši (Food standards, 2013.). To njeno svojstvo omogućava da trehaloza u formi ''stakla'' ostaje netaknuta kroz široki raspon ekstremnih uvjeta za razliku od drugih šećera. Takva staklasta formacija može zadržavati biomolekule u obliku koji im omogućava povratak u njihovu prvobitnu strukturu (Colacço i Roser, 1995.; Crowe i Crowe, 2000.). Trehaloza u ''staklastoj formi'' ima veću stabilnost jer dodatkom male količine vode dolazi do stvaranja trehaloza dihidrata na vanjskim dijelovima ''stakla''. To može dovesti do stvaranja strukture koja izolira ostatak ''stakla'' i štiti od destruktivnih utjecaja kristalizacije. Pojava prelaska iz dihidrata u anhidrat u ''staklastoj formi'' je jedinstvena za trehalozu, i može uspješno kontrolirati aktivitet vode kompleksnog matriksa, kao što je dehidratirana ili zamrznuta hrana. Također, uspješnost trehaloze u očuvanju polifenolnih spojeva može se pripisati većoj fleksibilnosti glikozidne veze između dvije glukoze što omogućava trehalozi konformaciju s iregularnim polarnim grupama makromolekula (Colacço i Roser, 1995.).

6. ZAKLJUČCI

Zahtjevi potrošača za što kvalitetnijim prehrambenim proizvodima danas su izraženiji nego ikada. Kako bi se udovoljilo zahtjevima potrošača, velika pažnja se posvećuje razvoju novih proizvoda ili pak poboljšavanju svojstava već postojećih proizvoda, npr. dodatkom sastojaka koji omogućavaju poboljšanje njihove kvalitete odnosno/i stabilnost.

U ovom radu ispitivan je utjecaj dodatka različitih šećera glukoze, fruktoze, saharoze i trehaloze (1 i 5%), dodatak praha kore jabuka (3 i 5%), i procesiranja zamrzavanjem i dehidratacijom (liofilizacijom) na sadržaj polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša jabuka sorti *Granny Smith* i *Golden Rush*, proizvedenih u dvije proizvodne sezone (2011. i 2012.), i skladištenih 180 dana.

Na temelju istraživanja, dobivenih rezultata te provedene rasprave može se zaključiti slijedeće:

- Proučavane sorte jabuka razlikovale su se u veličini plodova, čvrstoći, topljivoj suhoj tvari, količini kiselina, ukupnih polifenolnih spojeva te, antioksidacijskoj aktivnosti.
- Proučavane sorte jabuka se nisu razlikovale u polifenolnom profilu već samo u udjelima pojedinačnih polifenolnih spojeva.
- Vremenski uvjeti u dvije proizvodne sezone utjecali su na sveukupnu kvalitetu jabuka. Najveći utjecaj su imali na veličinu plodova, količinu kiselina, šećera (reducirajućih i ukupnih), ukupne polifenolne spojeve i antioksidacijsku aktivnost.
- Vremenski uvjeti nisu utjecali na polifenolni profil ispitivanih sorti jabuka već samo na udjele pojedinačnih polifenolnih spojeva.
- U jabukama ubranim 2012. godine udio kvercetin glikozida je bio znakovito veći u usporedbi s jabukama ubranim 2011. godine.
- Skladištenjem svježih jabuka dolazi do manjih promjena u sadržaju ukupnih polifenola. Najizraženije promjene su u kori jabuka.
- Skladištenjem je došlo do porasta AOA.
- Procesiranjem se smanjio udio polifenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti.
- Dodatkom šećera u kaše jabuka došlo je do očuvanja sadržaja polifenolnih spojeva u odnosu na sadržaj polifenolnih spojeva u uzorcima kaša jabuka bez dodatka šećera.
- Najveći utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva u zamrznutim uzorcima kaša jabuka imao je dodatak 5% trehaloze odnosno 1% trehaloze (GR - 2012. god.)

- Dodatak šećera s vremenom skladištenja imao je veći utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva.
- U liofiliziranim kašama jabuke sorte Granny Smith najveći utjecaj imao je dodatak 1% fruktoze, dok je u kašama sorte Gold Rush najveći utjecaj imao dodatak trehaloze odnosno saharoze.
- Sposobnost trehaloze da na neki način zadržava polifenolne spojeve voća otvara mogućnosti primjene iste u razvoju novih proizvoda ili pak poboljšanju postojećih proizvoda s ciljem poboljšanja kvalitete.
- Dodatak praha kore jabuka (3 i 5%) u kaše jabuka utjecao je na povećanje udjela polifenolnih spojeva u odnosu na udio polifenolnih spojeva u uzorcima kaša jabuka bez dodatka praha kore jabuka.
- Skladištenjem praha kore jabuka došlo je do manjih promjena u udjelima pojedinačnih polifenolnih spojeva što znači da je tako pripremljeni dodatak stabilan kroz 180 dana skladištenja (pri sobnoj temperaturi) i može se koristiti za obogaćenje cijelog niza prehrambenih proizvoda (npr. funkcionalne hrane).
- Najveći utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva u zamrznutim uzorcima kaša jabuka s dodatkom šećera i praha kore jabuka imao je dodatak 5% saharoze (GS), odnosno 1% trehaloze (GR) i 5% praha kore jabuka.
- Najveći utjecaj na očuvanje polifenolnih spojeva u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka s dodatkom šećera i praha kore jabuka imao je dodatak 1% trehaloze i 5% praha kore jabuka.
- Najzastupljenije polifenolne grupe u ispitivanim kašama jabuka su flavanoli (procijanidin B2 i (-) - epikatehin), dihidrohalkoni (floretin i floridzin) i flavonoli (kvercetin i rutin).
- Dodatak šećera imao je najveći učinak na očuvanje flavanola i flavonola, posebice procijanidina B2 i rutina. Međutim, utjecaj šećera na pojedinačne polifenolne spojeve se razlikuje između sorti jabuka, između jabuka iste sorte ali proizvedenih u različitim proizvodnim godinama i primijenjenog procesa prerade.
- Najznačajni utjecaj na očuvanje gotovo svih polifenolnih grupa u zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte Granny Smith imao je dodatak trehaloze odnosno

fruktoze, dok najznačajni utjecaj na očuvanje polifenolnih grupa kod kaša sorte Gold Rush imao je dodatak trehaloze odnosno saharoze.

- U liofiliziranim uzorcima najznačajni utjecaj na očuvanje flavanola i flavonola imao je dodatak trehaloze odnosno saharoze.
- Dodatak šećera utjecao je na očuvanje dihidrohalkona u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte GR , međutim, bez statistički značajne razlike između pojedinih vrsta šećera.
- Dodatkom praha kore jabuka u kaše došlo je do povećanja udjela svih grupa polifenolnih spojeva, posebice kvercetin glukozida i procijanidina B2, zavisno o količini dodanog praha kore (3 odnosno 5%).
- Utjecaj dodatka šećera najizraženiji je bio na flavanole i flavonole.
- U zamrznutim uzorcima s dodatkom praha kore jabuka dodatak trehaloze je najviše utjecao na očuvanje flavanola i dihidrohalkona, dok je dodatak saharoze imao najveći utjecaj na očuvanje flavonola.
- U liofiliziranim uzorcima s dodatkom praha kore jabuka najveći utjecaj na očuvanje svih polifenolnih grupa imao je dodatak trehaloze odnosno fruktoze.
- Najveći utjecaj na očuvanje AOA zamrznutih uzoraka kaša jabuka sorte Granny Smith s dodatkom šećera imao je dodatak 5% trehaloze, dok je na očuvanje AOA zamrznutih uzoraka kaša jabuka sorte Gold Rush imao dodatak 1% trehaloze odnosno 5% saharoze.
- Najveći utjecaj na očuvanje AOA liofiliziranih uzoraka kaša jabuka sorte Granny Smith s dodatkom šećera imao je dodatak 1% fruktoze, dok je na očuvanje AOA liofiliziranih uzoraka kaša jabuka sorte Gold Rush imao dodatak 5% trehaloze odnosno 5% saharoze.
- Dodatak praha kore jabuka je značajno utjecao na povećanje AOA u obje sorte jabuka.
- Dodatkom praha kore jabuka i šećera najveći utjecaj na očuvanje AOA u zamrznutim uzorcima kaša jabuka sorte Granny Smith imao je dodatak 5% saharoze odnosno 5% fruktoze, dok je najveći utjecaj na očuvanje AOA u uzorcima kaša jabuka sorte Gold Rush imao dodatak 5% saharoze odnosno 5% trehaloze.

- Dodatkom praha kore jabuka i šećera najveći utjecaj na očuvanje AOA u liofiliziranim uzorcima kaša jabuka sorte Granny Smith imao je dodatak 5% saharoze odnosno 1% fruktoze, dok je najveći utjecaj na očuvanje AOA u uzorcima kaša jabuka sorte Gold Rush imao dodatak 5% saharoze odnosno 1% trehaloze.
- Antioksidacijska aktivnost mjerena ABTS metodom u boljoj korelaciji s polifenolnim spojevima od antioksidacijske aktivnosti mjerene DPPH metodom.
- Iz provedene korelacije između pojedinačnih polifenola i AOA pronađeno je da antioksidacijskoj aktivnosti najviše doprinose procijanidin B2, floridzin i kvercetin glukozidi.

7. LITERATURA

Abbott JA, Saftner RA, Gross KC, Vinyard BT, Janick J: Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji,' 'Golden Delicious,' 'GoldRush,' and '*Granny Smith*' apples. Postharvest Biology and Technology 33:127–140, 2004.

Agriculture and Consumer Protection: corporate Document Repository, Fruit and vegetable processing, FAO http://www.fao.org/docrep/v5030e/v5030e05.htm [14.6.2014.]

Aguirre L, AriasN, Macarulla M T, Gracia A, Portillo MP: Beneficial Effects of Quercetin on Obesity and Diabetes. The Open Nutraceuticals Journal 4:189-198, 2011.

Aherne SA, O'Brien NM: Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. Nutrition 18:75-81, 2002.

Alfaro S, Mutis A, Palma R, Quiroz A, Seguel I, Scheuermann E: Influence of genotype and harvest year on polyphenol content and antioxidant activity in murtilla (Ugni molinaeTurcz) fruit. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13:67-78, 2013.

American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes melitus. Diabetes care 34:S62-9, 2011.

Amiot MJ, Tacchini M, Aubert S, Nicolas J: Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. Journal of Food Science 57:958-962, 1992.

Arora A, Nair MG, Strasburg GM: Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. Free Radical Biology and Medicine 24:1355-1363, 1998.

Arteel GE, Sies H: Protection against peroxynitrite by cocoa polyphenol oligomers. FEBS Letters 462:167–170, 1999.

Arts I, Ilja CW, Jacobs DR, Harnack LJ, Gross M, Folsom AR: Dietary catechins in relation to coronary heart disease death among postmenopausal women. Epidemiology 12:668-675, 2001.

Arts MJTJ, Dallinga JS, Voss HO, Haenen GRMM, Bast A: Critical appraisals of the use of antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures. Food Chemistry 80:409−414, 2003.

Awad MA and de Jager A: Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. Postharvest Biology and Technology 27:53–58,2003.

Awad MA, Wagenmakers PS, de Jager A: Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. Scientia Horticulturae 88:289-298, 2001.

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

Bai X,Zhang H, Ren S: Antioxidant activity and HPLC analysis of polyphenol-enriched extracts from industrial applepomace. Journal of the Science of Food and Agriculture 93:2502-2506, 2013.

Balasundram N, Sundram K, Samman S: Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry 99:191–203, 2006.

Balasuriya N, Rupasinghe HP V: Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract. Food Chemistry 135:2320–2325, 2012.

Bors W, Heller W, Michel C, Saran M: Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. Methods in Enzymology 186:343–355, 1990.

Bourne MC: Concept and Measurement In Food Texture and Viscosity Second Edition. Academic Press, New York, 2002. http://www. google. hr/books?hl=hr&lr=&id=S2HNnvSOuf8C&oi=fnd&pg=PP2&dq=Food+Texture+and+Viscosity+Second+Edition:+Concept+and+Measurement&ots=uYLOvoZQyr&sig=oq583yTkzOqvnoH-yVbCxy_4PSU&redir_esc=y [7. 3. 2014.]

Boyer J and Liu RH: Apple phytochemicals and their health benefits. NutritionJ ournal 3:5, 2004.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28:25–30, 1995.

Brouillard R: Chemical structure of anthocyanins.In: Anthocyanins as Food Colors. Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc., New York, str. 1-38, 1982.

Burda S, Oleszek W: Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49:2774–2779, 2001.

Burda S, Wand O, Lee CY: Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38:945-948, 1998.

Cao G, Sofic E, Prior RL: Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radical Biology and Medicine 22:749–760, 1997.

Cargill, Incorporated (30 May 2011). "Cargill, Hayashibara to Introduce Trehalose Sweetener to the Americas". PR Newswire. 2011.

Carle R, Keller P, Schieber A, Rentschler C, Katzschner T, Rauch D, Fox G. F, Endress H: Method for obtaining useful materials from the by-products of fruit and vegetables processing. Patent application WO 01/78859 A1, 2001.

Cerjak M, Vrhovec R, Vojvodić M, Mesić Ž: Analiza hrvatskog tržišta jabuka. U 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture 311-314, 2011.

Ćetković G, Čanadanović-Brunet J, Djilas S, Savatović S, Mandić A, Tumbas V: Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. Food Chemistry 109:340-347 , 2008.

Ceymann M, Arrigoni E, Schärer H, NisingAB, Hurrell RF: Identification of apples rich in health-promoting flavan-3-ols and phenolic acids by measuring the polyphenol profile. Journal of Food Composition and Analysis 26:128-135, 2012.

Choi DY, Lee YJ,Hong YT, Lee HJ: Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. Brain Research Bulletin 87:144-153, 2012.

Clifford MN: Anthocyanins-nature occurence and dietary burden. Journal of the Science of Food and Agriculture 80:1063-1072, 2000.

Colacço CALS, Roser B: Trehalose-a multifunctional additive for food preservation. U Food Packaging and Preservation (Mathlouthi M, Ur.). Blackie Professional, London, str. 123–140, 1995.

Cotelle N, Bernier JL, Hénichart JP, Catteau JP, Gaydou E, Wallet JC: Scavenger and antioxidant properties of ten synthetic flavones. Free Radical Biology and Medicine 13:211-219, 1992.

Crowe JH,Crowe LM: Preservation of mammalian cells — learning nature’s tricks. Nature Biotechnology 18:145–147, 2000.

daCosta CT,Nelson BC,Margolis SA,Horton D:Separationofblackcurrant anthocyanins by capillary zone electrophoresis. Journal of Chromatogrphy A 799:321-327, 1998.

Davies M, Schwinn KE: Molecular biology and biotechnology of flavonoid biosynthesis. U Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications. Ø. M. Andersen, K. M. Markham (Ur.), Tayor & Francis, Boca Roton, London, New York, str. 144-218, 2006.

De Ancos B, Gonzalez E, Cano MP: Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. European Food Research and Technology 208:33-38, 1999.

de Oliveira MC, Sichieri R, Moura AS: Weight Loss Associated With a Daily Intake of Three Apples or Three Pears Among Overweight Women. Nutrition 19:253–256, 2003.

Deell JR, Prange RK, Peppelenbos HW: Postharvest Physiology of Fresh Fruits and Vegetables In Handbook of Postharvest Technology Cereals, Fruits, Vegetables, Tea, and Spices. Marcel Dekker, USA 455-484, 2003.

Đilas S, Čanadanović-Brunet J, Ćetković G: By-products offruits processingas asource of phytochemicals. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly 15:191-202, 2009.

Drogoudi PD, Michailidis Z, Pantelidis G: Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. Scientia Horticulturae 115:149–153, 2008.

Dugas Jr. AJ, Castaneda-Acosta J, Bonin GC, Price KL, Fischer NH, Winston GW: Evaluation of the total peroxyl radicalscavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. Journal Natural Products 63:327–331, 2000.

Dyrby M, Westergaard N, Stapelfeldt H: Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. Food Chemistry 72:431−437, 2001.

Erlund I: Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Diatery sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. Nutrition Research, 24:851-874, 2004.

Figuerola F, Hurtado ML, Estevez AM, Chiffelle I, Asenjo F: Fibre concentrates from Apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chemistry 91:395–401, 2005.

Foo LY, Lu Y: Isolation and identification of procyanidins in apple pomace. Food Chemistry 64:511–518, 1999.

Food and Agriculture Organization of The United Nations: Production quantities by country. FAOSTAT, 2014. http://faostat3. fao. org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E [7. 4. 2014.]

Food Quality: Trehalose gains EU, 2001.http://www. foodqualitynews. com/news/ng. asp?n=42178-trehalose-gains-eu [3. 3. 2014.]

Food Standards: Trehalose as a novel food, 2003. http://www. foodstandards. gov. au/srcfiles/A453%20Trehalose%20FAR. pdf [24. 8. 2010.]

Francis J: Food colorants: anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 28:273-314, 1989.

Friedman M, Jürgens HS: Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48:2101-2110, 2000.

Gao Z, Huang K, Yang X, Xu H: Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of Scutellaria baicalensis Georgi. Biochimica et Biophysica Acta 472:643– 650, 1999.

Gautam HR, Guleria SPS, Parmar YS: Fruit and vegetable waste utilisation. Department of Mycology and Plant Pathology, Science technology. Entrepreneur, 2007.

Golding JB, McGlasson WB,Wyllie SG, Leach DN: Fate of Apple Peel Phenolics during Cool Storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49:2283–2289, 2001.

Gordon MH: The development of oxidative rancidity in foods. UAntioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.). Woodhead Publishing Ltd, 6-21, 2001.

Grigoras CG, Destandau E, Fougère L, Elfakir C: Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. Industrial Crops and Products 49:794–804, 2013.

Guyot S, Marnet N, Laraba D, Sanoner P, Drilleau JF: Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of French cider apple variety (Malus domestica var. Kermerrien). Journal of Agricultural and Food Chemistry 46:1698-1705, 1998.

Habauzit V,- Morand C: Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. Therapeutic Advances in Chronic Disease 3:87-106, 2012.

Haenen GR, Paquay JB, Korthouwer RE, Bast A: Peroxynitrite scavenging by flavonoids. Biochemical and Biophysical Research Communications 236:591–593, 1997.

Häkkinen S: Flavonols and phenolic acids in berries and berry products: Doktorski rad. Kuopio University, Finland, 2000.

Halliwell B, Aeschbach R, Löliger J, Aruoma OI: The characterization of antioxidants. Food and Chemical Toxicology 33:601-617, 1995.

Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S: The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radical Biology and Medicine 16:845-850, 1994.

Harborne JB, Simonds NW: Biochemistry of Phenolic Compounds. Academic Press, London, 101-115, 1964.

Hawkins GL: Managing Fruit and Vegetable Waste.The university of Georgia, Cooperative Extension, 2010.

Heilmann J, Merfort I, Weiss M: Radical scavenger activity of different 3',4'-dihydroxyflavonols and 1,5-dicaffeoylquinic acid studied by inhibition of chemiluminescence. Planta Medica 61:435-448, 1995.

HeimKE,TagliaferroAR,BobilyaDJ:Flavonoidantioxidants:chemistry,metabolismand structure activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry, 13:572–84, 2002.

Henríquez C, Speisky H, Chiffelle I, Valenzuela T, Araya M, Simpson R, Almonacid S: Development of an Ingredient Containing Apple Peel, as a Source of Polyphenols and Dietary Fiber. Journal of Food Science 75:H172–H181, 2010.

Higashiyama T: Novel functions and applications of trehalose. 2nd International Symposium on Sweeteners, Hiroshima, Japan, 13–17, 2001.

Hollman PCH, Arts ICW: Flavonols, flavones and flavanols-nature, occurrence and dietary burden. Journalof the Science of Food and Agriculture 80:1081-1093, 2000.

Hollman PCH, 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.

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, HZJZ, 2014. http://www. hzjz. hr/epidemiologija/kron_mas/kvb. htm [6. 5. 2014.]

Hubbermann EM, Heins A, Stockmann H, Schwarz K: Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. European Food Research and Technology 223:83−90, 2006.

Imeh U, Khokhar S: Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50:6301-6306, 2002.

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

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u vocu i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voca, Doktorski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Jones RB: Effects of postharvest handling conditions and cooking on anthocyanin, lycopene, and glucosinolate content and bioavailability in fruits and vegetables. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 35:219-227, 2007.

Kähkönen P, Heinämäki J, Ollilainen V, Heinonen M: Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. Journal of the Science of Food and Agriculture 83:1403-1411, 2003.

Kalinowskaa M, Bielawskab A, Lewandowska-Siwkiewiczc H, Priebed W, Lewandowskia W: Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. Plant Physiology and Biochemistry DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.09.006, 2014

Kandaswami G, Perkins E, Soloniuk DS, Drzewiecki G, Middleton E: Ascorbic acid enhanced antiproliferative effect of flavonoids on squamous cell carcinoma in vitro. Anticancer Drugs 4:91-106, 1993.

Kerry N, Rice-Evans C: Inhibition of peroxynitrite-mediated oxidation of dopamine by flavonoid and phenolic antioxidants and their structural relationships. Journal of Neurochemistry 73:247–253, 1999.

Khanizadeha S, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT, Rupasinghe HPV: Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. Journal of Food Composition and Analysis 21:396– 401, 2008.

Kim JH, Kang MJ, Choi HN, Jeong SM, Lee YM, Kim JI: Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. Nutrition Research and Practice 5:107-11, 2011.

Knekt P, Jarvinen R, Hakkinen R, Reunanen A, Maatela J**:** Flavonoid intake and coronarymortality in Finland: a cohort study. British Medical Journal 312:478-481, 1996.

Knekt P, Jaurvinen R, Seppaunen R, Hellouvaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A: Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. American Journal of Epidemiology 146:223–230, 1997.

Kopjar M, Nedic Tiban N, Pilizota V, Babic J: Stability of anthocyanins, phenols and free radical scavenging activity through sugar addition during frozen storage of blackberries. Journal of Food Processing and Preservation 33:1−11, 2009.

Kopjar M, Pilizota V, Hribar J, Simcic M, Zlatic E, Nedic Tiban N: Influence of trehalose addition and storage conditions on the quality of strawberry cream filling. Journal Food Engineering. 87:341−350, 2008.

Kroon PA, Williamson G: Hydroxycinnamates in plants and food:current and future perspectives. Journal of the Science of Food and Agriculture 79:355-361, 1999.

Kunamneni A, Singh S: Response surface optimization of enzymatic hydrolysis of maize starch for higher glucose production. Biochemical Engineering Journal 2:179-190,2005.

Kwon O, Eck P, Chen S, Corpe CP, Kruhlak M, Levine M: Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. Federation of American Societies for Experimental Biology 21:366-77, 2007.

Lajšić S, Grujić-Injac B:Kemija prirodnih spojeva. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 1998,

Lattanzio V, Di Venere D,Linsalata V,Bertolini P,Ippolito A, Salerno M: Low Temperature Metabolism of Apple Phenolics and Quiescence of *Phlyctaena vagabunda.* Journal of Agricultural and Food Chemistry 49:5817–5821, 2001.

Lattanzio V, Kroon PA, Quideau S, Treutter D: Plant phenolics-Secondary metabolites with diverse functions. U Recent advances in polyphenol research (Volume 1). Daayf F, Lattanzio V (ur), Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2008.

Lavelli V, Corti S: Phloridzin and other phytochemicals in apple pomace: Stability evaluation upon dehydration and storage of dried product. Food Chemistry 129:1578–1583, 2011.

Le Marchand L, Murphy SP, Hankin JH, Wilkens LR, Kolonel LN: Intake of flavonoids and lung cancer. Journal of the National Cancer Institute 92:154–160, 2000.

Lee KW, Kim YJ Kim DO, Lee HJ, Lee CY: Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:6516-6520, 2003.

Levis S, Strickman-Stein N, Ganjei-Azar P, Xu P, Doerge DR, Krischer J: Soy isoflavones in the prevention of menopausal bone loss and menopausal symptoms: a randomized, double-blind trial. Archives of Internal Medicine 171:1363-1369, 2011.

Lingnert H, Waller GR: Stability of antioxidants formed from histidine and glucose by Maillard reaction. Journalof Agricultural Food Chemistry 31:27-30, 1983.

Lovrić T: Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, Lovrić T, Tripalo B, Hribar J, Pozderović A (Ur), Hinus Zagreb, 2003

Lovrić T, Piližota V: Factors Affecting Flavour Retention in Some Fruit Juices and Purees During Freeze-drying. Symposium - Neue Erkentnisse auf dem Gebiet der Frucht und Gemusesafte, Zurich, 83-111, 1980.

Lu Y and Yeap LF: Constitution of some chemical components of apple seed. Food Chemistry 61:29-33, 1998.

Lu Y, Foo LY: Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. Food Chemistry 59:187–194, 1997.

Luby JJ, Taxonomic Classification and brief history , Apples botany, production and uses. University of Minnesota, USA 1-12, 2003.

Määttä-Riihinen KR, Kamal-Eldin A, Mattila PH,González-Paramás AM, Törrönen AR: Distribution and content of phenolic compounds in eighteen scandinavian berry species. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52:4477-4486, 2004.

Mahawara M, Singhb A, Jalgaonkarc K: Utility of apple pomace as a substrate for various products: A review. Food And Bioproducts Processing 90:597–605, 2012.

Mahdavi R, Zeinab N, Maryam R, Abolghasem J: Determination and Comparison of Total Polyphenol and Vitamin C Contents of Natural Fresh and Commercial Fruit Juices. Pakistaj Journal of Nutrition 9:968-972, 2010.

Maini SB, Seithi V: Utilization of fruit and vegetablesprocessing waste, u Postharvest Technology of Fruits and Vegetables: General concepts and principles, Verma LR, Joshi VK (ur), 1006-1018, 2000.

Mainla L, Moor U, Karp K, Püssa T: The effect of genotype and rootstock on polyphenol composition of selected apple cultivars in Estonia. Žemdirbystė=Agriculture 98:63–70, 2011.

Malien-Aubert C, Dangles O, Amiot MJ: Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. Journal of Agricultural and Food Chemistrty 49:170−176, 2001.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L: Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition 79:727-747, 2004.

Manzano S, Williamson G: Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal Caco-2 cells. Molecular Nutrition & Food Research 54:1773-80, 2010.

Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR: Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods Trends in Food Science & Technology 11:340-346, 2001.

Marini RP,Physiology of Pruning Fruit Trees. College of Agriculture and Life Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University, 2009.

Markowski J and Płocharsk W: Determination of phenolic compounds inapples and processed apple products. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 14:133-142, 2006.

Markuszewski B, Kopytowski J: Transformations of chemical compounds during apple storage. Scientific Works Of The Lithuanian Institute Ofhorticulture And Lithuanian University Of Agriculture. Sodininkyste Ir Daržininkyste 27:329-338, 2008.

Martens S, Mithöfer A: Flavones and flavone synthases. Phitochemistry, 66:2399-2407, 2005.

Mateljan G: Najzdravije namirnice svijeta, Planetopija, Zagreb, 2009.

Matthiesen L, Malterud KE, Sund RB: Hydrogen bond formation as basis for radical scavenging activity: a structure-activity study of C-methylated dihydrochalcones from Myrica galeand structurally related acetophenones. Free Radical Biology and Medicine 2:307–311, 1997.

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 thestabilization of anthocyanins in food products. Food Chemistry 25:207-225, 1987.

McGhie TK, Hunt M, Barnett LE: Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53:3065-3070, 2005.

McRae KB, Lidster PD, de Marco AC,Dick AJ: Comparison of the polyphenol proles of apple fruit cultivars by correspondence analysis. Journal of the Science of Food and Agriculture 50:329-342, 1990.

Mendoza-Wilsona AM, Armenta-Vázquezb ME, Castro-Arredondoa SI, Espinosa-Plascenciac A,Robles-Burgueñoc MR, González-Ríosd H, González-Leóna A, Balandrán-Quintanaa RR: Potential of polyphenols from an aqueous extract of apple peel as inhibitors of free radicals: An experimental and computational study. Journal of Molecular Structure 1035:61-68, 2013.

Mitcham EJ, Crisosto CH, Kader AA: Apple, *Granny Smith*: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. Department of Plant Sciences, University of California, Davis 1996. http://postharvest. ucdavis. edu/PFfruits/apple_grannysmith/ [6. 5. 2014.]

Montensinos MC, Ubeda A, Terencio MC, Payá M, Alcaraz MJ: Antioxidant profile of mono- and dihydroxylated flavone derivates in free radical generating systems. Zeitschrift für Naturforschung 50c:552-560, 1995.

Morelli R, Russo-Volpe S, Bruno N, Lo Scalzo R: Fenton-dependent damage to carbohydrates: Free radical scavenging activity of some simple sugars. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:7418–7425, 2003.

Muresan EA, Muste S, Borsa A, Sconţa Z, Crainic D, Muresan V: Total phenolic content changes during apple growth as a function of variety and fruit position in the crown. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 18:341-344 2012.

Nanjo F, Mori M, Goto K, Hara Y: Radical scavenging activity of tea catechines and their related compounds. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 63:1621−1623, 1999.

Napolitano A,Cascone A,Graziani G,Ferracane R,Scalfi L,Di Vaio C,Ritieni A, Fogliano V: Influence of Variety and Storage on the Polyphenol Composition of Apple Flesh. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52:6526–6531, 2004.

National Nutrient Database, Food Comoposition, USDA, 2014. http://fnic.nal.usda.gov/food-composition[10. 1. 2013]

Neveu V, Perez-Jiménez J, Vos F, Crespy V, du Chaffaut L, Mennen L, Knox C, Eisner R, Cruz J, Wishart D, Scalbert A: Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods, online Database. Version 1.5.2, http://www.phenol-explorer.eu. 2010.

Nicoli MC, Anese M, Parpinel MT, Franceschi S, Lerici CR: Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. Cancer Letters, 114:71-74, 1997.

Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PAM: Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. The American Journal of Clinical *Nutrition* 74: 418–425, 2001.

Oreopoulou CV, Tzia C: Utilization of By-products and Treatment of Waste in the Food. Springer, USA, 209-232, 2007.

Orzua MC, Mussattob SI, Contreras-Esquivel JC, Rodriguez R, de la Garza H, Teixeira JA, Aguilar CN: Exploitation of agro industrial wastes as immobilizationcarrier for solid-state fermentation. Industrial Crops and Products 30:24–27, 2009.

Ough CS, Amerine MA: Phenolic compounds. U Methods for Analysis of Musts and Wines; (Ough CS., Amarine MA, Ur.) Wiley: New York, 196−221, 1998.

Parmar I, Rupasinghe HPV: Bio-conversion of apple pomace into ethanol and acetic acid: Enzymatic hydrolysis and fermentation. Bioresource Technology 130:613-620, 2013.

Pichler A: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline. Doktorski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2011.

Piližota V, Lovrić T, Abramović G: 'Influence of Sugar Addition and Lay Thickeness on Aroma Retention in Freeze-dried Strawberry and Blackberry Puree. Kemija u industriji 32:507-514, 1983.

Planchon V, Lateur M, Dupont P, Lognay G: Ascorbic acid level of Belgian apple genetic resource. Scientia Horticulturae 100:51–61, 2004.

Plumb GW, Price KR, Williamson G: Antioxidant properties of flavonol glycosides from tea. Redox Report 4:13–16, 1999.

Purdue University: Disease Resistent Apple Breeding Program, 1996. http://www. hort. purdue. edu/newcrop/pri/coop38-3. html [10. 01. 2013.]

Radunić M, Klepo T, Strikić F, Lukić D, Maretić M: Karakteristike sorata jabuka (*Malus x domestica* Borkh.) uzgajanih na području Žrnovnice. Pomologia Croatica 17:11-18, 2011.

Ratty AK, Das NP: Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. Biochemical Medicine and Metabolic Biology 39:69–79, 1988.

Reid D: Fruit freezingU Processing Fruits: Science and Technology. Vol.1. Biology, Principles and Application. (Somogoyi LP, Ramaswamy HS, Hui YH, Ur), Lancaster, PA: Technomic Publishing. 1996.

Rein MJ: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju, Kemija hrane, Sveučilište Helsinki, 2005.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine 20:933-956, 1996.

Richardsa AB, Krakowkab S, Dexterc LB, Schmidd H, Wolterbeeke APM, Waalkens-Berendsene DH, Shigoyuki A, Kurimotof M: Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. Food and Chemical Toxicology 40:871–898, 2002.

Robards K, Antolovich M: Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. Analyst 122:11R-34R, 1997.

Robards K, Prenzel PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry 66:401-436, 1999.

Robles-Sardin AE, Bolaños-Villar AV, González-Aguilar GA, Verónica A: Flavonoids and Their Relation to Human Health. U *Fruit and vegetable phytochemicals*. Wiley-Blackwell, New Delhi, 2010.

Rocha AMCN, Morais AMMB: Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from 'Jonagored' apple. Food Control 12:85-90, 2001.

Roginsky V, Lissi EA: Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food. Food Chemistry 92:235−254, 2005.

Rupasinghe HPV, Wang L, Huber GM, Pitts NL: Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. Food Chemistry 107:1217–1224, 2008.

Rupasinghe HPV, Wang L, Pitts NL, Astatkie T: Baking and sensory characteristics of muffins incorporated with apple skin powder. Journal of Food Quality 32:685–694, 2009.

Rupasinghe HPV, Erkan N, Yasmin A: Antioxidant protection of eicosapentaenoic acid and fish oil oxidation by polyphenolic-enriched apple skin extract. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58:1233–1239, 2010.

Sánchez-Lozada LG, Le M, Segal M, Johnson RJ: How safe is fructose for persons with or without diabetes? The American Journal of Clinical Nutrition 88:1189-1190, 2008.

Schieber A, Hilt P, Streker P, Endress HU, Rentschler C, Carle R: A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. Innovative Food Science and Emerging Technologies 4:99-107, 2003.

Schieber A, Keller P, Carle R: Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatogray. Journal of Chromatography A 910:265–273, 2001.

Ścibisz I, Mitek M: Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences 59:45−52, 2009.

Sekher Pannala A, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA: Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. Biochemical and Biophysical Research Communications 282:1161–1168, 2001.

Sekhon-Loodu S, Warnakulasuriya SN, Rupasinghe HPV, Shahidi F: Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. Food Chemistry 140:189–196, 2013.

Sesso HD, Gaziano JM, Liu S, Buring JE: Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women. American Society for Clinical Nutrition 77:1400-1408, 2003.

Shahidi F, Wanasundara PKJPD: Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 32:67-103, 1992.

Shi H, Noguchi N, Niki E: Introducing naturale antioxidants. UAntioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 147-158, 2001.

Shpigelman A, Zisapel A, Cohen Y, Livney YD: Mechanisms of saccharide protection against epigallocatechin-3-gallate deterioration in aqueous solutions. Food Chemistry 139:1105–1112, 2013.

Siddhuraju P, Becker K: The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry 101:10–19, 2007.

Skupien K, Oszmainski J: Comparison of six cultivars of strawberries (Fragaria x ananassa Duch.) grown in northwest Poland. European Food Research and Technology 219: 66-70, 2004.

Spanos GA, Wrolstad RE: Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40:1478–1487, 1992.

Stick RV: Carbohydrates: The Sweet Molecules of Life. London UK, 2001.

Stričević D, Sever B: Organska kemija. Profil International, Zagreb, 2001.

Sudha ML, Baskaran V, Leelavath K: Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. Food Chemistry 104:686–692, 2007.

Tanaka T, Takahashi R: Flavonoids and Asthma. Nutrients 5: 2128–2143, 2013.

The comprehensive resource for apples and orchards, *Granny Smith*/*Gold Rush* apple, 2014. http://www. orangepippin. com/apples/granny-smith [10. 1. 2013]

Tomás-Barberán FA i Clifford MN: Dietary hydroxybenzoic acid derivatives-nature, occurrence and dietary burden. Journal of Agricultural and Food Chemistry 80:1024-1032, 2000.

Treutter D: Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. Plant Growth Regulation 34:71–89, 2001.

Treutter D: Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding-visions and constraints. International Journal of Molecular Sciences 11:807-857, 2010.

Tsai PJ, Huang HP: Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in roselle. Food Research International 37:313–318, 2004.

Tsao R, McCallum J: Chemistry of Flavonoids. U Fruit and vegetable phytochemicals. Wiley-Blackwell, New Delhi, 2010.

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

van Acker SABE, van Balen GP, van den Berg DJ, Bast A, van der Vijgh WJF: Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. Biochemical Pharmacology 56:935–943, 1998.

Van der Maarel MJEC, Van der Veen B, Uitdehaag JMC, Leemhuis H, Dijkhuizen L: Properties and applications of starch-converting enzymes of the α-amylase family. Journal of Biotechnology 2:137-155, 2002.

van der Sluis AA,Dekker M, de Jager A, Jongen WMF: Activity and Concentration of Polyphenolic Antioxidants in Apple: Effect of Cultivar, Harvest Year, and Storage Conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49:3606–3613, 2001.

van der Sluis AA,Dekker M, Skrede G,Jongen WMF: Activity and Concentration of Polyphenolic Antioxidants in Apple Juice. 1. Effect of Existing Production Methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50:7211–7219, 2002.

Van Wymelbeke V, Béridot-Thérond ME, de La Guéronnière V, Fantino M: Influence of repeated consumption of beverages containing sucrose or intense sweeteners on food intake. European Journal of Clinical Nutrition 58:154-61, 2004.

Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JPE:Polyphenols and Human Health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action A Review. Nutrients 2:1106-1131, 2010.

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 Bulleti, 17:1613–1615, 1994.

Vermerris W, Nicholson R: Phenolic Compound Biochemistry. Springer, Dordrecht, 2006.

Vessal M, Hemmati M, Vasei M: Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology 135:357-64, 2003.

Von Elbe JH, Schwartz., SJ: Colorants in Fennema, O.R.: Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.

Vrhovsek U, Rigo A, Tonon D, Mattivi F: Quantitation of polyphenols in different apple varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52:6532-6538, 2004.

WAPA, 2013. The world apple and pear association. <http://www.wapa-association.org> (cit. 28.11.2013.).

Watkins CB, KupfermanE, Rosenberger DA: Apple, The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks InAgricultural Handbook Number 66, USDA, 2004.

Weinreb O, Mandel S, Amit T, Youdim MB: Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. Journal of Nutritional Biochemistry 15:506-516, 2004.

Wojdylo A, Oszmianski J, Laskowski P: Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56:6520-6530, 2008.

Wollgast J, Anklam E: Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International 33:423-447, 2000.

Xin W, Quanru C, Xin L: Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. Food Hydrocolloids 38:129–137, 2014.

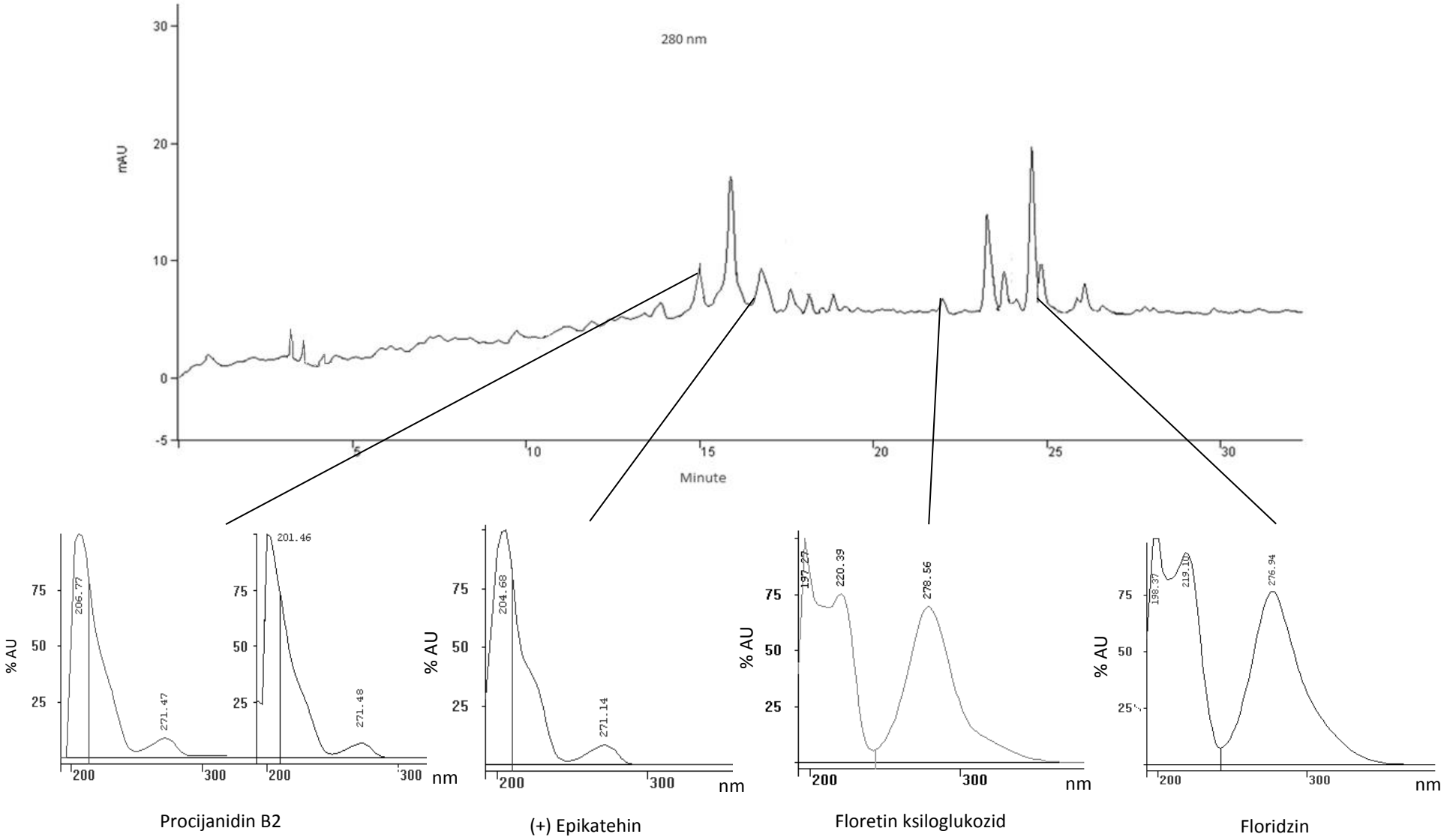
Yanishlieva-Maslarova NV, Heinonen IM: Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas. U Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon (ur.), Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.

Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I: Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Biochemical Pharmacology 56:213−222, 1998.

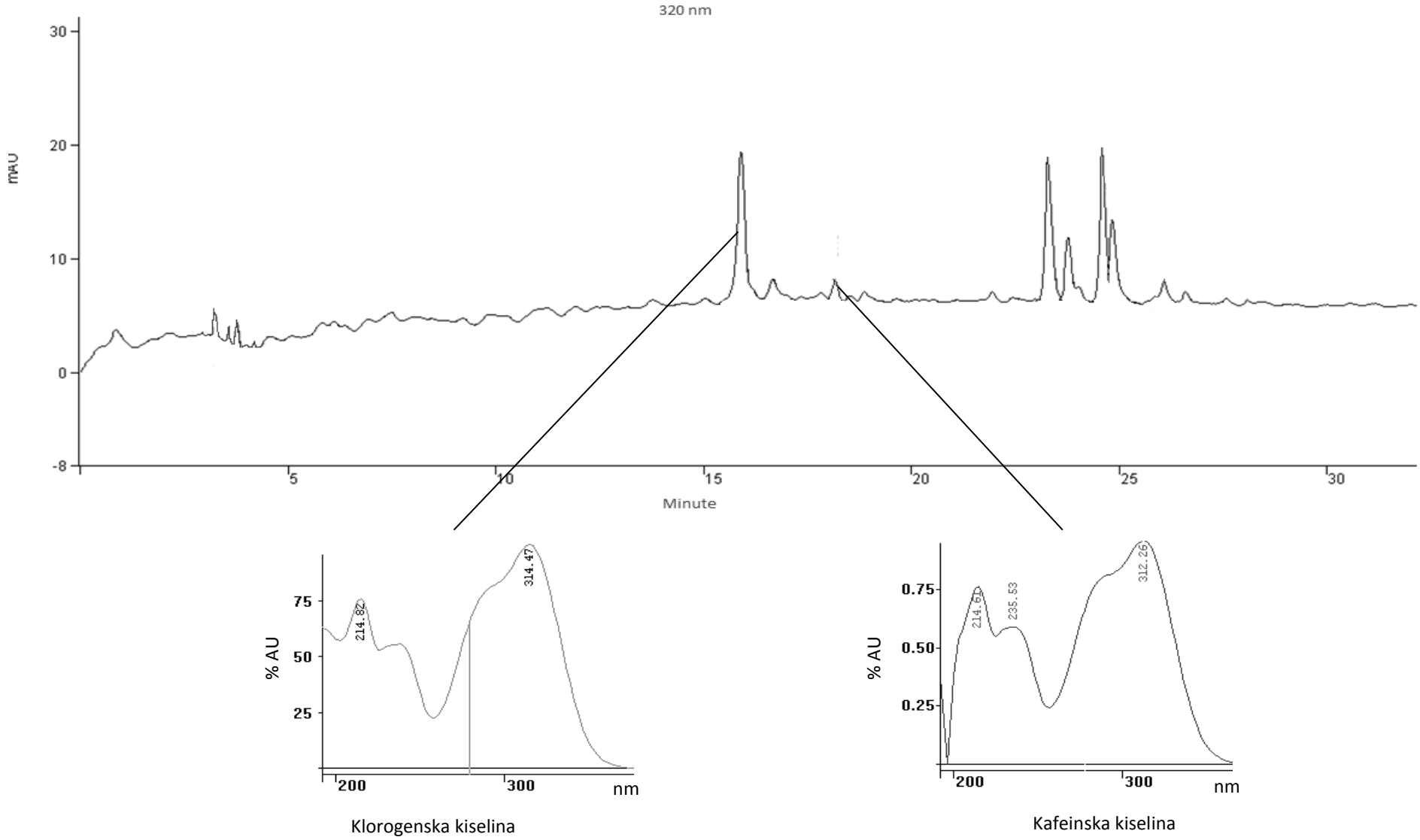
Zhang G, Ji B, Chen G: Antioxidant activities and phenolic composition of apple peel, core and flesh extracts on selected apple cultivars. Advanced Materials Research 554-556: 1103-1109, 2012.

Zheng Y, Wang SY, Wang CY, Zheng W: Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. LWT- Food Science and Technology 40:49–57, 2007.

8. PRILOZI



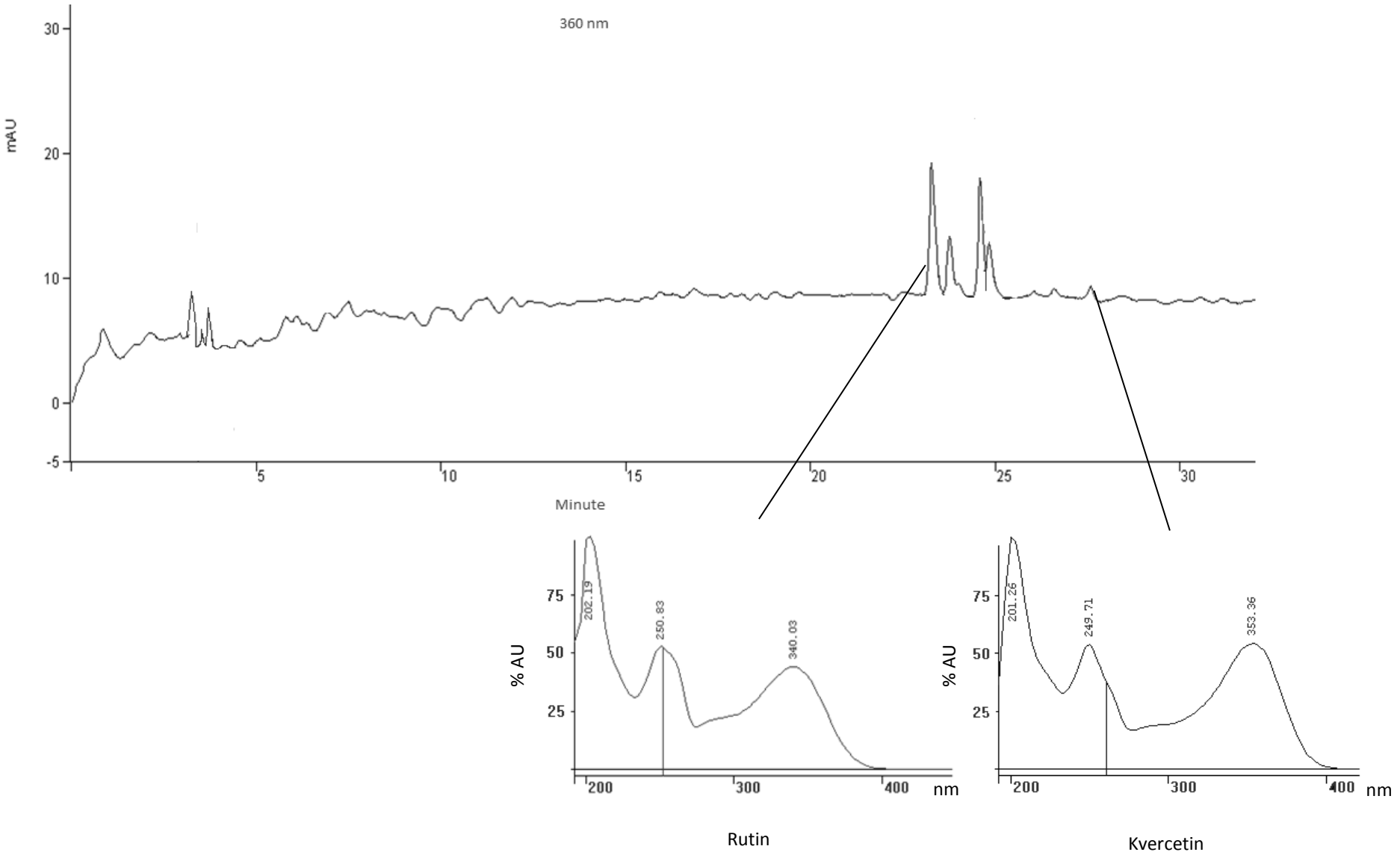
Spektri flavanola



Klorogenska kiselina

Kafeinska kiselina

Spektri fenolnih kiselina



Spektri flavonola

Ante Lončarić mag. ing. techn. aliment.

Ž I V O T O P I S

Rođen je 1.06.1987. godine u Osijeku, Republika Hrvatska. Nakon završene osnovne i srednje škole, 2005. godine upisao je preddiplomski studij Prehrambena tehnologija na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku na kojem je diplomirao 2010. godine. 2011. godine je zasnovao radni odnos u svojstvu znanstvenog novaka na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku, te upisao poslijediplomski znanstveni studij Prehrambeno inženjerstvo na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku. Sudjelovao je kao istraživač na nacionalnom projektu „Razvoj procesa proizvodnje visokokvalitetne hrane“ pod voditeljstvom prof. dr. sc. Vlasta Piližota. Trenutno sudjeluje na uspostavnom istraživačkom projektu „Trehaloza: poboljšanje kvalitete proizvoda na bazi voća“ čiji je voditelj izv. prof. dr. sc. Mirela Kopjar. U sklopu Erasmus programa boravio je mjesec dana na Sveučilištu u Bristolu, Ujedinjeno Kraljevstvo 2014. godine. Do sada je sudjelovao na dva domaća i sedam međunarodnih znanstvenih skupova i objavio dva znanstvena rada iz skupine a1.