

# Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina u soku i octu od jabuke iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja

---

Hunjadi, Elena

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University North / Sveučilište Sjever**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:122:288855>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



Repository / Repozitorij:

[University North Digital Repository](#)





**Sveučilište  
Sjever**

**Završni rad br. 74/PREH/2024**

**Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih  
kiselina u soku i octu od jabuke iz konvencionalnog i  
ekološkog uzgoja**

**Elena Hunjadi, 0336047723**

Koprivnica, rujan 2024. godine





# Sveučilište Sjever

Prehrambena tehnologija

Završni rad br. 74/PREH/2024

## **Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina u soku i octu od jabuke iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja**

**Student**

Elena Hunjadi, 0336047723

**Mentor**

Doc. dr. sc. Dunja Šamec

Koprivnica, rujan 2024. godine

# Prijava završnog rada

## Definiranje teme završnog rada i povjerenstva

ODJEL Odjel za prehrambenu tehnologiju

STUDIJSKI preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

PRISTUPNIK Elena Hunjadi

MATIČNI BROJ 0336047723

DATUM 29.08.2024.

KOLEGIJSKI Ekološka proizvodnja prehrambenih proizvoda

NASLOV RADA Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina u soku i octu od jabuke iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja

NASLOV RADA NA ENGL. JEZIKU Determination of Total Polyphenols, Flavonoids, and Phenolic Acids in Apple Juice and Vinegar

MENTOR Dunja Šamec

ZVANJE Doc.dr.sc

ČLANOVI POVJERENSTVA

- izv. prof. dr.sc. Natalija Uršulin Trstenjak, predsjednik
- Ivana Dodlek Šarkanj, predavačica, članica
- doc.dr.sc. Dunja Šamec, mentorica
- izv. prof. dr.sc. Bojan Šarkanj, zamjenica članica
- 

## Zadatak završnog rada

BROJ 74/PREH/2024

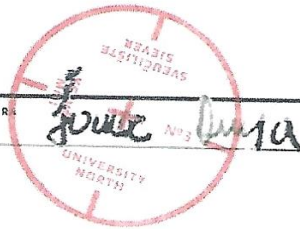
OPIS

Sok i ocat od jabuke prehrambeni su proizvodi koji se proizvode u konvencionalnoj i ekološkoj proizvodnji. Cilj ovog rada je opisati osnovne principe proizvodnje soka i octa od jabuke te istaknuti zahtjeve za njihovu ekološku proizvodnju. Također zadatak rada je usporediti sastav ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina soka i octa od jabuke iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja. Mjerenja je potrebno izvršiti odmah nakon otvaranja proizvoda te nakon dva tjedna skladištenja.

ZADATAK URUČEN 29.08.2024

POTPIS MENTORA

SVEUČILIŠTE  
SJEVER



## **Predgovor**

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Dunji na uloženom vremenu, trudu i strpljenju tijekom izrade ovog završnog rada. Hvala na pruženoj prilici i povjerenju za rad u laboratoriju i danim savjetima.

Zahvaljujem se i asistentici Ivi Jurčević Šangut na pruženoj pomoći tijekom rada u laboratoriju, na savjetima i uloženom vremenu.

Moje zahvale također idu i OPG-u Hunjadi, čiji su proizvodi korišteni u svrhu istraživanja. Natalija i Dejan, hvala suradnji, pruženoj prilici da posjetim Vaš dom i vidim način proizvodnje proizvoda. Hvala na ljubaznosti, otvorenosti i gostoprimstvu.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na bezusluvnoj podršci.

## Sažetak

Zbog velike proizvodnje i dostupnosti tijekom cijele sezone, jabuka je voće koje se konzumira tokom cijele godine. Bogata je vitaminima, mineralima i bioaktivnim spojevima. Polifenolni spojevi su skupina bioaktivnih komponenti čiji su pozitivni učinci na zdravlje poznati u literaturi. Polifenoli posjeduju antioksidacijska, antikancerogena, protuupalna i antimikrobna svojstva, snižavaju razinu glukoze u krvi te smanjuju rizik od kroničnih i degenerativnih bolesti. Na tržištu raste potražnja za ekološkim proizvodima pa se mnogi proizvođači jabuka odlučuju i za ekološku proizvodnju. U ovom radu dat je pregled osnovnih zahtjeva za ekološku proizvodnju jabuka te opisan način proizvodnje jabučnog soka i octa na primjeru OPG-a Hunjadi. U eksperimentalnom djelu rada analiziran je polifenolni sastav proizvoda od jabuke: jabučni sok i jabučni ocat iz ekološkog i konvencionalnog uzgoja. Ispitan je sastav ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina za 4 uzoraka. Rezultati pokazuju da ekološki proizvedeni sok ( $689,09 \pm 10,39 \mu\text{g GAE/mg}$ ) i ocat ( $899,70 \pm 86,28 \mu\text{g GAE/mg}$ ) imaju veću koncentraciju ukupnih polifenola od konvencionalnog soka ( $37,27 \pm 3,24 \mu\text{g GAE/mg}$ ) i octa ( $29,09 \pm 0,74 \mu\text{g GAE/mg}$ ). Rezultati ponovnog mjerenja provedenog nakon dva tjedna, prikazuju da se koncentracija ukupnih polifenola povećala kod svih uzoraka. Kod mjerenja ukupnih flavonoida rezultati također pokazuju da su izmjerene veće koncentracije kod ekoloških proizvoda nego konvencionalnih. Tako ekološki sok sadrži  $341,88 \pm 15,15 \mu\text{g CE/mg}$ , konvencionalni sok sadrži  $10,58 \pm 3,03 \mu\text{g CE/mg}$ , dok ekološki ocat sadrži  $356,96 \pm 19,90 \mu\text{g CE/mg}$  i konvencionalni ocat sadrži  $23,62 \pm 9,53 \mu\text{g CE/mg}$ . Pri drugom mjerenju dobiveni su rezultati koji prikazuju da su se koncentracije ukupnih flavonoida smanjile kod svih uzoraka. Mjerenje fenolnih kiselina također prati rezultate navedenih mjerenja, tako ekološki sok ( $98,74 \pm 3,67 \mu\text{g CAE/mg}$ ) i ocat ( $106,13 \pm 4,58 \mu\text{g CAE/mg}$ ) imaju više koncentracije fenolnih kiselina nego sok ( $5,54 \pm 0,40 \mu\text{g CAE/mg}$ ) i ocat ( $4,73 \pm 0,38 \mu\text{g CAE/mg}$ ) iz konvencionalne proizvodnje. Pri drugom mjerenju koncentracije fenolnih kiselina su porasle kod ekološkog i konvencionalnog soka, dok su se smanjile kod ekološkog octa, a kod konvencionalnog octa se rezultat nije mijenjao.

Ključne riječi: jabuka, ekološka proizvodnja, konvencionalna proizvodnja, ukupni polifenoli, ukupni flavonoidi, fenolne kiseline

## Summary

Due to large production and availability throughout the season, apples are fruits that are consumed year-round. They are rich in vitamins, minerals, and bioactive compounds. Polyphenolic compounds are a group of bioactive components whose positive effects on health are well-documented in the literature. Polyphenols possess antioxidant, anticarcinogenic, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, lower blood glucose levels, and reduce the risk of chronic and degenerative diseases. Demand for organic products is growing in the market, prompting many apple producers to opt for organic production. This paper provides an overview of the basic requirements for organic apple production and describes the methods for producing apple juice and vinegar using OPG Hunjadi as an example. In the experimental part of the work, the polyphenolic composition of apple products was analyzed: apple juice and apple vinegar from organic and conventional cultivation. The composition of total polyphenols, flavonoids, and phenolic acids in four samples was examined. The results show that organically produced juice ( $689.09 \pm 10.39 \mu\text{g GAE/mg}$ ) and vinegar ( $899.70 \pm 86.28 \mu\text{g GAE/mg}$ ) have higher concentrations of total polyphenols than conventional juice ( $37.27 \pm 3.24 \mu\text{g GAE/mg}$ ) and vinegar ( $29.09 \pm 0.74 \mu\text{g GAE/mg}$ ). Results from re-measurements carried out after two weeks show that the concentration of total polyphenols increased in all samples. When measuring total flavonoids, the results also indicate that higher concentrations were found in organic products than in conventional ones. Thus, organic juice contains  $341.88 \pm 15.15 \mu\text{g CE/mg}$ , conventional juice contains  $10.58 \pm 3.03 \mu\text{g CE/mg}$ , while organic vinegar contains  $356.96 \pm 19.90 \mu\text{g CE/mg}$  and conventional vinegar contains  $23.62 \pm 9.53 \mu\text{g CE/mg}$ . During the second measurement, it was found that the concentrations of flavonoids decreased in all samples. The measurement of phenolic acids aligns with the results of the aforementioned measurements, showing that organic juice ( $98.74 \pm 3.67 \mu\text{g CAE/mg}$ ) and vinegar ( $106.13 \pm 4.58 \mu\text{g CAE/mg}$ ) have higher concentrations of phenolic acids than juice ( $5.54 \pm 0.40 \mu\text{g CAE/mg}$ ) and vinegar ( $4.73 \pm 0.38 \mu\text{g CAE/mg}$ ) from conventional production. During the second measurement, the concentrations of phenolic acids increased in both organic and conventional juice, while they decreased in organic vinegar, with no change observed in conventional vinegar.

Key words: apple, organic production, conventional production, total polyphenols, total flavonoids, phenolic acids



## **Popis korištenih kratica**

**GAE** Gallic acid equivalent

**CE** Catechin equivalent

**CAE** Caffeic acid equivalent

**Tzv.** Takozvani

**EU** Europska unija

# Sadržaj

1.	Uvod.....	10
2.	Ekološka poljoprivreda .....	11
3.	Jabuka .....	13
3.1.	Ekološki uvjeti za uzgoj jabuka.....	14
4.	Primjer proizvodnje jabučnog soka i octa - OPG Hunjadi.....	16
4.1.	Proizvodnja jabučnog soka.....	16
4.2.	Proizvodnja jabučnog octa .....	18
5.	Polifenolni spojevi .....	20
6.	Praktični dio .....	22
6.1.	Aparatura i pribor .....	22
6.2.	Kemikalije .....	22
6.3.	Materijali i metode .....	23
6.3.1.	Proizvodi i uzorci .....	23
6.3.2.	Mjerenje vrijednosti pH .....	24
6.3.3.	Mjerenje ukupnih polifenola .....	24
6.3.4.	Mjerenje ukupnih flavonoida .....	25
6.3.5.	Mjerenje fenolnih kiselina .....	26
7.	Analiza rezultata .....	28
7.1.	Vrijednost pH .....	28
7.2.	Ukupni polifenoli .....	29
7.3.	Ukupni flavonoidi .....	32
7.4.	Fenolne kiseline.....	34
8.	Zaključak.....	36
9.	Literatura.....	37
10.	Popis slika .....	39
11.	Popis tablica .....	40

## 1. Uvod

Jabuka (*Malus domestica* Borkh.) kontinentalna je biljka čije podrijetlo, prema povijesnim zapisima potječe iz područja Azije, točnije zapadnog područja Kine. Na tom području nalaze se šume jabuka koje slobodno rastu, bez utjecaja čovjeka. Za raširenost ove kulture, zaslužni su stari putevi svile kojim su prolazila stara plemena, a spajali su zapadnu Kinu s Bliskim istokom i dolinom Dunava [1]. U hrvatskoj kulturi crvena jabuka označava djevojačko rumenilo i ljubav, također krasi božićno drvce i stavlja se u čeljust svinjske pečenke. Jabuka je najzastupljenija voćna kultura koja se uzgaja diljem svijeta. Zbog pogodnih karakteristika i velike raširenosti nosi naziv “kraljice voća“, također ova voćna kultura ima veliki ekonomski i agrikulturni značaj [2].

Danas su vrlo cijenjeni ekološki proizvodi pa se prema tome povećava broj površina pod ekološkom proizvodnjom. U Hrvatskoj je površina zemljišta pod ekološkom proizvodnjom porasla za 282% između 2012. i 2021. godine. Iako je rast površina pod ekološkom proizvodnjom veći, ponuda ekoloških proizvoda na tržištu nije u tolikom porastu [3]. Zbog pogodnih ekoloških i klimatskih uvjeta Hrvatska ima gotovo idealne uvjete za proizvodnju kvalitetnih jabuka [4].

Jabuka je izvor topivih i netopivih vlakana, fitokemikalija i vitamina C. Fitokemikalije koje sadrži jabuka jesu polifenoli čiji je antioksidacijski i protuupalni učinak ističe kao dobrobit po zdravlje čovjeka [5]. Plodovi jabuke, kao i proizvodi od ploda također sadrže značajne količine polifenola. Poznato je da i druge voćne kulture poput grožđa, bobičastog voća, krušaka, sadrže velik dio polifenolnih spojeva i to 200-300 mg polifenola na 100 g voća. Polifenoli su značajno po zdravlje čovjeka zbog pružanja zaštite od razvoja raka, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, osteoporoze i neurodegenerativnih bolesti [6]. Poznajući benefite koje pruža konzumacija jabuke, a ponajviše polifenola koje sadrži, u ovom radu analizira se količina ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina u jabučnom octu i jabučnom soku iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja.

## 2. Ekološka poljoprivreda

Svi prehrambeni proizvodi mogu se proizvoditi na tzv. konvencionalni način te ekološki način. Ekološka proizvodnja je sustav poljoprivredne proizvodnje koji djeluje prema određenim načelima i propisanim smjernicama [7]. Organizacija IFOAM (International Federation of organic agriculture movements) definira ekološku proizvodnju na temelju četiri principa: zdravlje, ekologija, poštenje i briga. Načelo zdravlja opisuje kako su zdravlje ekosustava i čovjeka nerazdvojni te ističe kako zdravlje čovjeka ovisi o stanju ekosustava. Načelo ekologije govori o očuvanju i unapređenju živih ekoloških sustava te ističe važnost uzgajanja u skladu s prirodnim ciklusima. Načelo pravednosti temelji se na uspostavi jednakosti upravljanja zajedničkim svijetom; međusobno između ljudi, tako i u odnosu s drugim živim bićima. Načelo brige ukorjenjuje zaštitu i brigu za okoliš kako bi se sačuvalo zdravlje, prvobitno čovjeka, a zatim i okoliša jer organskom poljoprivredom treba upravljati odgovornim ponašanjem [8]. U jednoj rečenici, ekološka poljoprivreda je: "- sustav poljoprivrednog gospodarenja koji teži etički prihvatljivoj, ekološki čistoj, socijalno pravednoj i gospodarski isplativoj poljoprivrednoj proizvodnji. [9]"

Temeljni kriteriji i postupci u ekološkoj proizvodnji ukorijenjeni su u Uredbi (EU) 2018/848 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. svibnja 2018. o ekološkoj proizvodnji i označivanju ekoloških proizvoda. Navedenom su Uredbom propisani sljedeći ciljevi i načela ekološke proizvodnje:

- doprinosi zaštiti okoliša o klime;
- održavanje dugoročne plodnosti tla;
- doprinos visokoj razini biološke raznolikosti;
- značajno pridonosi netoksičnom okolišu;
- doprinos visokim standardima dobrobiti životinja;
- poticanje kratkih kanala distribucije i lokalne proizvodnje u različitim područjima Unije;
- doprinos razvoju opskrbe biljnim genetskim materijalom prilagođenim specifičnim potrebama i ciljevima ekološke poljoprivrede;
- doprinos visokoj razini biološke raznolikosti;
- poticanje razvoja djelatnosti ekološkog uzgoja bilja kako bi se pridonijelo povoljnim gospodarskim perspektivama ekološkog sektora. [10]"

Potrošač prepoznaje ekološki proizvod po specifičnim oznakama prepoznatljivog izgleda (Slika 1), a koje su donesene u odrednicama Europske unije. Oznaka eko proizvoda jamči potrošaču da je proizvod produkt strogog sustava kontrola te da je proizveden prema smjernicama ekološke proizvodnje.



*Slika 1: Oznaka EKO proizvoda za EU i Republiku Hrvatsku*

Izvor: Ministarstvo poljoprivrede [7]

Za provedbu strogih sustava kontrole o pravilno primijenjenoj ekološkoj proizvodnji brinu nadležna tijela Ministarstva. Oznaka “eko“ na proizvodu garantira potrošaču da je proizvod iz provjerenog ekološkog uzgoja i omogućuje praćenje sljedivosti proizvoda. Institucije koje se bave kontrolom ekoloških gospodarstava imaju određenu oznaku: HR-EKO-00. HR označava ime države u kojoj se kontrole provode, oznaka EKO predstavlja ekološku proizvodnju i referentni broj kontrolnog tijela. Ovlašteno tijelo nakon provedbe kontroli izdaje važeći certifikat kojim se potvrđuje provedba propisanih pravila EU za ekološku proizvodnju.

### 3. Jabuka

Drvo jabuke spada u listopadne, višegodišnje biljke čiji se urod može dobivati u vremenu od 25 do 30 godina. Pripitomljene sorte narastaju do visine 1,8 do 5 metara, dok neke od divljih sorti mogu narasti do 12 metara u visinu. Krošnja jabuke ima tamnozeleno, nazubljene listove povijene prema unutra. Cvijet jabuke ima veličini 3 do 4 cm, blago je ružičaste boje i ima do 5 latica. Za oplodnju cvjetova glavni su oprašivači pčele, jer jabuka nije samooplodna biljka. Cvate u rano proljeće. Berba plodova odvija se krajem mjeseca kolovoza ili početkom rujna. Sorte jabuka razlikuju se veličinom, kakvoćom i bojom plodova. Kod ploda jabuke razlikuje se sjemenke, kora i mesni dio koji je svjetlo žute do bijele boje [11]. Slika 2 prikazuje dijelove jabuke: cvijet, plod i listovi.



*Slika 2: Cvijet, plod i listovi jabuke*

Izvor: S. Dorotić [11]

Plod jabuke predstavlja najkompletnije voće u prehrani čovjeka zbog nutrijenata koje sadrži, a koji uvelike pridonose ljudskome zdravlju. Plod sadrži vitamine, minerale, voćne šećere, voćne kiseline, vlakna, pektine i pročišćenu vodu koja je prošla kroz mnoštvo staničnih membrana od tla do ploda. Zbog 10 000 poznatih sorata jabuka, dostupne su u svako godišnje doba. Tako su najcjenjeniji plodovi zimskih sorata jabuka zbog dosegaja najbolje kakvoće te zbog manjeg izbora voća tijekom zimskog perioda [2].

### 3.1. Ekološki uvjeti za uzgoj jabuka

Ekološki uvjeti za uzgoj jabuka moraju biti povoljni za odabranu sortu, uz primjerenu brigu o uzgoju iste. Ističe se važnost ekoloških uvjeta kao najvažniju odrednicu za ekološki uzgoj jabuka. Klima, tlo i položaj nasada određuju uspješnost uzgoja voćaka, a kako bi se odredili ti parametri potrebna su mnogobrojna istraživanja [2]. Kod ekološkog uzgoja voćaka postoje razne metode sadnje, rezidbe, upotrebe prirodnih preparata i gnojiva, sa što manjom upotrebom kemijski proizvedenih preparata i umjetnih gnojiva [12].

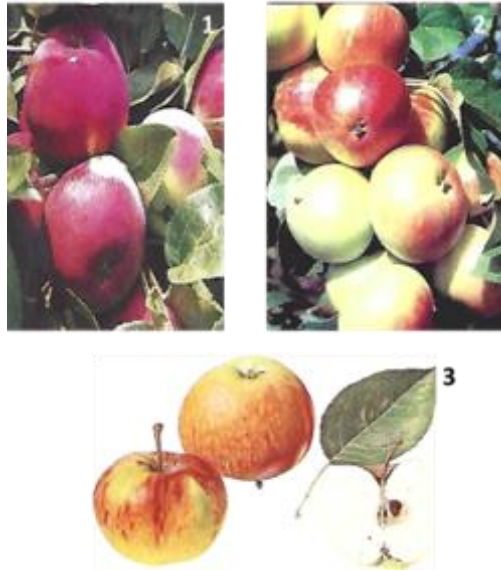
Klima igra veliku ulogu u uspješnom uzgoju jabuka. Parametri koje je potrebno analizirati su središnja godišnja temperatura, prosječna temperatura zraka, relativna vlaga zraka i vlaga tla. Za jabuku je optimalna umjerena kontinentalna klima sa srednjim godišnjim temperaturama od 11°C. Drvo jabuke podnosi minimalnu temperaturu od -35°C, bez težih posljedica. Vrlo je osjetljiva na dostupnost vode, pogotovo tijekom ljetnih mjeseci, kada je dobro postaviti raspršivače vode ili sustav navodnjavanja kap po kap [2,13].

Voćka jabuke voli duboka tla pjeskovito-ilovastog sastava s puno humusa, hranjiva, te vodnim kapacitetom. Optimalna pH vrijednost za sadnju jabuka je 5,5-6. Svakako je pogodno prije sadnje voćaka napraviti zelenu gnojidbu kako bi se tlo obogatilo dušikom. Zato se na početku provodi detaljno ispitivanje tla [2,13].

Najvažnije je da položaj nasada jabuka pruža uvjete sigurnosti i zaštite voćaka od nepovoljnih klimatskih čimbenika i čimbenika tla. Treba uzeti u obzir nadmorsku visinu, nagib terena, ekspoziciju, ispresječenost površina i blizinu vode [2].

Kod pripreme tla za sadnju važno je napraviti analizu tla. Time se dobiva cjelokupni sastav tla te moguća ograničenja u uzgoju voćaka. Tlo je potrebno izravnati i prorahliti, te ga je moguće obogatiti raznim gnojivima [2,13].

Kod izbora sorata, prednost imaju sorte koje su otporne na štetnike i biljne bolesti. Za ekološku proizvodnju također je bitno da sadni materijal dolazi iz provjerenog ekološkog uzgoja [14]. Neke sorte čije su karakteristike povoljne za ekološki uzgoj su Stark Earliest, Vista Bella, James Grive, Prima, Retina, Freedom, Laderica, Pilot, Pingo i druge (Slika 3). Prednost svakako imaju stare, autohtone sorte [12].



*Slika 3: Sorte pogodne za ekološki uzgoj: 1-Vista Bella; 2- Stark Earliet; 3- James Grieve*

Izvor: I. Krpina i sur. [2]

Za zaštitu jabuka koriste se preparati koji su dozvoljeni u ekološkoj poljoprivredi poput parafinskih mineralnih ulja protiv štetnika i uzročnika bolesti, otopina sumpora i kalijevog sapuna protiv pepelnice [14]. U prirodnu zaštitu ubraja se gnojidba voćaka posebnim prirodnim preparatima, poput stajskog gnoja, goveđeg gnoja te raznim biodinamičkim pripravcima. To će zemlji dati potrebne mikronutrijente koji će osnažiti voćku. Preferira se i sadnja niskog bilja ispod voćaka koja doprinosi pojačanoj zaštiti od insekata [12].



## 4. Primjer proizvodnje jabučnog soka i octa - OPG Hunjadi

OPG Hunjadi nalazi se u Svetoj Mariji u Međimurju. Osim nasada jabuka sorti Jonagold, Zlatni delišes, Idared, uzgajaju i lješnjake, aroniju i grožđe. Bave se ekološkom proizvodnjom jabuka više od 5 godina te posjeduju certifikat kao potvrdu za ekološku proizvodnju. Njihova je proizvodnja manjeg opsega te orijentirana prema ekološkoj proizvodnji. Sva se prerada vrši prema važećoj regulativi za ekološku proizvodnju što podrazumijeva korištenje ekoloških sredstava za održavanje pogona, čišćenje te strogo odvajanje ekološke prerade od eventualne konvencionalne.

### 4.1. Proizvodnja jabučnog soka

OPG Hunjadi ima liniju za proizvodnju sokova i octa. Sve strojeve financirali su sami ili uz podršku partnera drugog OPG-a. Nakon što se jabuke obru sa stabla, potrebno ih je strojem dopremiti do pogona za preradu. Jabuke se dopremaju u kašetama ili box paletama (Slika 4). Nakon toga se ručno peru pod mlazom vode, kako bi se očistile od površinskih nečistoća. Taj je proces važan dio kvalitete i higijene sirovine zbog pripreme za daljnju preradu.



*Slika 4: Kašete za prijenos jabuka*

Izvor: vlastita fotografija

Nakon procesa pranja, slijedi proces strojnog mrvljenja i cijedenja jabuka. Taj se proces radi pomoću posebnog mlina koji je prikazan na Slici 5. U mlin se ubace plodovi jabuke, te ih nožići koji se nalaze unutra stroja mrve. Nastavci za mlin stavljaju se prije otvora stroja kako bi se plod dovoljno usitnio. Produkt je kaša koja izlazi iz otvora na stroju, a sakuplja se u plastičnim kantama.



*Slika 5: Mlin za mrvljenje jabuka*

Izvor: vlastita fotografija

Kaša naposljetku ide na hidraulički stroj za prešanje prikazan na Slici 6. Preša se sastoji od mjeha i posude koja djeluje kao sito. Princip je u tome da se kaša stavi u prešu, zatim se mjech puni vodom kako bi mu se povećao volumen te pri tome pritišće kašu i istišće sok. Čvrsti ostaci jabuke zaostaju u posebnom djelu, dok se sok odvaja u posudu. Iskoristivost ekstrakcije tehnološki zrelih jabuka je oko 65 % ukupne mase ploda.



*Slika 6: Preša za jabuke*

Izvor: vlastita fotografija

Prije pasterizacije, jabučni sok se pretače u bačve od 200 L. Pasterizacija je ključan korak jer se deaktiviraju i uništavaju potencijalno patogeni mikroorganizmi u soku. Pasterizator (Slika 7) radi na principu spojenih posuda, gdje donja posuda, kotao u sebi sadrži grijač koji grije vodu i spiralnu cijev kroz koju prolazi jabučni sok, a napunjena je vodom čija je temperatura 85°C. Sok se mora u cijevi zadržati barem 15 sekundi kako bi se uništili štetni mikroorganizmi. Naknadno pasterizirani sok putuje u gornju posudu koja služi kao spremnik i zatim se puni u boce.



*Slika 7: Bačva za sok i pasterizator*

Izvor: vlastita fotografija

Nakon što se sok napuni u boce, ručno se stavlja poklopac te se boce stavljaju na hlađenje (Slika 8), a boce se zatvaraju tehnikom vakuumske zatvaranja.



*Slika 8: Hlađenje jabučnog soka*

Izvor: vlastita fotografija

## **4.2. Proizvodnja jabučnog octa**

OPG Hunjadi koristi stari, tradicionalni način proizvodnje octa. Za proizvodnju octa potreban je jabučni sok. Nakon što se jabuke sprešaju, jabučni se sok stavlja u bačve gdje se ostavlja par dana kako bi se započela fermentacija prirodnim putem (Slika 9). Tu se odvija proces alkoholne fermentacije koja je anaeroban proces, gdje šećer iz jabučnog soka prelazi u alkohol, uz pomoć bakterija i kvasaca. U toj bačvi na kraju fermentacije nastaje jabučno vino. Na vrh bačve stavlja se vrenjača koja služi za ispuštanje plinova nastalih tijekom fermentacije.



*Slika 9: Bačva za alkoholnu fermentaciju i vrenjača*

Izvor: vlastita fotografija

Jabučno vino dalje se pretače u drugu bačvu gdje se dodaju selekcionirani kvasci kako bi se dalje odvijao proces octene fermentacije (Slika 10). Bakterije octene kiseline, acetobakterije prevode alkohol u kiselinu te na taj način se dobiva ocat. U ovom slučaju ocat dozrijeva 2 godine u bačvi prije konzumacije. Kako je octena fermentacija aeroban proces, na bačvu se stavi samo krpa koja prekriva otvor kako bi kvasci i bakterije imali stalni dovod kisika.



*Slika 10: Razvoj gljiva u bačvi za octenu fermentaciju*

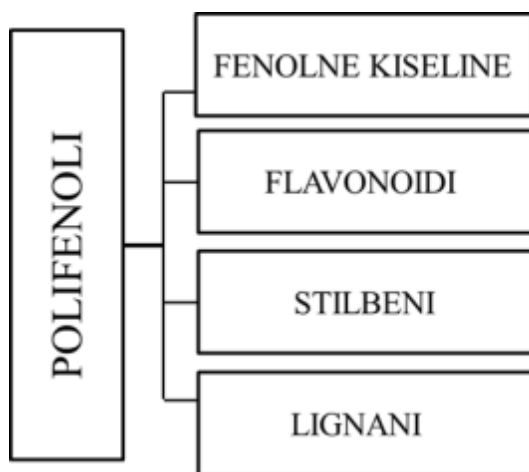
Izvor: vlastita fotografija

## 5. Polifenolni spojevi

Polifenoli su spojevi koji se uvelike nalaze u voću, povrću, čaju, vinu, čokoladi, maslinovom ulju. Polifenoli su najistraživanija skupina biljnih specijaliziranih metabolita, a ima ih u više od 8000 strukturnih verzija. To su tvari s aromatskim prstenovima koji nose jedan ili više hidroksilnih ostataka. Polifenoli se dijele u skupine prema broju fenolnih prstenova i prema vezivnim elementima koji spajaju prstenove [15]. Osnovna podjela polifenola je u 4 skupine: fenolne kiseline, flavonoidi, stilbeni i lignani (Slika 11) [16].

Nalaze se u biljci kao sekundarni ili specijalizirani metaboliti, a u biljci se pojavljuju kao odgovor biljke za vrijeme stresnih uvjeta, sudjeluju u obrani i zaštiti biljaka, privlačenju oprašivača, rastu i razvoju biljaka. Jednim dijelom odgovorni su za senzorske karakteristike hrane poput boje, mirisa i trpkosti [17].

Konzumacija hrane bogate polifenolima ima mnogo pozitivnih, zdravstvenih učinaka na čovjeka. Dokazano je da polifenolni spojevi smanjuju rizike od kroničnih bolesti te su poznati po antioksidacijskim svojstvima. U sve više istraživanja pojavljuju se dokazi da se takvom prehranom štiti stanice od oksidativnog stresa i rizika od bolesti uzrokovane istim. Smanjena je i mogućnost pojave bolesti srca kao što su akutni infarkt ili iznenadna srčana smrt. Polifenoli imaju sposobnost inhibicije LDL oksidacije te štite od kardiovaskularnih bolesti. Pokazuju i učinke u razvoju raka tako što induciraju smanjenje rasta tumora ili broja tumora. Polifenoli imaju antidiabetički učinak tako što utječu na glikemiju putem određenih mehanizama [6].

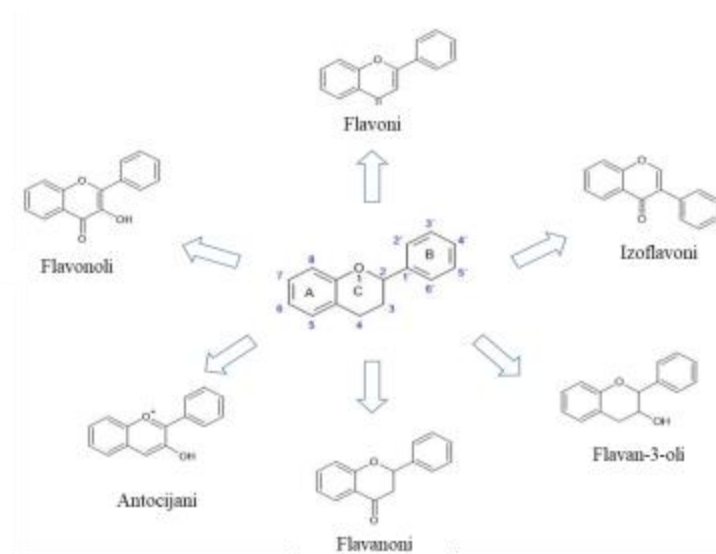


Slika 11: Podjela polifenola

Izvor: D. Šamec i sur. [16]

Flavonoidi spadaju u najistraživaniju skupinu polifenola. Poznato je više od 6000 flavonoida ta se prema klasifikaciji dijele na 6 skupina: flavonole, flavone, flavan-3-ole, flavonone, izoflavone

i antocijanine (Slika 12). Razlikuju se prema heterocikličkom piranskom prstenu u strukturi flavanoida. Osnovna struktura sastoji se od dva benzenska prstena povezanih sa tri atoma ugljika i atomom kisika oblikujući središnji piranski prsten [16].



Slika 12: Podjela flavonoida

Izvor: D. Šamec i sur. [16]

## 6. Praktični dio

### 6.1. Aparatura i pribor

Na početku rada izmjerena je pH svih uzoraka uz pomoć pH-metra (Mettler Toledo; Njemačka) (Slika 13) Uzorci su pomoću mikropipeta, različitih volumena, prenešeni u kivete. Spektrofotometrijska mjerenja izvršena su na spektrofotometru (ONDA UV-21;Kina) (Slika 13) pomoću kojeg je očitana apsorbancija za različite uzorke. Analitička vaga (Adam Equipment; Ujedinjeno Kraljevstvo) korištena je za vaganje natrijevog nitrita ( $\text{NaNO}_2$ ) i natrij molibdata ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ), za pripremu Arnogog reagensa. Navedeni uređaji prikazani su na Slici 1. Također, na Vorteksu (V1-plus, Biosan; Latvija) je vorteksirana smjesa za Arnogog reagens kako bi se svi sastojci otopili.



Slika 13: pH- metar i spektrofotometar

Izvor: vlastita fotografija

### 6.2. Kemikalije

Korištene kemikalije:

- Metanol (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Etanol (GRAM-MOL, Zagreb, Hrvatska)
- galna kiselina (Acros Organics, Kina)
- kavena kiselina (Sigma Aldrich, St. Louis, Sjedinjene Američke Države)
- katehin (Sigma Aldrich, St. Louis, Sjedinjene Američke Države)
- natrij karbonat (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- Folin-Ciocalteu reagens (Sigma-Aldrich, Švicarska)
- natrij nitrit (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- aluminij klorid (Sigma-Aldrich, St. Louis, Sjedinjene Američke Države)
- natrij hidroksid (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska)



- klorovodična kiselina (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- natrij molibdat (Sigma Aldrich, St. Louis, Sjedinjene Američke Države)

### 6.3. Materijali i metode

U svim je uzorcima izmjeren sadržaj ukupnih fenola, flavonoida te fenolnih kiselina u dvije točke mjerenja - odmah nakon otvaranja te nakon dva tjedna skladištenja u hladnjaku na temperaturi 4-8 °C.

#### 6.3.1. Proizvodi i uzorci

Ekološki proizvedeni jabučni sok i ocat nabavljeni su kod lokalnog proizvođača, OPG Hunjadi iz Svete Marije. Ekološki jabučni ocat je proizveden u rujnu 2021. godine, a rok trajanja je neograničen. Jabučni sok je proizveden u listopadu 2022. godine te nakon otvaranja ima rok trajanja od 14 dana, unutar 3 godine.

Konvencionalno proizvedeni sok i ocat kupljeni su u trgovinama. Proizvođač octa je varaždinska tvrtka "Prehrana", a puni je naziv proizvoda: jabučni ocat za pripremu salata i konzerviranje namirnica. Proizvođač konvencionalnog soka od jabuke je "Fis" (Jabuka Fis, 2L). Na slici 6 su prikazani korišteni proizvodi.

Proizvodi su, prema preporuci proizvođača, čuvani na sobnoj temperaturi, dok su nakon otvaranja skladišteni u hladnjaku.



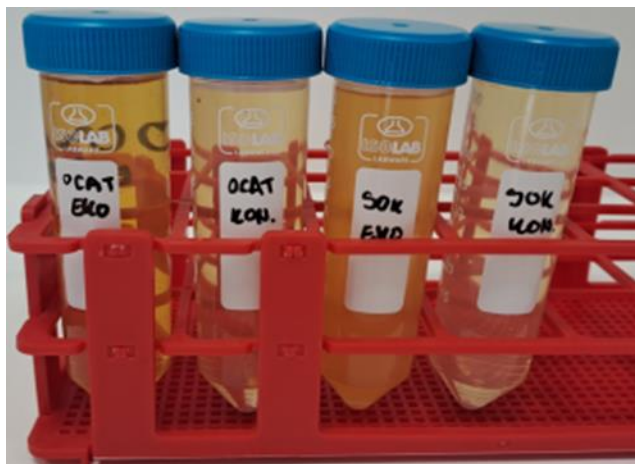
*Slika 14: Proizvodi i uzorci*

Izvor: vlastita fotografija



### 6.3.2. Mjerenje vrijednosti pH

Prije mjerenja pH, uzorke octa i soka prebačeni su u plastične laboratorijske posudice tzv. „falkonice“ s poklopcem, od 50 mL. Za mjerenje vrijednosti pH korišten je pH-metar. Mjerenje je izvršeno na baždarnom instrumentu u tri ponavljanja.



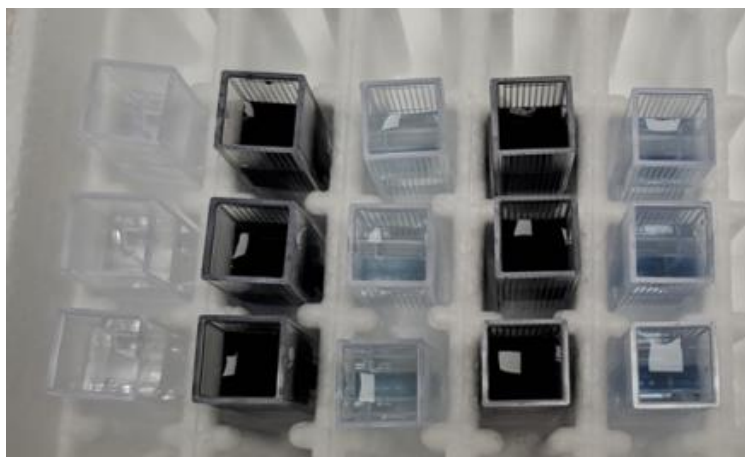
*Slika 15: Ispitivani uzorci*

Izvor: vlastita fotografija

### 6.3.3. Mjerenje ukupnih polifenola

Za određivanje ukupnih polifenola u jabučnom octu i sokovima korištena je metoda po Folin-Ciocalteu. To je kolorimetrijska metoda kojom se određuju ukupni fenoli u voćnim sokovima i drugim biljnim uzorcima. Specifični reagens (Folin-Ciocalteu reagens) se sastoji od fosfomolibdenske i fosfovolframove kiseline te on reagira s fenolnim spojem [18]. Na kraju je vidljivo plavo obojenje kao posljedica reakcije reagensa s fenolnim spojem te se na temelju gustoće boje Folinovog reagensa [19]. Mjeri se apsorbancija na spektrofotometru pri 765 nm [18].

Metoda je rađena u kivetama te su svi uzorci napravljeni u triplikatu. U slijepoj probi dodana je destilirana voda, umjesto uzorka octa ili soka. Postupak je započeo dodavanjem 158  $\mu\text{L}$  destilirane vode u svaku kivetu te dodavanjem 20  $\mu\text{L}$  svakog uzorka. Zatim je uslijedio dodatak Folin-Ciocalteu reagensa u količini 100  $\mu\text{L}$ , nakon čega je sve zajedno promiješano. Nakon toga je otpipetirano 300  $\mu\text{L}$  zasićene otopine natrijeva karbonata te je sve promiješano. Dobivene otopine ostavljene su dva sata u mraku na sobnoj temperaturi, nakon čega je slijedilo mjerenje apsorbancije uzoraka na spektrofotometru pri 765 nm [18]. Za izradu baždarne krivulje korišten je standard galne kiseline te je baždarna krivulja izrađena u rasponu od 50 do 2000  $\mu\text{g/mL}$ . Mjerenja ukupnih polifenola napravljena su ukupno dva puta (Slika 16).



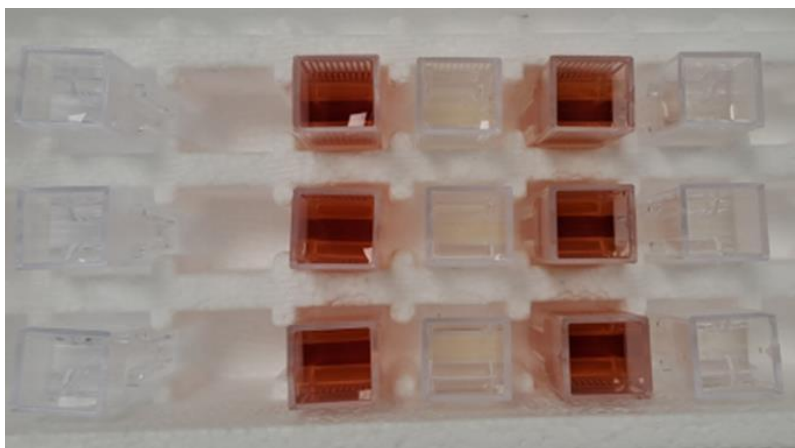
*Slika 16: Prikaz promjene boje usred reakcije*

Izvor: vlastita fotografija

#### **6.3.4. Mjerenje ukupnih flavonoida**

Metoda s  $\text{AlCl}_3$  česta je metoda koja se koristi za određivanje ukupnih flavonoida u biljnim ekstraktima, sokovima i dr. Temelji se na stvaranju kompleksa  $\text{AlCl}_3$ -flavonol, gdje  $\text{AlCl}_3$  predstavlja sredstvo za stvaranje kompleksa. Nakon reakcije kompleksa  $\text{AlCl}_3$ -flavonol vidljivo je žuto do narančasto obojenje, a specifična valna duljina na kojoj se mjeri apsorbancija je 510 nm [20].

Eksperiment je postavljen u kivetama od 2 mL te je započeo dodatkom 800  $\mu\text{L}$  destilirane vode u svaku kivetu. Zatim je u svaku kivetu otpipetirano po 200  $\mu\text{L}$  uzorka te 60  $\mu\text{L}$  5%-tne otopine natrijeva nitrita, čijim dodatkom započinje reakcija. Nakon 5 minuta dodano je 60  $\mu\text{L}$  10%-tne otopine aluminijskoga klorida, a nakon 6 minuta dodano je 400  $\mu\text{L}$  1M otopine natrijeva hidroksida. Na samom kraju u svaku kivetu otpipetirano je 480  $\mu\text{L}$  destilirane vode i sve je dobro promiješano. U slijepoj probi umjesto uzorka dodana je destilirana voda, dok je daljnji postupak isti. Po dodatku svih potrebnih kemikalija, uslijedilo je mjerenje valne duljine na spektrofotometru na 510 nm (Slika 17) [21]. Za izradu baždarnih krivulja korišten je standard katehina te je baždarna krivulja izrađena u rasponu od 50 do 1000  $\mu\text{g/mL}$ .



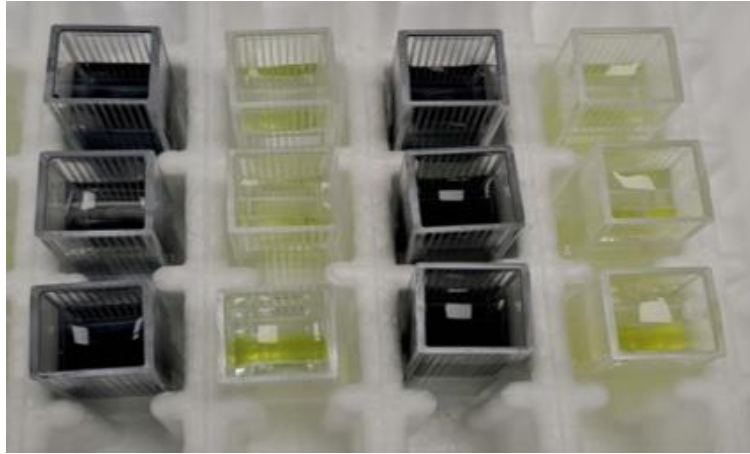
*Slika 17: Prikaz promjene boje usred reakcija*

Izvor: vlastita fotografija

### **6.3.5. Mjerenje fenolnih kiselina**

Određivanje fenolnih kiselina napravljeno je prema protokolu European Pharmacopoeia [22] gdje se koristi svježe pripremljen Arnow reagens.

Za pripremu Arnowog reagensa potrebno je u 10 mL destilirane vode pomiješati 1 g  $\text{NaNO}_2$  s 1,17 g  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Zatim se smjesa pomiješa uz pomoć vorteksa dok se sastav potpuno ne otopi. Nakon što se pripremi svjež Arnow reagens kreće se sa protokolom za određivanje fenolnih kiselina. Postupak se radi u kivetama te je na početku u svaku kivetu otpipetirano 300  $\mu\text{L}$  destilirane vode i 300  $\mu\text{L}$  uzorka. Uslijedilo je dodavanje 100  $\mu\text{L}$  0,5 M klorovodične kiseline i 100  $\mu\text{L}$  Arnowog reagensa. Naposljetku je dodano još 100  $\mu\text{L}$  destilirane vode. Sastav se dobro promiješao te je izmjerena apsorbancija svih uzoraka na spektrofotometru pri 505 nm [22]. Za izradu baždarne krivulje korišten je standard kavene kiseline te je baždarna krivulja izrađena u rasponu od 20 do 300  $\mu\text{g/mL}$ .



*Slika 18: Prikaz promjene boje usred reakcije*

Izvor: vlastita fotografija

## 7. Analiza rezultata

### 7.1. Vrijednost pH

U Tabeli 1 i Tabeli 2 prikazani su rezultati mjerenja vrijednosti pH.

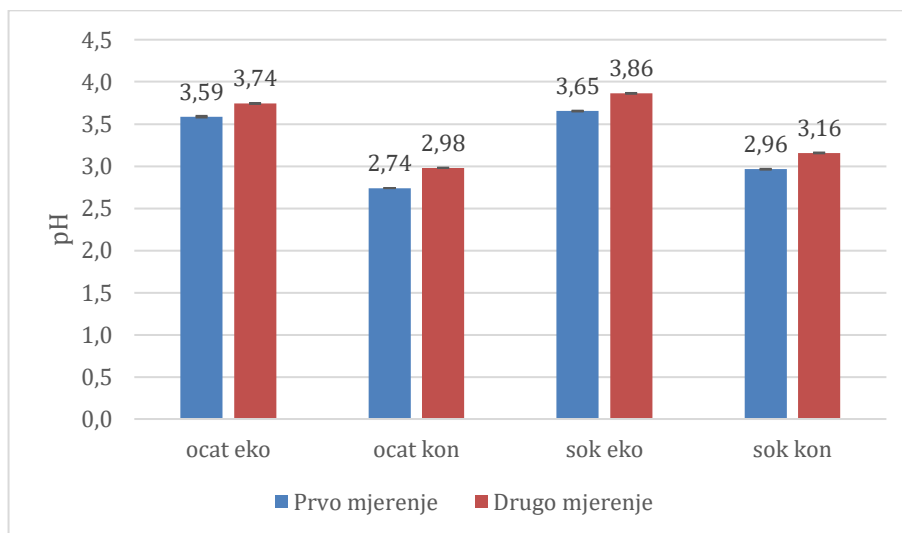
Uzorci	Izmjerena vrijednost pH			
	1	2	3	Srednja vrijednost ± st.dev.
Ocat ekološki	3,60	3,58	3,58	3,59± 0,01
Ocat konvencionalni	2,74	2,74	2,74	2,74 ± 0,00
Sok ekološki	3,66	3,65	3,65	3,65 ± 0,00
Sok konvencionalni	2,97	2,96	2,96	3,96 ± 0,00

Tablica 1: Rezultati mjerenja vrijednosti pH

Uzorci	Izmjerena vrijednost pH			
	1	2	3	Srednja vrijednost ± st.dev.
Ocat ekološki	3,74	3,75	3,74	3,74 ± 0,00
Ocat konvencionalni	2,98	2,98	2,98	2,98 ± 0,00
Sok ekološki	3,87	3,86	3,86	3,86 ± 0,00
Sok konvencionalni	3,15	3,16	3,16	3,16 ± 0,00

Tablica 2: Rezultati mjerenja vrijednosti pH nakon dva tjedna

Slika 19 usporedno prikazuje rezultate mjerenja vrijednosti pH ekološkog octa i soka te konvencionalnog octa i soka u razmaku od 2 tjedna.



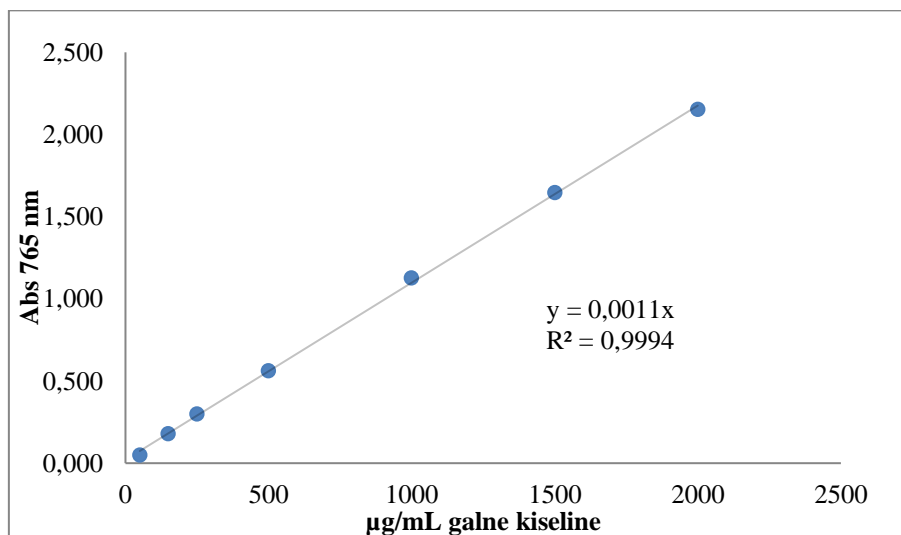
*Slika 19: Prikaz vrijednosti pH uzoraka*

Iz rezultata je vidljivo da ekološki ocat ( $3,59 \pm 0,01$ ) i ekološki sok ( $3,65 \pm 0,00$ ) imaju nešto više vrijednosti pH od konvencionalnog octa ( $2,74 \pm 0,00$ ) i soka ( $2,96 \pm 0,00$ ). Nakon stajanja svih uzoraka dva tjedna, vidljiv je porast pH vrijednosti kod svih uzoraka: ekološki ocat ( $3,74 \pm 0,00$ ), ekološki sok ( $3,86 \pm 0,00$ ), konvencionalni ocat ( $2,98 \pm 0,00$ ), konvencionalni sok ( $3,16 \pm 0,00$ ).

Iz istraživanja S. Dobričevića i sur. [23], na temu “Kakvoća prirodnog octa od različitih sorti jabuka“, doznajemo da ukupna kiselost i pH octa ovisi o različitim sortama jabuka koje se koriste u proizvodnji octa i sastavu voćnih kiselina te o prirodnoj fermentaciji. Kod proizvodnje konvencionalnog octa fermentacija je kontrolirana pa je i udio jabučne kiseline viši, što rezultira nižim pH [23].

## 7.2. Ukupni polifenoli

Za određivanje ukupnih polifenola prvo je kreirana baždarni pravac galne kiseline (Slika 20) napravljen prema koncentracijama u rasponu od 50 do 2000  $\mu\text{g/mL}$  galne kiseline. Dobivena jednadžba baždarnog pravca,  $y=0,0011x$  služi za izračun koncentracije ukupnih polifenola iz uzoraka.



Slika 20: Baždarni pravac otopine galne kiseline

U Tabeli 3 i Tabeli 4 nalaze se prikazani rezultati spektrofotometrijskog mjerenja apsorbanci triplikata uzoraka pri valnoj duljini od 765 nm iz kojih su izračunate količine galne kiseline prema baždarnom pravcu te su rezultati prikazani na Slici 21.

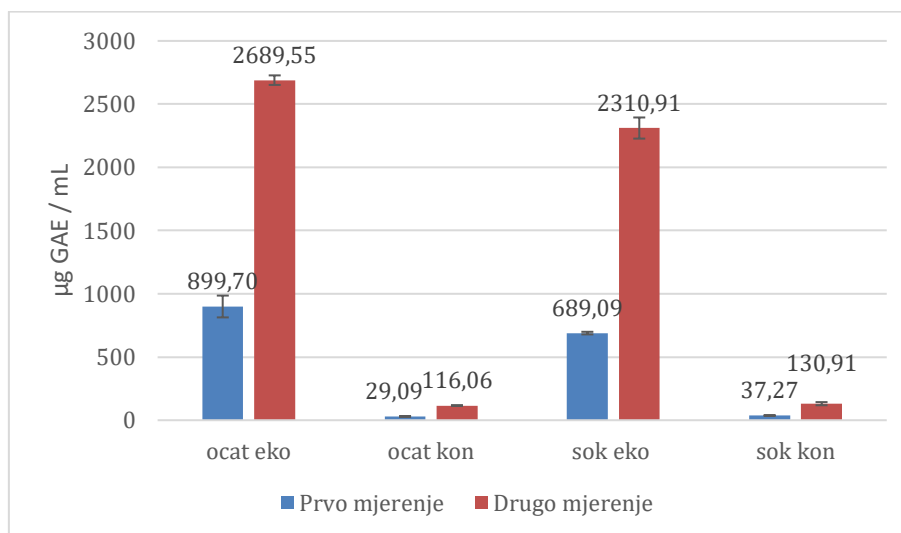
Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 765 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	0,900	0,948	1,121
Ocat konvencionalni	0,032	0,033	0,031
Sok ekološki	0,764	0,742	0,768
Sok konvencionalni	0,043	0,044	0,036

Tablica 3: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih polifenola

Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 765 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	2,917	-	3
Ocat konvencionalni	0,129	0,128	0,126
Sok ekološki	2,412	2,608	2,606
Sok konvencionalni	0,150	0,157	0,125

Tablica 4: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih polifenola nakon dva tjedna

Udio ukupnih polifenola iskazuje se u mikrogramima galne kiseline po mililitru ( $\mu\text{g GAE/mL}$ ). Vrijednosti prikazane na slici odnose se na udio polifenola kod prvog mjerenja i udio polifenola dva tjedna nakon stajanja u hladnjaku.



Slika 21: Sadržaj ukupnih polifenola

Iz rezultata je vidljivo da kod prvog mjerenja ekološki ocat ima najvišu vrijednost sadržaja ukupnih polifenola, ( $899,70 \pm 86,28 \mu\text{g GAE/mL}$ ), dok najmanju vrijednost sadržaja ukupnih polifenola ima konvencionalni ocat ( $29,09 \pm 0,74 \mu\text{g GAE/mL}$ ). Zatim, vidljivo je da ekološki sok ( $689,09 \pm 10,39 \mu\text{g GAE/mL}$ ) sadrži nešto nižu koncentraciju ukupnih polifenola od ekološkog octa, ali oba ekološka proizvoda imaju više vrijednosti ukupnih polifenola u usporedbi s konvencionalnim octom ( $29,09 \pm 0,74 \mu\text{g GAE/mL}$ ) i sokom ( $37,27 \pm 3,24 \mu\text{g GAE/mL}$ ). Što se tiče rezultata nastalih nakon dva tjedna stajanja uzoraka, vidljivo je povećanje vrijednosti ukupnih polifenola kod svih uzoraka. Kod ekološkog octa vidljiva je najveća vrijednost ukupnih polifenola ( $2689,55 \pm 37,73 \mu\text{g GAE/mL}$ ), a najmanju vrijednost ima konvencionalni ocat ( $116,06 \pm 1,13 \mu\text{g GAE/mL}$ ). Ekološki sok ima nešto manju vrijednost ( $2310,91 \pm 83,57 \mu\text{g GAE/mL}$ ) od ekološkog octa, a kod konvencionalnih uzorka sok ( $130,91 \pm 12,49 \mu\text{g GAE/mL}$ ) ima nešto višu vrijednost od octa.

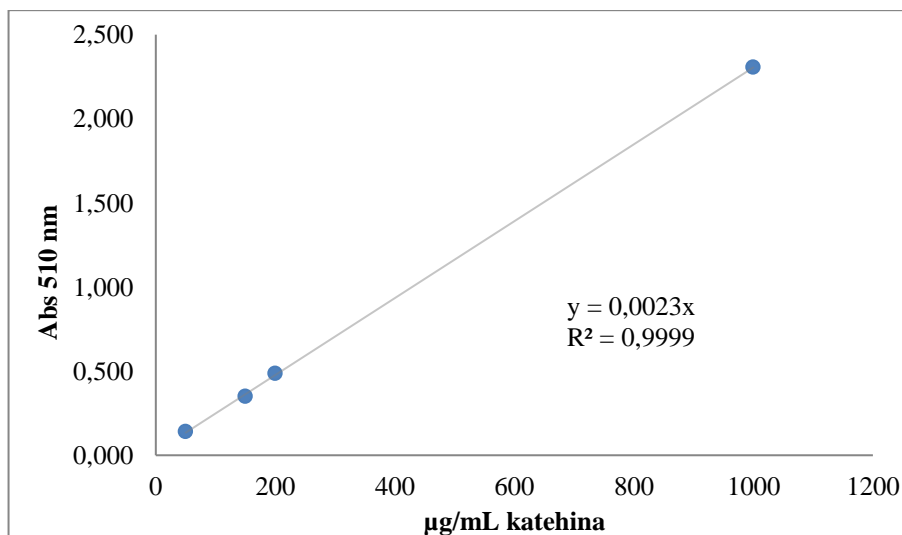
Usporedbom između ekoloških i konvencionalnih uzoraka, ekološki uzorci soka i octa svakako imaju više vrijednosti ukupnih polifenola od konvencionalnih uzoraka, kod oba mjerenja. To je u skladu s literaturnim podacima gdje je već prikazano da polifenolni sastav ekološki uzgojenih jabuka, u usporedbi s konvencionalnim sadrže više koncentracije polifenola. Zbog pojačanog odgovora biljaka na stres u organskom susatvu, imaju više koncentracije polifenola nego voće uzgojeno u konvencionalnom sustavu [24].

Također primijećen je porast u sadržaju ukupnih polifenola u svim uzorcima nakon stajanja. Takav trend također je već poznat u literaturi [25] za različite vrste sokova, a povezuje se s mogućom hidrolizom nekih spojeva ili njihovim oslobađanjem iz složenih molekula.



### 7.3. Ukupni flavonoidi

Za određivanje ukupnih flavanoida prvo je kreirana baždarni pravac katehina (Slika 21) napravljen prema koncentracijama u rasponu od 50 do 2000  $\mu\text{g/mL}$  katehina. Dobivena jednadžba baždarnog pravca,  $y=0,0023x$  služi za izračun koncentracije ukupnih flavonoida iz uzorka.



Slika 22: Baždarni pravac otopine katehina

U Tabeli 5 i Tabeli 6 nalaze se prikazani rezultati spektrofotometrijskog mjerenja apsorbanci triplikata uzoraka pri valnoj duljini od 510 nm.

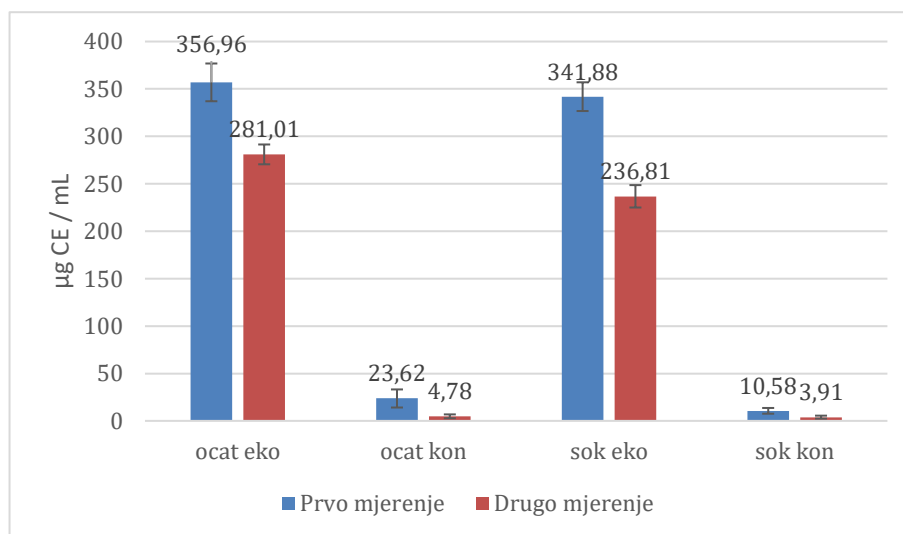
Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 510 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	0,866	0,838	0,758
Ocat konvencionalni	0,039	0,038	0,045
Sok ekološki	0,757	0,766	0,835
Sok konvencionalni	0,025	0,032	0,015

Tablica 5: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih flavonoida

Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 510 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	0,663	0,663	0,612
Ocat konvencionalni	0,014	0,014	0,004
Sok ekološki	0,516	0,536	0,581
Sok konvencionalni	0,013	0,009	0,004

Tablica 6: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih flavonoida nakon dva tjedna

Slika 23 prikazuje sadržaj ukupnih flavonoida iskazanih u vrijednosti ekvivalenta katehina ( $\mu\text{g CE/mL}$ ).



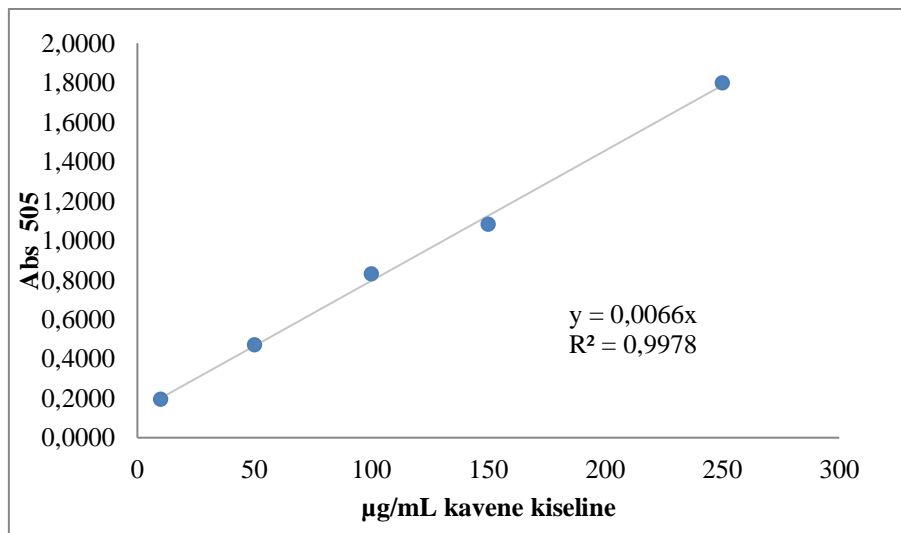
Slika 23: Sadržaj ukupnih flavonoida

Vidljivo je da kod prvog mjerenja, ekološki ocat ima najviši sadržaj flavonoida ( $356,96 \pm 19,90 \mu\text{g CE/ml}$ ), dok je vrijednost ekološkog soka nešto niža ( $341,88 \pm 15,15 \mu\text{g CE/mL}$ ). Najmanju vrijednost sadržaja ukupnih flavonoida ima konvencionalni sok ( $10,58 \pm 3,03 \mu\text{g CE/mL}$ ), dok nešto veću vrijednost ima konvencionalni ocat ( $23,62 \pm 9,53 \mu\text{g CE/mL}$ ). Uspoređujući ekološke uzorke soka i octa i konvencionalne uzorke, jasno je da ekološki uzorci sadrže više koncentracije ukupnih flavonoida od konvencionalnih uzoraka. Rezultati prikazuju da se sadržaj ukupnih flavonoida, nakon dva tjedna stajanja uzoraka, smanjio u svim ispitivanim uzorcima. Prema tome, najvišu vrijednost sadržaja ukupnih flavonoida ima ekološki ocat ( $281,01 \pm 10,45 \mu\text{g CE/mL}$ ), kao i kod prvog mjerenja, dok ekološki sok ( $236,81 \pm 11,82 \mu\text{g CE/mL}$ ) ima nešto niže koncentracije ukupnih flavonoida. Najmanju vrijednost ima konvencionalni sok ( $3,91 \pm 1,60 \mu\text{g CE/mL}$ ), dok konvencionalni ocat ima nešto veću vrijednost ( $4,78 \pm 2,05 \mu\text{g CE/mL}$ ). Komparacijom ekoloških uzoraka i konvencionalnih uzoraka, veći sadržaj ukupnih flavonoida svakako sadrže uzorci ekološke proizvodnje.

U provedenom istraživanju polifenolnog sastava jabuka uzgojenih na ekološki način i konvencionalni način, navedeno je da organski uzgojene jabuke u usporedbi s konvencionalno uzgojenim jabukama imaju više koncentracije flavonoida (prosječno 66 % više) [24].

## 7.4. Fenolne kiseline

Za određivanje fenolnih kiselina prvo je kreirani baždarni pravac kavene kiseline (Slika 24), napravljen prema koncentracijama u rasponu od 10 do 250 µg/mL kavene kiseline. Dobivena jednadžba baždarnog pravca  $y = 0,0066x$  služi za izračun fenolnih kiselina iz uzoraka.



Slika 24: Baždarni pravac otopine kavene kiseline

Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja triplikata uzoraka, pri 505 nm prikazani su u Tabeli 7 i Tabeli 8. Potvrđena je reproducibilnost rezultata zbog dobivenih sličnih vrijednosti i točnosti istih.

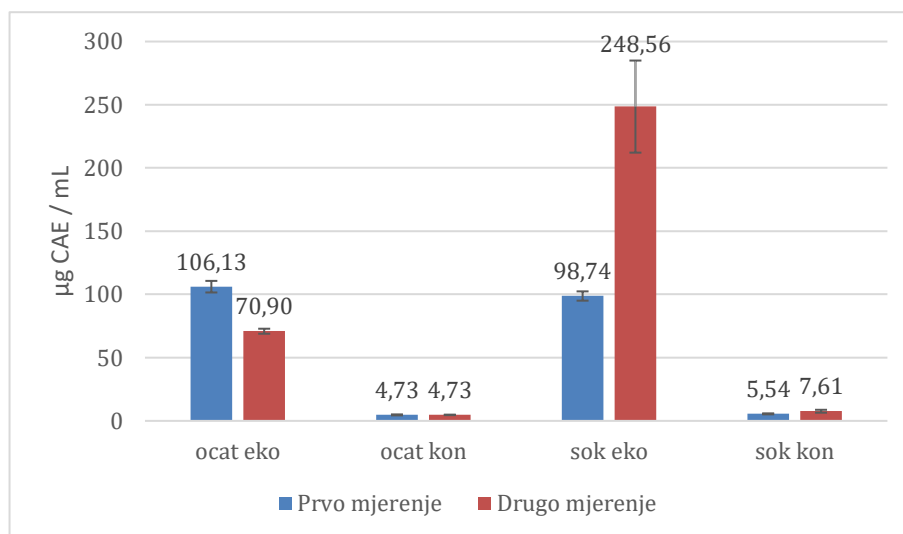
Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 505 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	0,827	0,785	0,744
Ocat konvencionalni	0,033	0,039	0,033
Sok ekološki	0,714	0,709	0,769
Sok konvencionalni	0,044	0,042	0,037

Tablica 7: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja fenolnih kiselina

Uzorci	Apsorpcijska vrijednost pri 505 nm		
	1	2	3
Ocat ekološki	0,535	0,504	0,535
Ocat konvencionalni	0,034	0,034	0,037
Sok ekološki	1,842	2,168	1,508
Sok konvencionalni	0,048	0,053	0,068

Tablica 8: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja fenolnih kiselina nakon dva tjedna

Udio fenolnih kiselina izražava se u mikrogramima kavene kiseline po mililitru uzorka ( $\mu\text{g CAE/mL}$ ).



Slika 25: Sadržaj fenolnih kiselina

Iz grafa je vidljivo da kod prvog mjerenja najviše vrijednosti imaju ekološki ocat ( $106,13 \pm 4,58 \mu\text{g CAE/mL}$ ) i sok ( $98,74 \pm 3,67 \mu\text{g CAE/mL}$ ), dok konvencionalni ocat ( $4,73 \pm 0,38 \mu\text{g CAE/mL}$ ) i sok ( $5,54 \pm 0,40 \mu\text{g CAE/mL}$ ) imaju puno manje vrijednosti. Može se primijetiti visoki porast vrijednosti fenolnih kiselina kod ekološkog soka ( $248,56 \pm 36,41 \mu\text{g CAE/mL}$ ), nakon stajanja dva tjedna u hladnjaku. Također i kod konvencionalnog soka vidi se blagi porast vrijednosti sadržaja fenolnih kiselina ( $7,61 \pm 1,15 \mu\text{g CAE/mL}$ ). Rezultati ekološkog octa ( $70,90 \pm 1,97 \mu\text{g CAE/mL}$ ) prikazuju da se koncentracija fenolnih kiselina smanjila, a kod konvencionalnog octa je rezultat ostao nepromijenjen ( $4,73 \pm 0,91 \mu\text{g CAE/mL}$ ).

U provedenom istraživanju polifenolnog sastava više vrsta voća, navedeno je da organski uzgojene jabuke u usporedbi s konvencionalno uzgojenim jabukama imaju više koncentracije fenolnih kiselina (prosječno 31 %) [24].

## 8. Zaključak

Ekološka poljoprivreda ili “poljoprivreda sutrašnjice“ je sustav koji obuhvaća cjelokupno upravljanje gospodarstvom prema određenim smjernicama, za dobrobit čovjeka i prirode. Zasniva se na korištenju obnovljivih resursa, potiče razvoj proizvoda lokalne zajednice, potiče korištenje prirodnih preparata i doprinosi razvoju održivog ekosustava. U Hrvatskoj stalno raste broj gospodarstava pod ekološkom proizvodnjom od čega su najzastupljeniji nasadi krušaka, šljiva, trešanja i jabuka [26].

Jabuka (*Malus domestica* Borkh.) višegodišnje je drvo koje potječe s područja Kine. Zbog odgovarajućih ekoloških i klimatskih uvijeta, u Hrvatskoj je uzgoj jabuke uvelike zastupljen kako u konvencionalnoj proizvodnji tako i u ekološkoj proizvodnji. Jabuka je bogata vitaminima, mineralima i bioaktivnim komponentama, poput polifenola. Polifenoli su fitokemikalije koje doprinose zdravlju čovjeka te imaju antioksidacijska svojstva.

U ovom radu napravljeno je ispitivanje polifenolnog sastava 4 uzoraka: ekološkog jabučnog octa, ekološkog jabučnog soka, konvencionalnog jabučnog octa i konvencionalnog jabučnog soka. Za svaki uzorak ispitan je sastav ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina. Najviše vrijednosti u svim mjerenjima imali su ekološki proizvodi u usporedbi s konvencionalnim proizvodima.

## 9. Literatura

- [1] J.E. Jackson: Biology of apples and pears, Cambridge University Press, New York 2003.
- [2] I. Krpina: Voćarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2004.
- [3] Euractiv.hr, Budućnost eko poljoprivrede, pristupljeno: 26.6.2024  
<https://euractiv.hr/poljoprivreda/a2711/Hrvatska-je-znatno-povecala-povrsine-za-eko-poljoprivredu-ali-stv>
- [4] Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ribarstva: Svjetski dan jabuka, 20. listopada, 2020., pristupljeno: 27.7.2024.  
<https://poljoprivreda.gov.hr/print.aspx?id=4213&url=print>
- [5] Harvard T.H. Chan, The nutrition source, pristupljeno: 26.8.2024.  
<https://nutritionsource.hsph.harvard.edu/food-features/apples/>
- [6] K.B. Pandey, S. Rizvi: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, Oxidative medicine nad cellular longevity, 2(5), 2009, str. 270-278
- [7] Ministarstvo poljoprivrede, Ekološka, pristupljeno: 26.8.2024.  
<https://poljoprivreda.gov.hr/ekoloska/199>.
- [8] IFOAM, Organics international: The Four Principles of Organic Agriculture, pristupljeno: 22.5.2024.  
<https://www.ifoam.bio/why-organic/shaping-agriculture/four-principles-organic>
- [9] D. Znaor: Ekološka poljoprivreda: poljoprivreda sutrašnjice, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.
- [10] Eur-Lex, Uredba (EU) 2018/848 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. svibnja 2018. o ekološkoj proizvodnji i označivanju ekoloških proizvoda, pristupljeno: 5.9.2024.  
2018/848  
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A32018R0848>
- [11] S. Dorotić: Ekonomika ekološke proizvodnje jabuka, Diplomski rad, Agronomski fakultet, Zagreb, 2016.
- [12] M. L. Krauter, Bio vrt - Povrtnjak, voćnjak, cvijetnjak, biološko, organsko, prirodno, Marjan tisak, Split, 2008.
- [13] V. P. Nemeč: Ekološko voćarstvo-uzgoj jabuka, Glasnik zaštite bilja, 35(3), 2012, str. 80-90
- [14] Gospodarski list: Ekološki uzgoj jabuka, pristupljeno:6.9.2024.
- [15] X. Han, T. Shen, H. Lou: Dietary Polyphenols and Their Biological Significance, International Journal of Molecular Science, 8(9), 2007, str. 950-988
- [16] D. Šamec, E. Karalija, I. Šola, V. Vujčić Bok, B. Salopek- Sondi: The Role of Polyphenols in Abiotic Stress Response: The Influence of Molecular Structure Plants, Plants,

10(1), 2021,118

[17] A. Borelli, M. Biagi, M. Corsini, G. Bainsi, G. Cappelluci, E. Miraldi: Polyphenols: From Theory to Practice, *Foods*, 10(11), 2021, 2595

[18] V. L. Singleton, J. A. Rossi: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 1956, str. 144-158

[19] C. Palazzo de Mello, G. C. Lopes, A. Blainski, Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L, *Molecules*, 18, 2013, str. 6853-6854

[20] A. M. Shraim, T. A. Ahmed, M. M. Rahman, Y. M. Hijji: Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation, *LWT – Food Science and Technology*, 150, 2021, 111932.

[21] J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming: The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals, *Food Chemistry*, 64, 1999, str. 555-559

[22] M. Zovko Končić, D. Kremer, J. Gruz, M. Strnad, G. Biševac, I. Kosalec, D. Šamec, J. Piljac-Žegarac, K. Karlović: Antioxidant and antimicrobial properties of *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2010. str. 1537-1542

[23] S. Voća, N. Dobričević, Z. Čmelik, I. Crnčić., Z. Šindrak, J. Družić: Kakvoća prirodnog octa od različitih sorti jabuka, *Pomologia Croatica*, 13(1), 2007, str. 41-48.

[24] D. Średnicka-Tober, M. Baranski, R. Kazimierczak, A. Ponder, K. Kopczynska, E. Hallmann: Selected Antioxidants in Organic vs. Conventionally Grown Apple Fruits, *Applied Sciences*, 10(9), 2020, 2997.

[25] J. Piljac-Žegarac, L. Valek, S. Martinez, A. Belščak: Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage, *Food Chemistry* 113(2), 2009, str. 394-400

[26] K. Batelja Lodeta, J. Gugić, Z. Čmelik: Ekološka poljoprivreda u Europi i Hrvatskoj s osvrtom na stanje u voćarstvu, *Pomologia Croatica*, 17, 2011., str. 135-148

## 10. Popis slika

Slika 1: Oznaka EKO proizvoda za EU i Republiku Hrvatsku .....	12
Slika 2: Cvijet, plod i listovi jabuke .....	13
Slika 3: Sorte pogodne za ekološki uzgoj: 1-Vista Bella; 2- Stark Earliet; 3- James Grieve.....	15
Slika 4: Kašete za prijenos jabuka .....	16
Slika 5: Mlin za mrvljenje jabuka.....	17
Slika 6: Preša za jabuke .....	17
Slika 7: Bačva za sok i pasterizator .....	18
Slika 8: Hlađenje jabučnog soka.....	18
Slika 9: Bačva za alkoholnu fermentaciju i vrenjača.....	19
Slika 10: Razvoj gljiva u bačvi za octenu fermentaciju .....	19
Slika 11: Podjela polifenola.....	20
Slika 12: Podjela flavonoida.....	21
Slika 13: pH- metar i spektrofotometar .....	22
Slika 14: Proizvodi i uzorci .....	23
Slika 15: Ispitivani uzorci.....	24
Slika 16: prikaz promjene boje usred reakcije.....	25
Slika 17: Prikaz promjene boje usred reakcija .....	26
Slika 18: Prikaz promjene boje tijekom reakcije.....	27
Slika 19: Prikaz vrijednosti pH uzoraka .....	29
Slika 20: Baždarni pravac otopine galne kiseline.....	30
Slika 21: Sadržaj ukupnih polifenola.....	31
Slika 22: Baždarni pravac otopine katehina .....	32
Slika 24: Sadržaj ukupnih flavonoida.....	33
Slika 25: Baždarni pravac otopine kavene kiseline .....	34
Slika 26: Sadržaj fenolnih kiselina .....	35



## 11. Popis tablica

Tablica 1: Rezultati mjerenja vrijednosti pH.....	28
Tablica 2: Rezultati mjerenja vrijednosti pH nakon dva tjedna .....	28
Tablica 3: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih polifenola .....	30
Tablica 4: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih polifenola nakon dva tjedna .....	30
Tablica 5: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih flavonoida .....	32
Tablica 6: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih flavonoida nakon dva tjedna .....	32
Tablica 7: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja fenolnih kiselina.....	34
Tablica 8: Rezultati spektrofotometrijskog mjerenja fenolnih kiselina nakon dva tjedna .....	34



## IZJAVA O AUTORSTVU

Završni/diplomski/specijalistički rad isključivo je autorsko djelo studenta koji je isti izradio te student odgovara za istinitost, izvornost i ispravnost teksta rada. U radu se ne smiju koristiti dijelovi tuđih radova (knjiga, članaka, doktorskih disertacija, magistarskih radova, izvora s interneta, i drugih izvora) bez navođenja izvora i autora navedenih radova. Svi dijelovi tuđih radova moraju biti pravilno navedeni i citirani. Dijelovi tuđih radova koji nisu pravilno citirani, smatraju se plagijatom, odnosno nezakonitim prisvajanjem tuđeg znanstvenog ili stručnoga rada. Sukladno navedenom studenti su dužni potpisati izjavu o autorstvu rada.

Ja, Elena Hunjadi (*ime i prezime*) pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor/ica završnog rada pod naslovom Određivanje ukupnih polifenola, flavonoida i fenolnih kiselina u soku i octu od jabuke iz konvencionalnog i ekološkog uzgoja (*upisati naslov*) te da u navedenom radu nisu na nedozvoljeni način (bez pravilnog citiranja) korišteni dijelovi tuđih radova.

Student/ica:  
(*upisati ime i prezime*)

Hunjadi Elena  
(*vlastoručni potpis*)

Sukladno članku 58., 59. i 61. Zakona o visokom obrazovanju i znanstvenoj djelatnosti završne/diplomske/specijalističke radove sveučilišta su dužna objaviti u roku od 30 dana od dana obrane na nacionalnom repozitoriju odnosno repozitoriju visokog učilišta.

Sukladno članku 111. Zakona o autorskom pravu i srodnim pravima student se ne može protiviti da se njegov završni rad stvoren na bilo kojem studiju na visokom učilištu učini dostupnim javnosti na odgovarajućoj javnoj mrežnoj bazi sveučilišne knjižnice, knjižnice sastavnice sveučilišta, knjižnice veleučilišta ili visoke škole i/ili na javnoj mrežnoj bazi završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice, sukladno zakonu kojim se uređuje umjetnička djelatnost i visoko obrazovanje.

## Turnitin Originality Report

Processed on: 22-Sep-2024 3:17 PM CEST  
ID: 2461531688  
Word Count: 6296  
Submitted: 1

Elena\_Hunjadi\_Završni\_20.09.24..docx By Elena Hunjadi

Similarity by Source	
Similarity Index	
8%	
Internet Sources:	7%
Publications:	0%
Student Papers:	4%