

# Utjecaj temperature i vremena sušenja na udio ekstrahiranih fenolnih tvari iz tropa grožđa

---

Greganić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:756335>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-15**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Katarina Greganić**

**UTJECAJ TEMPERATURE I VREMENA SUŠENJA NA UDIO  
EKSTRAHIRANIH FENOLNIH TVARI IZ TROPA GROŽĐA**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, veljača, 2015.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Katedra za tehnološke operacije  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Tehnološke operacije II  
**Tema rada** je prihvaćena na IV. sjednici Odbora za završne i diplomske ispite Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 23. siječnja 2015.  
**Mentor:** *Mirela Planinić*, izv. prof. dr. sc.

**Utjecaj temperature i vremena sušenja na udio ekstrahiranih fenolnih tvari iz tropa grožđa**  
*Katarina Greganić, 2375/03*

**Sažetak:**

U ovom radu ispitan je utjecaj temperature i vremena sušenja na udio ekstrahiranih fenolnih spojeva (ukupni fenolni spojevi, UFS<sub>FC</sub> i UFS<sub>PB</sub>; ukupni flavonoidi, UF; ukupni proantocijanidini UPA) te na antioksidacijsku aktivnost (AA) ekstrakta tropa grožđa. Istraživanje je provedeno na tropu dviju sorti grožđa, Taraminac i Portugizac. Sušenje je provedeno u fluidiziranom sloju na različitim temperaturama (60 °C, 70 °C i 80 °C) tijekom 90 minuta, 135 minuta i 180 minuta. Ekstrakcija fenolnih spojeva je provedena iz vlažnog i sušenog tropa grožđa na 80 °C, 50 %-tnom vodenom otopinom etanola tijekom 120 minuta na 200 rpm.

Udio fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost ekstrakata tropa grožđa određena je spektrofotometrijskim metodama. Udio fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost ekstrakata vlažnog tropa grožđa kod sorte Traminac iznosili su 80,04 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 38,36 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 47,38 mg<sub>CE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 30,74 mg/g<sub>s.t.</sub>, 0,43 g<sub>inhDPPH/g<sub>s.t.</sub></sub> za UFS<sub>FC</sub>, UFS<sub>PB</sub>, UF, UPA i AA. Vrijednosti udjela fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost ekstrakata sušenog tropa grožđa bile su do 32,7% i 31,7% više za UFS<sub>FC</sub> i UFS<sub>PB</sub> i do 16,8%, 35,4% i 39,5% niže za UF, UPA i AA. Udio fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost ekstrakata vlažnog tropa grožđa kod sorte Portugizac iznosili su 73,83 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 39,15 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 42,24 mg<sub>CE/g<sub>s.t.</sub></sub>, 30,53 mg/g<sub>s.t.</sub>, 0,35 g<sub>inhDPPH/g<sub>s.t.</sub></sub> za UFS<sub>FC</sub>, UFS<sub>PB</sub>, UF, UPA i AA. Vrijednosti udjela fenolnih spojeva i antioksidacijska aktivnost ekstrakata sušenog tropa grožđa bile su do 13,2%, 22,3%, 15,3%, 43,1% i 20% niže za UFS<sub>FC</sub> i UFS<sub>PB</sub>, UF, UPA i AA.

**Ključne riječi:** trop grožđa, sušenje, fluidizacija, fenolni spojevi, antioksidacijska aktivnost

**Rad sadrži:** 49 stranica  
23 slike  
5 tablica  
30 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

- |    |   |               |
|----|---|---------------|
| 1. | dr. sc. <i>Srećko Tomas</i> , izv. prof.    | predsjednik   |
| 2. | dr. sc. <i>Mirela Planinić</i> , izv. prof. | član-mentor   |
| 3. | dr. sc. <i>Ana Bucić-Kojić</i> , izv. prof. | član          |
| 4. | dr. sc. <i>Marina Tišma</i> , doc.          | zamjena člana |

**Datum obrane:** 27. veljače 2015.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

**University Josip Juraj Strossmayer in Osijek**  
**Faculty of Food Technology Osijek**  
**Department of Process engineering**  
**Subdepartment of Unit operations**  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Unit operations II  
**Thesis subject** was approved by the Broad for Final and Graduate Exams of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. IV held on January 23, 2015.  
**Mentor:** *Mirela Planinić*, PhD, associate professor

**Influence of temperature and drying time on the proportion of extracted phenolic compounds from grape pomace**

*Katarina Greganić, 2375/03*

### Summary:

The aim of this work was to investigate the influence of temperature and drying time on some of the extracted phenolic compounds (total phenolic compounds, TPC\_FC and TPC\_PB; total flavonoids, TF; total proanthocyanidins TPA) and on the antioxidant activity (AA) of grape pomace extract. The study was carried out on two grape varieties, Traminac and Portogizac. Drying was carried out in a liquefied layer at different temperatures (60 °C, 70 °C, 80 °C) for 90 minutes, 135 minutes and 180 minutes. The extraction of phenolic compounds was carried out on moist and dry grape pomace at 80 °C with a 50 % water-ethanol solution for 120 minutes at 200 rpm. The proportion of phenolic compounds and the antioxidant activity of grape pomace was determined by spectrophotometric methods. The content of phenolic compounds and antioxidant activity of wet grape pomace extract in Traminac variety were 80.04 mg<sub>GAE/g<sub>db</sub></sub>, 38.36 mg<sub>GAE/g<sub>db</sub></sub>, 47.38 mg<sub>CE/g<sub>db</sub></sub>, 30.74 mg/g<sub>db</sub> and 0.43 g<sub>inhDPPH/g<sub>db</sub></sub> for TPC\_FC, TPC\_PB, TF, TPA and AA, respectively. The percentage of phenolic compounds and antioxidant activity of the dry grape pomace extract was 32.7 % and 31.7 % higher for TPC\_FC and TPC\_PB, and 16.8 %, 35.4 % and 39.5 % lower for TF, TPA and AA, respectively. The levels of phenolic compounds and antioxidant activity of Portogizac wet grape pomace extract were 73.83 mg<sub>GAE/g<sub>db</sub></sub>, 39.15 mg<sub>GAE/g<sub>db</sub></sub>, 42.24 mg<sub>CE/g<sub>db</sub></sub>, 30.53 mg/g<sub>db</sub> and 0.35 g<sub>inhDPPH/g<sub>db</sub></sub> for TPC\_FC, TPC\_PB, TF, TPA and AA, respectively. The percentage of phenolic compounds and antioxidant activity of the dry grape pomace extract was 13.2 %, 22.3 %, 15.3 %, 43.1 % and 20 % lower for TPC\_FC, TPC\_PB, TF, TPA and AA, respectively.

**Key words:** grape pomace, drying, fluidized bed, phenolic compounds, antioxidant activity

**Thesis contains:** 49 pages  
23 figures  
5 tables  
30 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Srećko Tomas</i> , PhD, associate prof.    | chair person |
| 2. <i>Mirela Planinić</i> , PhD, associate prof. | supervisor   |
| 3. <i>Ana Bucić-Kojić</i> , PhD, associate prof. | member       |
| 4. <i>Marina Tišma</i> , PhD, assistant prof.    | stand-in     |

**Defense date:** February 27, 2015.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Mireli Planinić na svestranoj pomoći, razumijevanju, strpljivosti i odvojenom vremenu tijekom izrade ovog rada.*

*Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Ani Bucić-Kojić na pomoći, brojnim savjetima i stručnim komentarima. Neizmjereno hvala za razumijevanje i sve odvojeno vrijeme.*

*Zahvaljujem se i svim ostalim djelatnicima Prehrambeno-tehnološkog fakulteta koji su mi na bilo koji način pomogli tijekom studija.*

*Posebno se zahvaljujem svojim roditeljima i suprugu na velikoj podršci, razumijevanju i strpljenju koje su mi pružali tijekom cijelog studija.*

## Sadržaj

<b>1</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1	TROP GROŽĐA .....	4
2.2	KEMIJSKI SASTAV POJEDINIH DIJELOVA GROŽĐA .....	4
2.3	FENOLNI SPOJEVI .....	7
2.3.1	Flavonoidi .....	9
2.3.2	Pozitivna uloga fenolnih tvari .....	10
2.4	SUŠENJE.....	11
2.5	KINETIKA SUŠENJA .....	11
2.6	METODE SUŠENJA MATERIJALA .....	12
2.6.1	Konvekcijsko sušenje u fluidiziranom sloju .....	13
2.7	EKSTRAKCIJA.....	13
2.7.1	Ekstrakcija kruto – tekuće.....	14
2.8	METODE ODREĐIVANJA TVARI U TROPU GROŽĐA .....	14
2.8.1	Spektrofotometrijske metode .....	14
<b>3</b>	<b>EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>16</b>
3.1	ZADATAK .....	17
3.2	MATERIJALI I METODE .....	17
3.2.1	Konvekcijsko sušenje tropa grožđa u fluidiziranom sloju .....	17
3.2.2	Određivanje suhe tvari .....	18
3.2.3	Kruto-tekuća ekstrakcija fenolnih tvari iz tropa grožđa.....	19
3.2.4	Priprema ekstrakta za analizu.....	20
3.2.5	Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu Micro metodom .....	20
3.2.6	Određivanje ukupnih fenolnih tvari Prussian Blue metodom .....	21
3.2.7	Određivanje ukupnih flavonoida .....	22
3.2.8	Određivanje ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina .....	23
3.2.9	Određivanje antioksidacijske aktivnosti ekstrakata .....	24
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>27</b>
4.1	ODREĐIVANJE SUHE TVARI .....	28
4.2	KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLNIH TVARI FOLIN CIOCALTEOVOM METODOM.....	29
4.3	KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLNIH TVARI PRUSSIAN BLUE METODOM.....	30
4.4	KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FLAVONOIDA .....	31
4.5	IZRAČUNAVAJNE MASENOG UDJELA ANALIZIRANIH SPOJEVA U EKSTRAKTIMA .....	32
4.6	UTJECAJ PROCESNIH UVJETA SUŠENJA NA UDIO FENOLNIH TVARI I ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST EKSTRAKATA VLAŽNOG I SUŠENOG TROPA GROŽĐA .....	32
4.6.1	Udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima tropa grožđa .....	33

4.6.2	Povezanost udjela ukupnih fenolnih spojeva određenih Folin-Ciocalteu metodom i Prussian Blue metodom.....	35
4.6.3	Udio ukupnih flavonoida u ekstraktima tropa grožđa.....	36
4.6.4	Udio ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina u ekstraktima tropa grožđa.....	37
4.6.5	Antioksidacijska aktivnost ekstrakata tropa grožđa.....	38
4.6.6	Povezanost udjela fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti.....	39
<b>5</b>	<b>RASPRAVA.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>46</b>

## Popis oznaka, kratica i simbola

### OZNAKE:

$A$  – apsorbancija

$c$  – masena koncentracija analizirane tvari u ekstraktu [mg/mL]

$c'$  - množinska koncentracija tvari u ekstraktu

$C$  – maseni udio tvari u ekstraktu [mg/g<sub>s.t.</sub>]

$DF$  – faktor razrjeđenja

$I_0$  – intenzitet ulazne svjetlosti

$I_p$  – intenzitet propuštene svjetlosti

$l$  – duljina kivete; 1 cm

$M$  – molekularna masa

$R$  – koeficijent povezanosti

### KRATICE:

AA – antioksidacijska aktivnost

CE – ekvivalenti (+)-katehina

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrihidrazil radikal

FC – Folin – Ciocalteu metoda/reagens

GAE – ekvivalenti galne kiseline

PB – Prussian Blue metoda

s.t. – suha tvar

UF – ukupni flavonoidi

UFS – ukupni fenolni spojevi

UPA – ukupni proantocijanidini

### SIMBOLI:

$\lambda$  – valna duljina

$\epsilon$  – koeficijent molarne ekstinkcije (apsorbancije), [m<sup>3</sup>/mol·m]



## **1 UVOD**

Tijekom procesa prerade grožđa u vino zaostaju značajne količine nusproizvoda tzv. tropa grožđa. Trop grožđa se u Republici Hrvatskoj nepravedno tretira kao otad, te se kao takav u većini slučajeva bez dodatne obrade odlaže na deponije. Prema direktivama Europske unije takav način zbrinjavanja tropa grožđa je ekološki i ekonomski neprihvatljiv. S obzirom na činjenicu da je trop grožđa potencijalni izvor visokovrijednih produkata poput biološki aktivnih polifenolnih spojeva, etanola, šećera, proteina, organskih kiselina, ulja, te vlakana, trop grožđa može se tretirati kao visokovrijedna sirovina.

S obzirom na to da je dospijevanje grožđa sezonskog karaktera, iskorištavanje tropa grožđa zahtjeva njegovo skladištenje do prerade u krajnji proizvod. Trop grožđa ima relativno visoku vlažnost koja iznosi oko 65 %, stoga se u tropu grožđa tijekom skladištenja nastavljaju odvijati enzimski, kemijski i fiziološki procesi koji mogu narušiti kakvoću izvorne sirovine. Navedene procese moguće je usporiti operacijom sušenja. U prehrambenoj industriji sušenje se provodi u cilju prerade i/ili konzerviranja hrane, pri čemu je konačan proizvod sušenja ili gotov proizvod ili sekundarna sirovina za daljnju preradu. Sušenje dovodi do fizikalno-kemijske promjene sastojaka sirovine, te je stoga bitno odrediti optimalne parametre sušenja (metoda, temperature, vrijeme, brzina strujanja zraka, veličina uzorka, itd.). Sušenjem u fluidiziranom sloju ostvaruje se vrlo dobar kontakt medija s materijalom što osigurava jednoliko sušenje te kraće vrijeme sušenja uz dobivanje kvalitetnog proizvoda.

Kako bi se aktivni fenolni spojevi sadržani u biljnom materijalu maksimalno iskoristili, nužno je pravilno provesti njihovu izolaciju. Najčešće korištena metoda izolacije polifenolnih spojeva iz biljnog materijala je kruto-tekuća ekstrakcija ili ekstrakcija otapalom. Kao otapalo za ekstrakciju najčešće se koristi apsolutni metanol, etanol te njihove vodene otopine, kao i aceton, etil acetat itd.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj procesnih uvjeta sušenja (temperature i vremena sušenja) tropa grožđa u fluidiziranom sloju na udio ekstrahiranih fenolnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost ekstrakta te usporedba rezultata dobivenih u ekstraktima vlažnog i sušenog tropa.

## **2 TEORIJSKI DIO**

## 2.1 TROP GROŽĐA

Vinova loza (*Vitis Vinifera*) je jedna od najčešće uzgajanih kultura u svijetu s prosječnom godišnjom proizvodnjom grožđa od 65,5 miliona tona. Dok se oko 80 % godišnje proizvodnje grožđa prerađuje u vino, 20-30% prerađenog grožđa zaostaje kao kruti otpad – trop grožđa koji se sastoji od kožica, sjemenki i peteljki (Bucić-Kojić, 2008).

## 2.2 KEMIJSKI SASTAV POJEDINIH DIJELOVA GROŽĐA

### *Peteljka*

Peteljka predstavlja skelet grozda. Sastoji se od osnovnog dijela koji se više ili manje grana. Završava sa peteljčicama koje nose cvijet, a nakon oplodnje i bobicu. Peteljka je bogata polifenolima, naročito kod crnih sorata. Najzastupljeniji polifenol je leukocijanidol. Fenolni spojevi sadržani u peteljci prikazani su u *Tablici 1*.

**Tablica 1** Sadržaj fenolnih spojeva u peteljci (Ribéreau – Gayon i sur, 1976)

Sastojak	% u grozdu
<b>Ukupni polifenoli</b>	20
<b>Tanini</b>	15
<b>Proantocijanidini</b>	26
<b>Katehini</b>	15
<b>Galna kiselina</b>	16

### *Sjemenke*

Najveći dio sastojaka u sjemenci su rezervni sastojci potrebni za ishranu klice, a značajni su i za tehnologiju vina. Sjemenka se sastoji od masne jezgre, koju okružuje drvena ljuska prekrivena taninskom kutikulom. Prešani trop grožđa sadrži 20 do 30% sjemenki.

Sjemenke grožđa sadrže oko 40% vlakana, 16% ulja, 11% proteina i 7% polifenolnih spojeva, nešto šećera i mineralnih tvari. Najviše tanina, od svih čvrstih dijelova grozda, nalazi se u sjemenkama. Sazrijevanjem grožđa sadržaj taninskih spojeva opada. Smješteni su u vanjskom dijelu sjemenke (taninska kutikula) i lako prelaze u vino tijekom maceracije.

Kemijski sastav sjemenki prikazan je u *Tablici 2*, a u *Tablici 3* je prikazan sadržaj fenolnih spojeva.

**Tablica 2** Kemijski sastav sjemenke grožđa (Ribéreau – Gayon i sur, 1976)

<i>Sastojak</i>	<i>U 100 g</i>
<i>Voda</i>	25 – 45
<i>Ugljikohidrati</i>	31 – 36
<i>Ulja</i>	13 – 20
<i>Tanini</i>	4 – 6
<i>Dušični spojevi</i>	4 – 6,5
<i>Minerali</i>	2 – 4
<i>Masne kiseline</i>	1

**Tablica 3** Sadržaj fenola u sjemenci (Ribereau – Gayon i sur, 1976)

<i>Sastojak</i>	<i>% u grozdu</i>
Ukupni fenoli	22 – 56
Procijanidini	28 – 56
Katehini	67 – 86
Galna i kava kiselina	-

### ***Kožica***

Kožica predstavlja vanjski omotač bobice koji se sastoji od 6 – 10 slojeva stanica. Na vanjskom su dijelu stanice manje, a prema unutrašnjosti veće dok su im pregrade vrlo tanke.

Zahvaljujući elastičnosti staničnih stjenki u toku porasta i sazrijevanja bobice kožica povećava svoj volumen.

U *Tablici 4* prikazan je kemijski sastav kožice, a u *Tablici 5* prikazan je sadržaj polifenola u kožici.

**Tablica 4** Kemijski sastav kožice (Radanović, 1986)

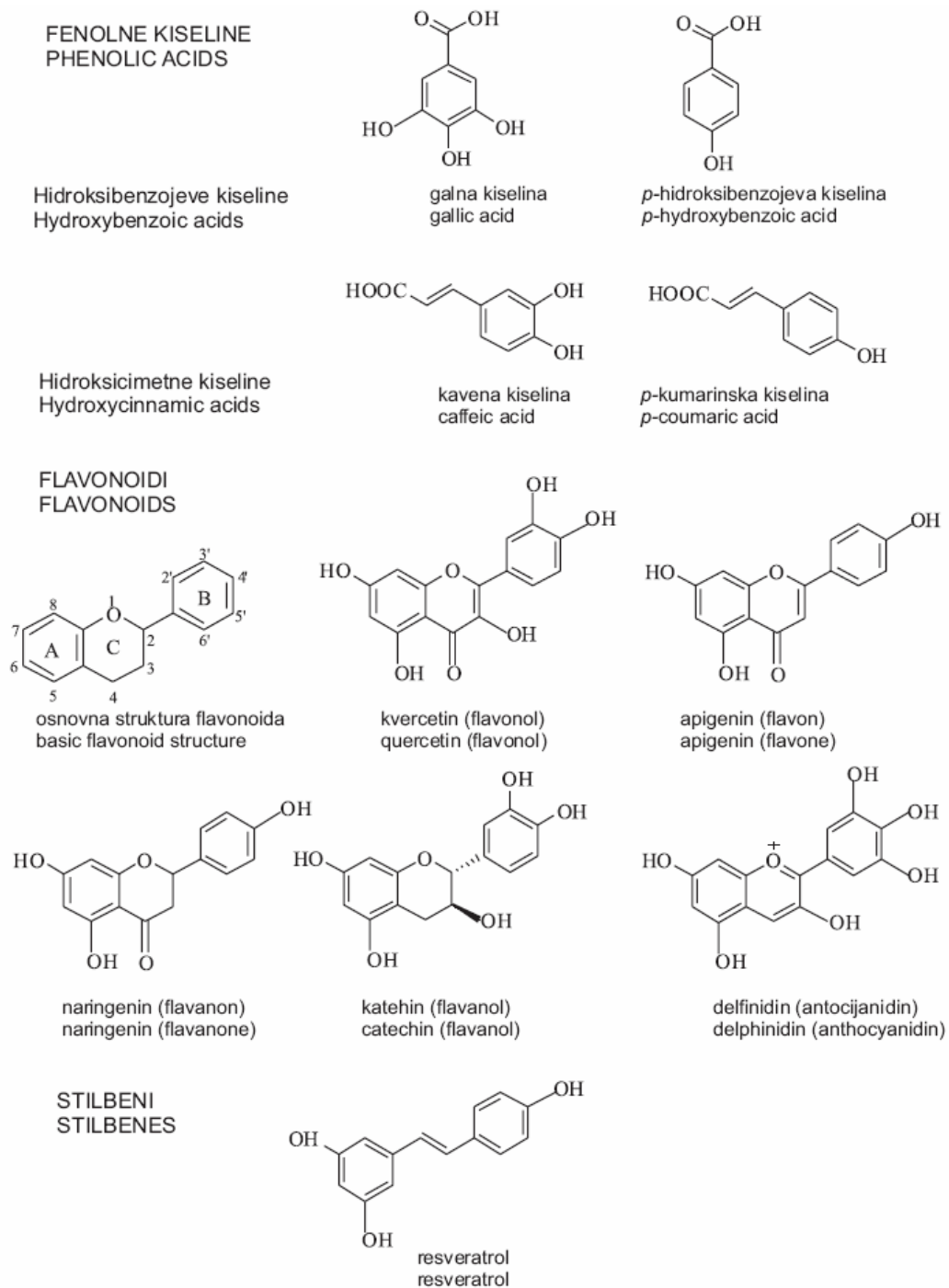
<b>Sastojak</b>	<b>%</b>
Voda	58 – 82
Pentoze	1 – 1,2
Celuloza	3,5
Pektini, smole i sluzi	0,9
Kiseline	0,13 – 0,67
Tanini	0,01 – 15,4
Dušični spojevi	0,8 – 1,9
Masti	1,5
Minerali	2,0 – 3,7

**Tablica 5** Sadržaj polifenola u kožici

<b>Sastojak</b>	<b>% u grozdu</b>
Ukupni fenoli	12 – 61
Procijanidini	17 – 47
Taninski spojevi	14 - 50
Antocijani	100

## 2.3 FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti sintetizirani u biljkama tijekom njihova normalnog razvoja ili kao odgovor na stres (infekcije, oštećenja, UV zračenje). Njihov sadržaj u biljnom materijalu ovisi o vrsti, sorti, uvjetima i tehnikama uzgoja, procesu dozrijevanja, kao i o uvjetima procesiranja i skladištenja (Naczk, Shahidi, 2006). S obzirom na njihovu strukturu i funkciju, predstavljaju vrlo raznoliku skupinu spojeva od jednostavnih fenola do visokopolimeriziranih spojeva (Pinelo i sur., 2006), ali općenito podrazumijevaju spojeve koji posjeduju aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina. Budući da takvu strukturu mogu imati i druge skupine spojeva (npr. terpenoidi), točnija definicija temelji se na njihovom metaboličkom porijeklu pa se pod biljnim fenolnim spojevima smatraju derivati šikiminske kiseline i metabolizma fenilpropanoida. Fenolni spojevi obuhvaćaju (**Slika 1**): fenolne kiseline, kumarine, flavonoide, stilbene, tanine, lignane i lignine (Naczk, Shahidi, 2006; Naczk, Shahidi, 2004; Robards i sur., 1999).



Slika 1 Strukturne formule nekih fenolnih tvari (Gumul, Korus, 2006)

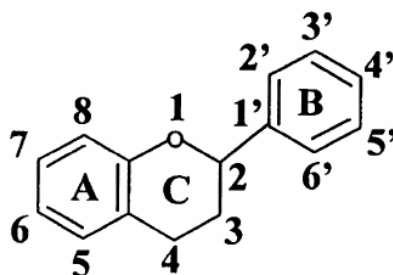


### 2.3.1 Flavonoidi

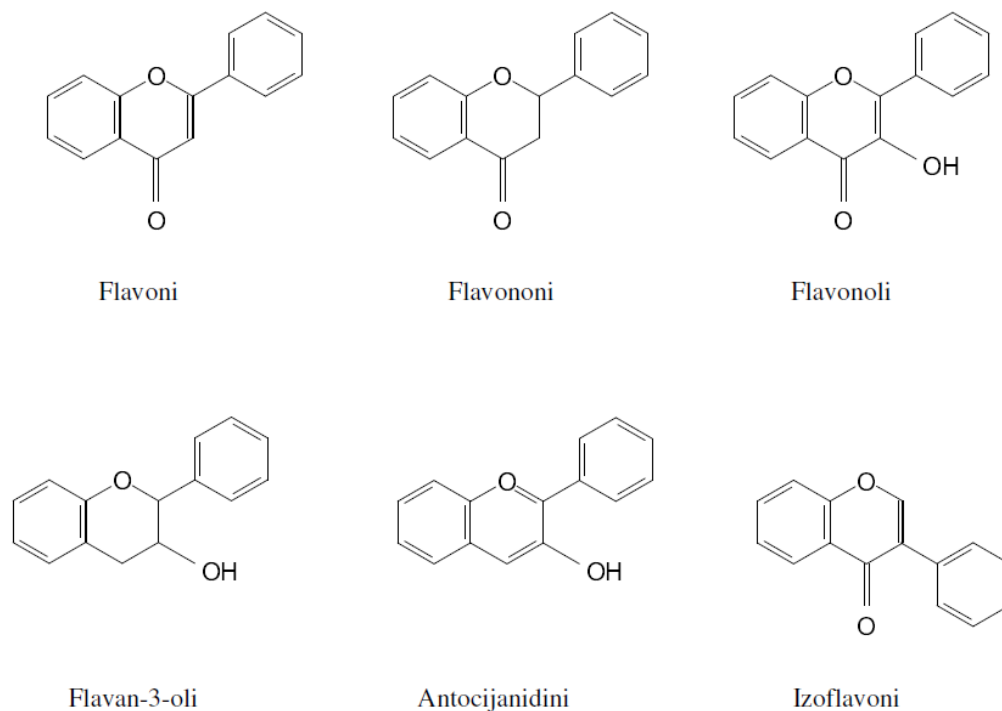
Flavonoidi su najrasprostranjenija skupina fenolnih spojeva u biljnom svijetu. Do danas je identificirano više od 6400 flavonoida (Kazazić, 2004).

Osnovnu skupinu flavonoida čine dva aromatska benzena A i B spojena preko heterocikličkog prstena C koji sadrži kisik (**Slika 2**). Položaj različitih supstituenata (hidroksilne, metoksi i glikozidne skupine) na prstenu A, B, i C, položaj vezivanja prstena B i C te nezasićenost i stupanj oksidacije u strukturi prstena C utječu na mogućnost postojanja brojnih flavonoida koji imaju različitu kemijsku strukturu i biološke karakteristike (Wood i sur., 2002; Heim i sur., 2002).

Temeljem stupnja oksidacije heterocikličkog prstena flavonoidi se mogu podijeliti u 14 grupa, dok se flavonoidi prisutni u hrani mogu podijeliti u šest grupa (Yilmaz, Toledo, 2004): antocijanidini (grožđe, vino, višnje), flavonoli (luk, brokula, kupus, kra jabuke, grožđe), flavoni (limun, maslina, celer), flavonoli (grožđe, čajevi), flavanoni (koža rajčice, citrusi) i izoflavoni (soja) (**Slika 3**).



**Slika 2** Osnovna monomerna struktura flavonoida (Bucić-Kojić, 2008)



**Slika 3** Osnovne grupe flavonoida najčešće prisutnih u hrani (Bucić-Kojić, 2008)

### 2.3.2 Pozitivna uloga fenolnih tvari

Fenolnim tvarima pripisuje se višestruko pozitivno djelovanje. Zaštitna uloga u obrani organizma od različitih bolesti očituje se u njihovom antioksidativnom, antibakteriskom, protuupalnom, antialergijskom, antimutagenom, anitviralnom i antikancerogenom djelovanju (Chafer i sur., 2002).

Antioksidativno djelovanje fenolnih tvari očituje se kroz vezanje slobodnih radikala. Slobodni radikali su atomi, ioni ili molekule s jednim ili više nesparenih elektrona u vanjskoj elektronskoj ljusci, zbog čega su vrlo reaktivni pa mogu prouzročiti oksidaciju okolnih biomolekula (proteina, lipida, ugljikohidrata ili nukleinskih kiselina). Njihovo nagomilavanje u organizmu narušava zdravlje i danas se povezuju s nastankom brojnih oboljenja, među kojima je i rak. To masivno djelovanje slobodnih radikala naziva se "oksidacijski stres" i što je on veći, veća su oštećenja u organizmu. Antioksidacijski kapacitet polifenola pripisuje se njihovoj sposobnosti sparivanja elektrona slobodnog radikala doniranjem atoma vodika ili elektrona; kelatnog vezanja metalnih iona (posebno bakra i željeza), koji djeluju kao katalizatori u reakciji

oksidacije lipida; aktiviranja antioksidacijskih enzima i inhibiranja oksidaza (Kazazić, 2004; Lapornik i sur., 2005, Sahelian, 2015).

## 2.4 SUŠENJE

Sušenje je tehnološka operacija kojom se voda, a rjeđe i druge kapljevine, npr. organska otapala, uklanjaju iz tvari u kojima se nalaze u razmjerno malim količinama. Pod sušenjem se u prvom redu misli na uklanjanje vode iz čvrstih tvari, dakle na dobivanje čvrstog proizvoda u suhom stanju.

Sušenje je vrlo česta operacija procesne tehnike u različitim privrednim granama. Ono može biti pripremna operacija, kad materijal treba osušiti za daljnju preradu, ili pak završni stupanj prerade u mnogim tehnološkim postupcima u kemijskoj, farmaceutskoj i prehrambenoj tehnologiji, gdje često bitno utječe na kvalitetu proizvoda i ukupni učinak proizvodnje. Primjenjuje se i radi smanjenja mase različitim materijalima da bi se uštedjeli troškovi oko manipulacije (Tripalo, Viličić, 1992).

## 2.5 KINETIKA SUŠENJA

Kinetika sušenja podrazumijeva promjenu sadržaja vlage u materijalu i temperature materijala tijekom njegovog sušenja. Uopćene krivulje pomoću kojih se može opisati kinetika različitih procesa sušenja nazivaju se krivuljama sušenja i uobičajeno jasno prikazuju dva ili više perioda sušenja. Vлага (voda) u vlažnom materijalu može biti prisutna u nekoliko oblika: kao slobodna ("nevezana") vлага u obliku kapljevine i/ili pare, kao mehanički vezana vлага i kao kemijski vezana vлага, koja je dio strukture same krutine. Oblik u kojemu je vлага prisutna u materijalu i njena veza s čvrstom tvari, također će utjecati na mehanizam i brzinu njenog uklanjanja iz materijala. Najjednostavniji model kojim se može opisati proces sušenja je tzv. "two-pore" sistem koji poroznost materijala promatra kao mrežu međusobno povezanih kapilara različitog promjera. Prema tome sistemu imamo inicijalni period – period

konstantne brzine sušenja. U ovome periodu sušenja površina materijala je prekrivena vlagom te ona ravnomjerno ispunjava "široke" i "uske" pore. U početku sušenja vlaga iz "širokih" pora nadomješta nivo vlage u "uskim porama" te ga na taj način održava u konstantnom period sušenja. Brzina sušenja u period konstantne brzine sušenja kontrolirana je tzv. *vanjskim faktorima* (temperature, brzina strujanja zraka, vlažnost zraka), a neovisna je o sadržaju vlage u vlažnom materijalu. Idući period je period padajuće brzine sušenja tijekom kojega ključnu ulogu imaju tzv. *unutarnji faktori* (npr. priroda, geometrija i debljina materijala, veličina pora) koji ograničavaju brzinu transporta vlage unutar materijala te je brzina sušenja u stalnom opadanju (Planinić, 2008).

## 2.6 METODE SUŠENJA MATERIJALA

Sušenje se u principu odvija u dva koraka: u prvom se kapljevina iz vlažnog materijala prevodi u paru, a u drugome para odvodi. Sušenje se obično pospješuje zagrijavanjem materijala. Materijal za sušenje može se zagrijavati konvekcijom, kondukcijom ili radijacijom, pa se prema tome razlikuju i metode sušenja (Tripalo, Viličić, 1992).

Prema načinu dovođenja topline materijalu koji se suši razlikujemo slijedeće metode sušenja:

- *Konvekcijsko sušenje*, kod kojeg se materijal suši u doticaju strujom plina (najčešće zrakom)
- *kondukcijsko ili kontaktno sušenje*, kod kojeg se materijal suši u doticaju sa zagrijanom površinom
- *sublimacijsko sušenje*, kod kojeg se materijal suši u zamrznutom stanju pod visokim vakuumom. Po načinu prijenosa topline ovo sušenje je analogno kontaktnom sušenju
- *radijacijsko sušenje*, kod kojeg se materijal suši posredstvom polja visoke učestalosti.

Najčešće se primjenjuje konvekcijsko sušenje (Tomas, 2000).

### 2.6.1 Konvekcijsko sušenje u fluidiziranom sloju

U konvekcijskim sušionicama s fluidizacijom, materijal se suši u struji zagrijanog zraka (plina), koji kroz fluidizacijsku kolonu struji odgovarajućom brzinom dovoljnom da se materijal dovede u tzv. kvazifluidno stanje. S obzirom na relativno veliku brzinu strujanja zraka, potrebnu za ostvarivanje fluidizacije, vanjski otpori prijenosu tvari su zanemarivi te se sušenje odvija pod kontrolom unutrašnjih otpora samog materijala. U takvom sustavu zagrijanog medija za sušenje i materijala koji se suši ostvaruje se vrlo dobar kontakt medija sa svim površinama materijala, što osigurava jednoliko sušenje materijala uz istodobno vrlo brz prijenos topline do površine materijala (Planinić 2008).

U procesnoj tehnici fluidizacija se upotrebljava kako kod dvofaznih sistema (sistem od jedne čvrste i jedne tekuće, odnosno jedne plinovite faze), tako i kod višefaznih sistema (npr. sistema od jedne čvrste, jedne tekuće i jedne plinovite faze, sistema od više čvrstih faza i jedne tekuće, odnosno plinovite faze). Tako se fluidizacija danas primjenjuje, npr. kao metoda miješanja prašaka dviju ili više čvrstih komponenata, gdje se drugim metodama miješanja narušava željena granulacija (veličina zrna) i nasipna težina materijala. Ona nalazi danas najširu primjenu u katalitičkim procesima; također je značajna njena primjena u sušenju sipkih i vrlo vlažnih sitnozrnatih (pastastih) materijala (Podhorski, Viličić, 1974).

## 2.7 EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija je metoda izolacije spojeva koju određuje prijenos tvari iz otopine, krute smjese ili suspenzije u otapalo, pri čemu tvar koja se izolira treba biti topivija u otapalu nego u početnoj fazi. Ovisno o polaznoj fazi iz koje se tvar ekstrahira, proces ekstrakcije općenito se dijeli na:

- ekstrakciju kruto-tekuće (ekstrakcija otapalom) – prijenos tvari odvija se iz krute faze, a ako se provodi otapalom koje nije lakohlapljivo često se naziva i izluživanje,
- ekstrakcija tekuće-tekuće – prijenos tvari odvija se iz tekuće faze. Taj tip ekstrakcije obično označava ekstrakciju u užem smislu (Mujić, 2006).

### 2.7.1 Ekstrakcija kruto – tekuće

Ekstrakcija kruto tekuće je operacija prijenosa mase kojom se jedan ili više sastojaka izdvaja iz krutog materijala pomoću pogodnog otapala u nekoliko osnovnih koraka: ulazak otapala u krutu tvar, otapanje komponenti, transport otapala s otopljenom tvari na površinu krute tvari, transport otopine s površine krute tvari u glavnu masu otopine, razdvajanje ekstrakta i krutog ostatka uzorka, te uklanjanje otapala iz ekstrakta (Mujić, 2006). Kod ovog tipa ekstrakcije topljiva tvar čini manji dio ukupnog materijala i ona nakon procesa ekstrakcije zajedno s otapalom čini ekstrakt dok se inertni netopivi dio krutog materijala naziva izluženi ostatak.

Kruto-tekuće ekstrakcija je jedna od najčešće korištenih operacija za izolaciju aktivnih komponenti iz biljnog materijala. Najčešće se provodi kao maceracija ili perkolacija. Maceracija se izvodi u suspenziji, kao šaržna operacija, tako što se kruti materijal potapa u otapalo, a perkolacija polušaržno, tako što kroz nepokretan sloj čvrstog materijala kontinuirano protječe otapalo. Fino usitnjeni materijal, koji se može lako držati suspendiran u otapalu, podvrgava se maceraciji, dok se ekstrakcija iz komadnog materijala vrši perkolacijom (Veljković, Milenović, 2002).

## 2.8 METODE ODREĐIVANJA TVARI U TROPU GROŽĐA

U analizi pojedinih tvari koriste se različite spektrofotometrijske i kromatografske metode.

### 2.8.1 Spektrofotometrijske metode

Spektrofotometrijske metode temelje se na Lambert-Berovom zakonu:

$$\log \left( \frac{l_0}{l_p} \right) = A = \varepsilon = c' \quad (1)$$

Gdje je:

$l_0$  – intenzitet ulazne svjetlosti

$l_p$  – intenzitet propuštene svjetlosti

$A$  – apsorbanacija

$c'$  – množinska koncentracija tvari [ $\text{mol}/\text{m}^3$ ]

$l$  – dužina optičkog puta [ $\text{m}$ ]

$\varepsilon$  – koeficijent molarne ekstinkcije (apsorbancije), [ $\text{m}^3/(\text{mol}\cdot\text{m})$ ]

Apsorbancija je izravno proporcionalna koncentraciji tvari u otopini pa Lambert-Beerov zakon omogućuje određivanje koncentracije obojenih otopina ili onih kod kojih tijekom reakcije nastaje obojenje. Kada snop paralelnih zraka monokromatskog svjetla prolazi kroz homogenu tekuću, krutu ili plinovitu tvar, intenzitet svjetlosti se smanjuje zbog toga što ta tvar apsorbira svjetlosno zračenje. Apsorbancija svjetlosnog zračenja ovisi o prirodi tvari koja apsorbira svjetlost, valnoj duljini upadne svjetlosti, temperature, debljini sloja tvari, vremenu trajanja reakcije, prisutnosti tvari koje interferiraju, a kada je riječ o otopinama, i o njihovoj koncentraciji. Tu se ne mjere apsolutni iznosi apsorbanacije, nego se uspoređuju intenziteti svjetlosti koja prolazi kroz standardnu otopinu poznate koncentracije i ispitivanu otopinu. Spektrofotometrijska mjerenja apsorbanacije se provode pri valnim duljinama koje odgovaraju određenom apsorpcijskom maksimumu, jer u toj točki promjena apsorbanacije po jedinici koncentracije najveća.

Koncentracija ispitivane tvari se određuje prema baždarnoj krivulji koja daje ovisnost apsorbanacije o koncentraciji standarda pri istoj valnoj duljini. Standardne otopine moraju po ukupnom sastavu biti što je moguće sličnije uzorcima pa baždarne krivulje moraju obuhvatiti što veće područje koncentracije uzorka (Skoog i sur., 1999; Šeruga, 1988).

### **3 EKSPERIMENTALNI DIO**



### 3.1 ZADATAK

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj temperature sušenja tropa grožđa u fluidiziranom sloju na udio ekstrahiranih fenolnih spojeva (ukupni fenolni spojevi, ukupni flavonoidi, ukupni proantocijanidini), te na antioksidacijsku aktivnost ekstrakta tropa grožđa. Ekstrakcija je provedena iz vlažnih i sušenih uzoraka.

### 3.2 MATERIJALI I METODE

Ispitivanja su provedena na tropu grožđa dviju sorti: Traminca i Portugizca koji je zaostao nakon proizvodnje vina a sastojao se od kožica, sjemenki i peteljki grožđa. Trop grožđa je do provođenja ispitivanja čuvan u zamrzivaču na -20 °C.

#### 3.2.1 Konvekcijsko sušenje tropa grožđa u fluidiziranom sloju

Konvekcijsko sušenje tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac u fluidiziranom sloju provedeno je korištenjem stolnog-laboratorijskog uređaja za konvekcijsko sušenje u fluidiziranom sloju – Fluid – bed drier FBD 2000, Endecotts, UK (**Slika 4**).

Sušionik se sastoji od postolja i staklene cilindrične posude s vrećastim pokrovom od tekstila. Unutar postolja nalaze se ventilator i električni grijač, a na vanjskoj strani postolja se nalaze regulatori i pokazivači temperature i brzine strujanja zraka. Staklena posuda na svojoj donjoj strani ima žičano perforirano dno, sa malim promjerom otvora, kroz koji ventilator propiruje zrak. Cilindrična posuda se lako postavlja i odvaja od postolja. Materijal koji se suši stavlja se u staklenu posudu koja se potom pokriva pokrovom kako tijekom sušenja ne bi dolazilo do rasipanja i gubitka materijala uslijed fluidizacije.

Prije provođenja svakog sušenja uređaj je zagrijan na odabranu temperaturu sušenja, kako bi se uspostavili željeni uvjeti sušenja.



**Slika 4** Prikaz konvekcijskog sušionika s fluidizacijom

### ***Provedba sušenja***

Na vagi (Tehtnica, Slovenija) u plastičnu posudicu odvagano je oko 25 g zamrznutog uzorka tropa grožđa, koji je potom prenesen u prethodno zagrijanu staklenu posudu sušionika na koju je postavljen tekstilni pokrov, te je staklena posuda postavljena na postolje sušionika u pogonu.

Sušenje je provedeno u struji zagrijanog zraka i to pri temperaturama od 60 °C, 70 °C i 80 °C, tijekom 90 minuta, 135 minuta i 180 minuta. Nakon završenog sušenja, uzorak je ohlađen u eksikatoru sa silakagelom. Osušeni uzorci su usitnjeni u blenderu (HR 2860, Philips), spremljeni u plastične posude sa čepovima i čuvani do ekstrakcije.

### **3.2.2 Određivanje suhe tvari**

Udio suhe tvari određivan je neposredno prije ekstrakcije. Određivanje suhe tvari provedeno je sušenjem ispitivanih uzoraka tropa grožđa termogravimetrijskom metodom na uređaju za radijacijsko-infracrveno sušenje (HR-73, Mettler Toledo) prikazanim na **Slici 5**. Oko 3 grama usitnjenog uzorka stavljeno je na aluminijsku pliticu, koja je postavljena direktno na integriranu vagu u komoru za sušenje, gdje se sušenje provodi do konstantne mase. Uvjeti sušenja su: standardna metoda, temperatura sušenja 105 °C i kriterij završetka procesa (*eng.*

*switch-off 3*: gubitak mase od 1 g u 50 s). Određivanje suhe tvari provedeno je u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost.



Slika 5 Mettler Toledo HR73

### 3.2.3 Kruto-tekuća ekstrakcija fenolnih tvari iz tropa grožđa

Ekstrakcija se provodila u vodenoj kupelji s tresilicom ( Julabo SW-23, Njemačka), koja je prikazana na **Slici 6**. Korištena vodena kupelj namijenjena je za laboratorijsku upotrebu i ima mogućnost podešavanja temperature (od 20 do 99,9 °C), vremena trešnje (od 1 min do 10 h) te frekvencije trešnje (od 20 do 200 rpm).



Slika 6 Vodena kupelj s tresilicom (Julabo SW-23)

### ***Provedba ekstrakcije***

U staklene tikvice odvagano je oko 1 g uzorka, dodano je 40 mL otapala (50 % - tna vodena otopina etanola), tikvice su zatvorene čepovima te postavljene u vodenu kupelj koja je prethodno zagrijana na željenu temperaturu. Ekstrakcija je provedena tijekom 120 min na temperaturi od 80 °C pri trešnji od 200 rpm. Ekstrakcija svakog uzorka provedena je u dva ponavljanja.

### **3.2.4 Priprema ekstrakta za analizu**

Nakon postupka ekstrakcije, suspenzija uzorka i otapala je centrifugirana (Multifuge 3 L-R Centrifuge) pri 15 000 g u trajanju od 10 min. Supernatant je dekantiran i korišten za spektrofotometrijsko određivanje fenolnih spojeva i određivanje antioksidacijske aktivnosti.

### **3.2.5 Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu Micro metodom**

Ukupni fenolni spojevi u ekstraktima vlažnog i sušenog tropa grožđa određene su spektrofotometrijski mikro Folin-Ciocalteovom metodom.

Folin-Ciocalteova metoda je kolorimetrijska metoda koja se temelji na oksidacijskim i redukcijским reakcijama. U alkalnom mediju u prisutstvu Folin-Ciocalteova reagensa (smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline) fenolni spojevi se oksidiraju, a navedene kiseline reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo obojeni, a čija se apsorbancija mjeri pri valnoj duljini od 765 nm (Stratil i sur., 2006).

### ***Postupak izrade kalibracijske krivulje za određivanje ukupnih fenolnih tvari***

Prije određivanja koncentracije fenolnih tvari u ekstraktima biološki obrađenog tropa grožđa napravljena je baždarna krivulja, za koju je kao standard korištena otopina galne kiseline. Temeljna otopina galne kiseline pripravljena je otapanjem 0,5 g galne kiseline s 10 mL 96%-tne otopine etanola te nadopunjavanjem otopine destiliranom vodom do oznake u odmjerne tikvici od 100 mL. Iz tako priređene standardne otopine pripravljena su različita razrjeđenja (0,05 mg/mL – 1,0 mg/mL) na način da je u odmjerne tikvice od 50 mL

otpipetirano po 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,5 mL; 5,0 mL; 7,5 mL i 10 mL otopine galne kiseline, te su tikvice nadopunjene do oznake destiliranom vodom. Prema postupku za određivanje ukupnih fenolnih tvari u ekstraktima, određena je apsorbancija pripremljenih razrjeđenja otopina galne kiseline, te je iz dobivenih rezultata izrađena kalibracijska krivulja, tj. krivulja ovisnosti vrijednosti apsorbancija o koncentraciji galne kiseline. Određivanje je provedeno u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti.

#### ***Postupak za određivanje ukupnih fenolnih tvari***

U epruvetu je otpipetirano 40  $\mu\text{L}$  pripremljenog ekstrakta tropa grožđa, 3160  $\mu\text{L}$  destilirane vode i 200  $\mu\text{L}$  Folin – Ciocalteuova reagensa, te je nakon stajanja između 30 sekundi i 8 minuta dodano 600  $\mu\text{L}$  20%-tne vodene otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Slijepa proba je pripremana na isti način kao i uzorci, ali se umjesto ekstrakta dodavao jednaki volumen (40  $\mu\text{L}$ ) destilirane vode. Svi uzorci su protrešeni na vorteksu (Vibromix 10, Tehtica) i ostavljeni u vodenoj kupelji 30 minuta na 40  $^\circ\text{C}$  da se razvije boja čija je apsorbancija mjerena na UV/VIS spektrofotometru (UV-1700 Shimadzu) pri valnoj duljini od 765 nm. Iz dobivenih apsorbancija preko kalibracijske krivulje izračunate su koncentracije ukupnih fenolnih tvari i izražene u ekvivalentima galne kiseline koja je korištena kao standard odnosno u  $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{mL}$  ekstrakta. Zbog lakše usporedivosti dobivenih rezultata, konačne koncentracije sadržaja ukupnih fenolnih tvari preračunate su na suhu tvar uzorka  $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ . Određivanje ukupnih fenolnih tvari provedeno je u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti.

### **3.2.6 Određivanje ukupnih fenolnih tvari Prussian Blue metodom**

Prussian Blue metoda temelji se na principu da fenoli reduciraju  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$  te nastaje kompleks s fercijanidom koji daje plavo obojenje (Budini i sur., 1980).

#### ***Postupak izrade kalibracijske krivulje za određivanje ukupnih fenolnih tvari***

Temeljna otopina galne kiseline pripremljena je otapanjem 0,5 g galne kiseline s 10 mL 96%-tne otopine etanola te nadopunjavanjem otopine destiliranom vodom do oznake u odmjernoj tikvici od 100 mL. Ovako pripremljena otopina galne kiseline koncentracije 5  $\text{mg}/\text{mL}$  razrijeđena je na koncentraciju 1  $\text{mg}/\text{mL}$ . Nakon pripreme temeljne standardne

otopine galne kiseline koncentracije 1 mg/mL pripravljena su različita razrjeđenja (0,01 mg/mL – 0,07 mg/mL) na način da je u ependorfice otpipetirano po 10 µL; 20 µL; 30 µL; 40 µL; 50 µL; 60 µL i 70 µL otopine galne kiseline, te su ependorfice nadopunjene do 1000 µL destiliranom vodom.

Prema postupku za određivanje ukupnih fenolnih tvari u ekstraktima, određena je apsorbancija pripremljenih razrjeđenja otopina galne kiseline, te je iz dobivenih rezultata izrađena kalibracijska krivulja, tj. krivulja ovisnosti vrijednosti apsorbancija o koncentraciji galne kiseline.

#### ***Postupak za određivanje ukupnih fenolnih tvari***

Analiza je provedena na način da je u ependorficu otpipetirano 50 µL pripremljenog ekstrakta tropa grožđa, 950 µL destilirane vode, 40 µL 50 mM FeCl<sub>3</sub> i 40 µL 8 mM K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. Svi uzorci promiješani su inverzijom i ostavljeni 20 minuta na sobnoj temperaturi nakon čega je mjerena apsorbancija na UV/VIS spektrofotometru (UV-1700 Shimadzu) pri valnoj duljini od 720 nm. Iz dobivenih apsorbancija, preko kalibracijske krivulje izračunate su koncentracije ukupnih fenolnih tvari i izražene u ekvivalentima galne kiseline koja je korištena kao standard odnosno mg<sub>GAE</sub>/mL ekstrakta. Zbog lakše usporedivosti dobivenih rezultata, konačne koncentracije sadržaja ukupnih fenolnih tvari preračunate su na suhu tvar uzorka mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.t.</sub>. Određivanje ukupnih fenolnih tvari provedeno je u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti.

### **3.2.7 Određivanje ukupnih flavonoida**

Određivanje ukupnih flavonoida provedeno je spektrofotometrijskom metodom uz pomoć aluminijevog klorida (Marinova i sur., 2005).

#### ***Postupak izrade kalibracijske krivulje za određivanje ukupnih flavonoida***

Temeljna otopina (+)-katehina pripravljena je otapanjem 0,2 g (+)-katehina s 10 mL 96%-tne otopine etanola te nadopunjavanjem otopine destiliranom vodom do oznake u odmjerne tikvici od 100 mL. Od ovako pripravljene otopine pripravljena su različita razrjeđenja (0,02 mg/mL – 1 mg/mL) na način da je u odmjerne tikvice od 50 mL otpipetirano po 0,5 mL; 1,0

mL; 1,5 mL; 2,5 mL; 5,0 mL pripremljene otopine (+)- katehina, te su nadopunjene do oznake destiliranom vodom. Prema postupku za određivanje ukupnih flavonoida u ekstraktima, određena je apsorbancija pripremljenih razrjeđenja otopine (+)-katehina, te je iz dobivenih rezultata izrađena kalibracijska krivulja, tj. krivulja ovisnosti vrijednosti o koncentraciji (+)-katehina.

#### ***Postupak za određivanje ukupnih flavonoida***

U 4 mL destilirane vode dodano je 1 mL ekstrakta tropa grožđa, a potom 0,3 mL 5% vodene otopine natrijevog nitrita (otopiti 5 g u 100 mL) te je nakon pet minuta dodano 0,3 mL 10%-tne vodene otopine aluminijskog klorida heksahidrata (otopiti 10 g u 100 mL). Nakon 5 – 8 minuta dodano je 2 mL 1 M natrijevog hidroksida te je reakcijska smjesa nadopunjena destiliranom vodom do 10 mL. Slijepa proba je pripremljena na isti način, ali se umjesto ekstrakta dodavao jednak volumen (1 mL) destilirane vode. Svi uzorci su protreseni na vorteksu te je odmah izmjerena apsorbancija na valnoj duljini od 510 nm. Koncentracija flavonoida u ekstraktima tropa grožđa određena je u odnosu na standardnu krivulju (+)-katehina (CE) te je preračunata na suhu tvar tropa grožđa ( $\text{mg}_{\text{CE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ ). Uzorci su analizirani u tri ponavljanja, a rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti.

### **3.2.8 Određivanje ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina**

Ukupni ekstrabilni proantocijanidini u ekstraktima tropa grožđa određeni su spektrofotometrijskom metodom baziranoj na njihovoj reakciji s otopinom kiselina-butanol (Avallone i sur., 2006; Škerget i sur., 2005).

#### ***Princip određivanja ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina***

U kiselom mediju proantocijanidini se depolimeriziraju u butanolu uz nastajanje crveno obojenih antocijanidina koji se mogu detektirati spektrofotometrijski (Schofield i sur., 2001). Prinos i reproducibilnost ove reakcije ovisi o udjelu kiseline i vode, temperaturi i reakcijskom vremenu te o prisutstvu prijelaznih metala, kao i o stupnju polimerizacije proantocijanidina. Željezo i ioni željeza pokazali su se kao najučinkovitiji katalizatori u reakcijama nastajanja antocijanidina iz proantocijanidina (Naczki i Shahidi, 2004).

**Postupak određivanja ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina**

U 2 mL pripremljenog ekstrakta za analizu dodano je 20 mL otopine željezo(II)-sulfat-heptahidrata (otopina je pripremljena neposredno prije analiza, otapanjem 77 mg  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  u 500 mL otopine kloridne kiseline:1-butanol u omjeru 2:3). Slijepa proba pripremljena je na isti način kao i uzorci, ali je umjesto uzorka dodavan jednak volumen (2mL) destilirane vode. Nakon inkubacije uzoraka 15 minuta pri 95 °C u vodenoj kupelji, uzorci su naglo ohlađeni i odmah analizirani mjerenjem apsorbancija (A) na valnoj duljini od 540 nm. Za svaki uzorak rađena su dva ponavljanja. Iz dobivenih apsorbancija (A), masena koncentracija ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina  $C_{UPA}$  (g/L) izračunata je pomoću molarne mase cijanidina ( $M = 287 \text{ g/mol}$ ) i koeficijenta molarne ekstinkcije cijanidina ( $\epsilon=34700 \text{ L/mol}\cdot\text{cm}$ ) prema sljedećem izrazu:

$$C_{UPA} = \frac{A \cdot M \cdot DF}{\epsilon \cdot l} \quad (2)$$

gdje je:

A – apsorbancija

M – molekularna masa

Df- faktor razrjeđenja (DF = 11; omjer ukupnog volumena reakcijske smjese za određivanje UPA (22 mL) i volumena ekstrakta (2 mL)

$\epsilon$  – koeficijent molarne ekstinkcije [ $\text{m}^3/(\text{mol}\cdot\text{m})$ ]

l – duljina optičkog puta (1 cm).

Konačne koncentracije ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina u ekstraktima preračunate su na suhu tvar tropa grožđa ( $\text{mg/g}_{\text{s.t.}}$ ) uzimajući u obzir razrjeđenje ekstrakta.

**3.2.9 Određivanje antioksidacijske aktivnosti ekstrakata**

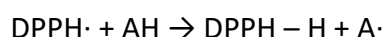
Antioksidacijska aktivnost ekstrakata tropa grožđa određena je spektrofotometrijski DPPH metodom. Ova metoda je odabrana među brojnim drugim prisutnim u literaturi zbog



stabilnosti DPPH· radikala jednostavnosti i brzine metode. Stabilnost DPPH radikala je posljedica delokalizacije slobodnog elektrona preko cijele molekule, pri čemu molekula ne dimerizira, za razliku od većine drugih slobodnih radikala (Bucić-Kojić, 2008).

#### ***Princip određivanja antioksidacijske aktivnosti***

Metoda se temelji na redukciji sintetičkog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH·) otopljenog u alkoholnoj otopini u prisutstvu antioksidansa (AH) koji donira jedan atom vodika i hvata slobodni DPPH· radikal pri čemu nastaje neradikalni oblik DPPH-H i stabilizirani fenoksi radikal (A·) kako slijedi (Benvenuti i sur., 2004)



Pri redukciji DPPH· radikala u određenom vremenu dolazi do smanjenja apsorbancije (mjerene pri 515 nm) reakcijske otopine zbog smanjenja koncentracije zaostalog slobodnog DPPH· radikala, što se očituje u promjeni ljubičaste boje otopine prema žutoj. Količina inhibiranog DPPH· radikala dokazuje veću ili manju antioksidacijsku aktivnost ispitivanog uzorka.

#### ***Postupak određivanja antioksidacijske aktivnosti***

U 0,1 mL alikvota razrijeđenog ekstrakta tropa grožđa dodano je 3,9 mL otopine DPPH· u 96%-tnom etanolu (0,026 mg DPPH·/mL). Reakcijska otopina ostavljena je na sobnoj temperaturi i tamnom mjestu 30 minuta, nakon čega joj je spektrofotometrijski određena apsorbancija ( $A_{\text{ekst.}}$ ) pri valnoj duljini od 515 nm u odnosu na slijepu probu (96%-tni etanol).

Otopina DPPH· korištena za određivanje antioksidacijske aktivnosti (AA) pripremana je uvijek svježa neposredno prije provođenja analiza te je upotrebljena unutra 24 sata (između mjerenja čuvala se na +4 °C zaštićena aluminijskom folijom), a njezina apsorbancija ( $A_{\text{DPPH}}$ ) očitavala se pod istim uvjetima kao i uzorci u odnosu na slijepu probu. Inhibicija DPPH· uslijed antioksidacijske aktivnosti (AA) ispitivanih ekstrakata izračunata je u postotku (%) prema sljedećem izrazu (Benvenuti i sur., 2004):

$$\% \text{inhibicije DPPH} = \left[ \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ekst.}}}{A_{\text{DPPH}}} \right] \cdot 100 \quad (3)$$

Međutim, s obzirom na to da se za kompleksne sustave kao što su biljni ekstrakti preporučuje da se rezultati izraze po masi materijala, postotak (%) inhibiranog DPPH· radikala je preračunat na masu inhibiranog DPPH izraženu po masi suhe tvari tropa grožđa odnosno:

$$AA = \frac{m_{inh.DPPH}}{m_{s.t.}} \quad (4)$$

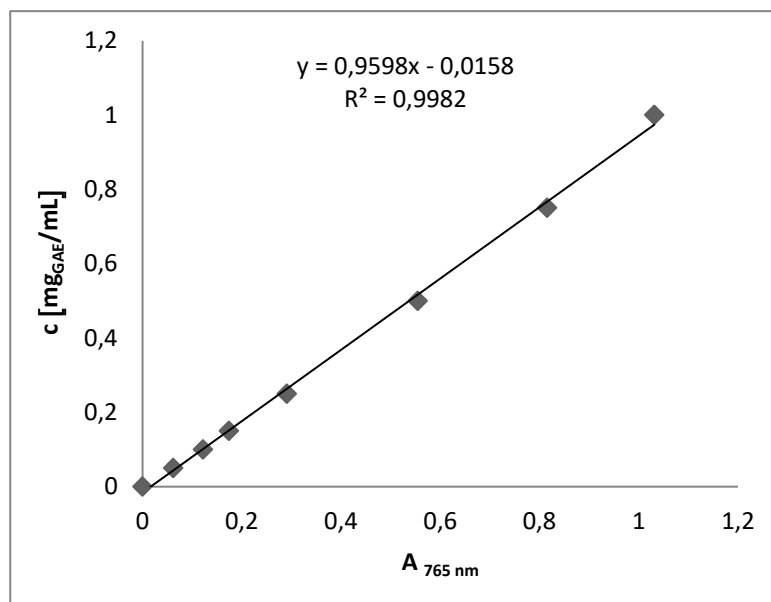
Za svaki ekstrakt antioksidacijska aktivnost je rađena u dva paralelna ponavljanja, a rezultati su izraženi kao srednje vrijednosti.

## **4 REZULTATI**

#### 4.1 ODREĐIVANJE SUHE TVARI

Udio suhe tvari u vlažnom tropu grožđa sorte Traminac iznosio je 33,42%, dok je kod sorte Portugizac udio suhe tvari u vlažnom tropu iznosio 33,71%. Udio suhe tvari u sušenim uzorcima za sortu Traminac kretao se u rasponu 88,79 - 96,89%, a kod sorte Portugizac udio suhe tvari kretao se u rasponu 89,83 – 91,26%.

## 4.2 KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLNIH TVARI FOLIN-CIOCALTEOVOM METODOM



Slika 7 Kalibracijska krivulja za određivanje ukupnih fenolnih tvari

Metodom linearne regresije dobivena je jednadžba:

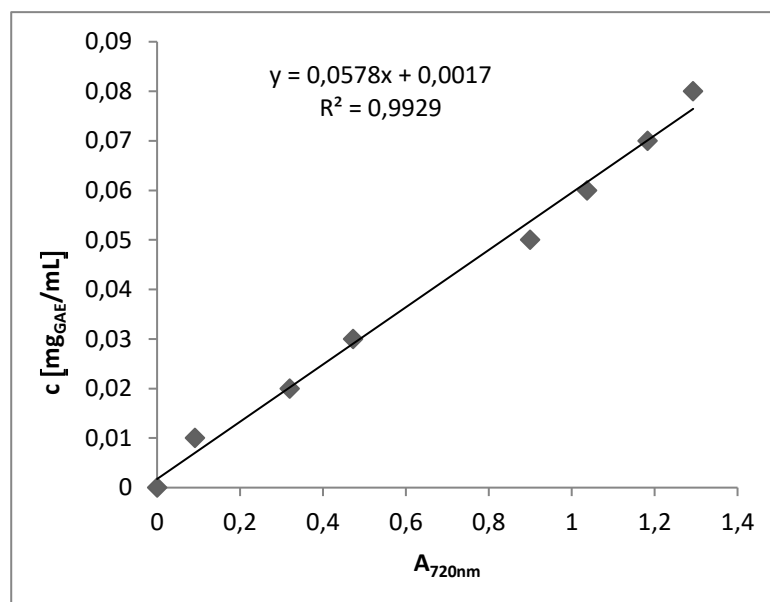
$$y = 0,9598x - 0,0158 \quad (5)$$

odnosno:

$$c (\text{ukupnih fenolnih tvari}) = y = 0,9598 \cdot A - 0,0158 \text{ [mg}_{\text{GAE}}/\text{mL}] \quad (6)$$

koja je korištena za izračunavanje masene koncentracije ukupnih fenola iz izmjerenih vrijednosti apsorbanca.

### 4.3 KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLNIH TVARI PRUSSIAN BLUE METODOM



Slika 8 Kalibracijska krivulja za određivanje ukupnih fenolnih tvari

Metodom linearne regresije dobivena je jednadžba

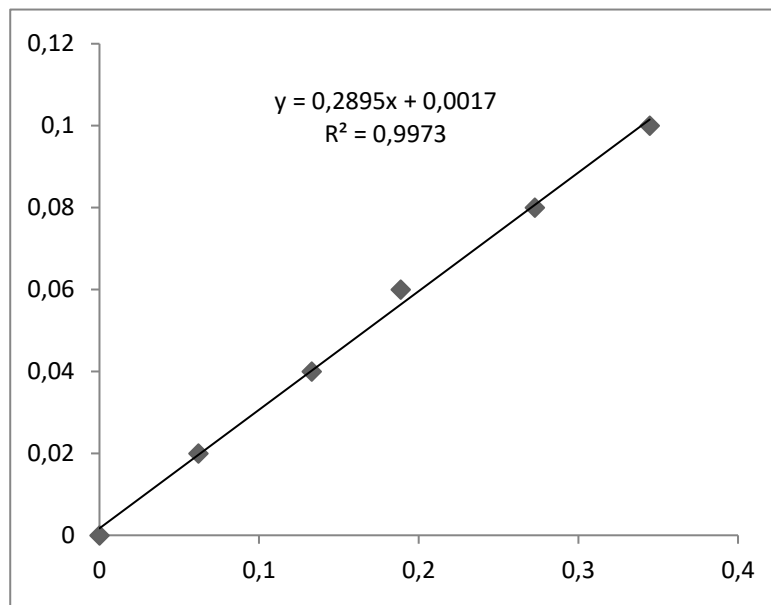
$$y = 0,0578x + 0,0017 \quad (7)$$

odnosno:

$$c \text{ (ukupnih fenolnih tvari)} = y = 0,0578 \cdot A + 0,017 \quad (8)$$

koja je korištena za izračunavanje masene koncentracije ukupnih fenola iz izmjerenih vrijednosti apsorbanca.

#### 4.4 KALIBRACIJSKA KRIVULJA ZA ODREĐIVANJE UKUPNIH FLAVONOIDA



Slika 9 Kalibracijska krivulja za određivanje ukupnih flavonoida

Metodom linearne regresije dobivena je jednačba:

$$y = 0,2895x + 0,0017 \quad (9)$$

Odnosno:

$$c \text{ (ukupnih flavonoida)} = y = 0,2895 \cdot A + 0,0017 \text{ [mg}_{CE}/\text{mL}] \quad (10)$$

koja je korištena za izračunavanje masene koncentracije ukupnih flavonoida iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija.

#### 4.5 IZRAČUNAVAJNE MASENOG UDJELA ANALIZIRANIH SPOJEVA U EKSTRAKTIMA

Prema jednadžbama (6, 8, 10) dobivenim metodom linearne regresije izračunate su koncentracije pojedinih tvari u ekstraktu tropa grožđa koje su preračunate na suhu tvar uzorka pomoću sljedeće formule:

$$C = \frac{c \cdot V_e \cdot DF}{m_{uz} \cdot w_{s.t.}} \text{ [mg/g}_{s.t.}] \quad (11)$$

C – maseni udio analizirane tvari u ekstraktu [mg/g<sub>s.t.</sub>]

c – masena koncentracija analizirane tvari u ekstraktu [mg/mL]

V<sub>e</sub> – volumen ukupno dobivenog ekstrakta [mL]

DF – faktor razrjeđenja ekstrakta za potrebe određivanja određene tvari

m<sub>uz</sub> – masa uzorka tropa grožđa [g]

w<sub>s.t.</sub> – udio suhe tvari [%]

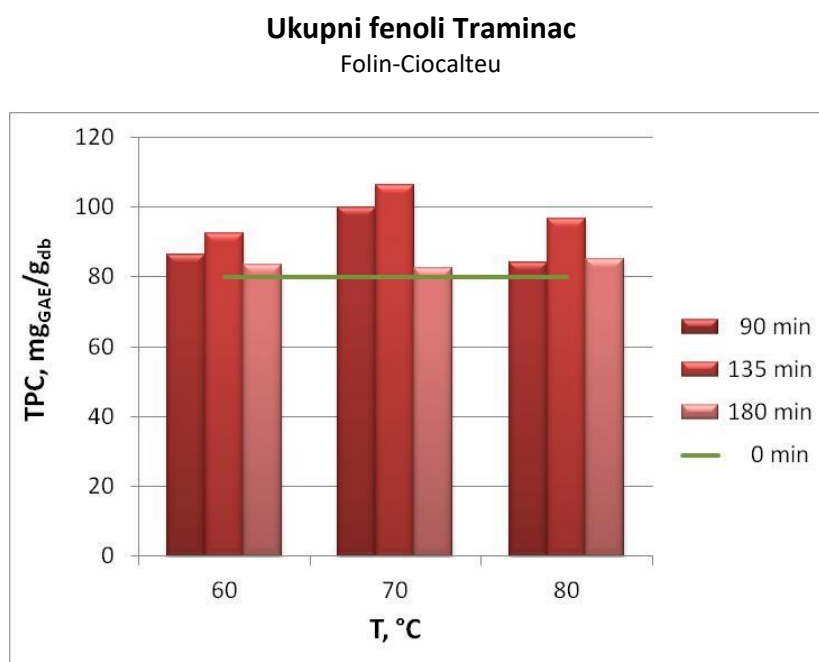
Prema jednadžbi 11 izračunati su maseni udjeli sljedećih tvari: ukupni fenolni spojevi određeni Folin-Ciocalteuovom metodom C<sub>UFS\_FC</sub> [mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.t.</sub>]; ukupni fenolni spojevi određeni Prussian-Blue metodom C<sub>UFS\_PB</sub> [mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.t.</sub>]; ukupni flavonoidi C<sub>UF</sub> [mg<sub>CE</sub>/g<sub>s.t.</sub>] i ukupni proantocijanidini C<sub>UPA</sub> [mg/g<sub>s.t.</sub>].

#### 4.6 UTJECAJ PROCESNIH UVJETA SUŠENJA NA UDIO FENOLNIH TVARI I ANTIOKSIDACIJSKU AKTIVNOST EKSTRAKATA VLAŽNOG I SUŠENOG TROPA GROŽĐA

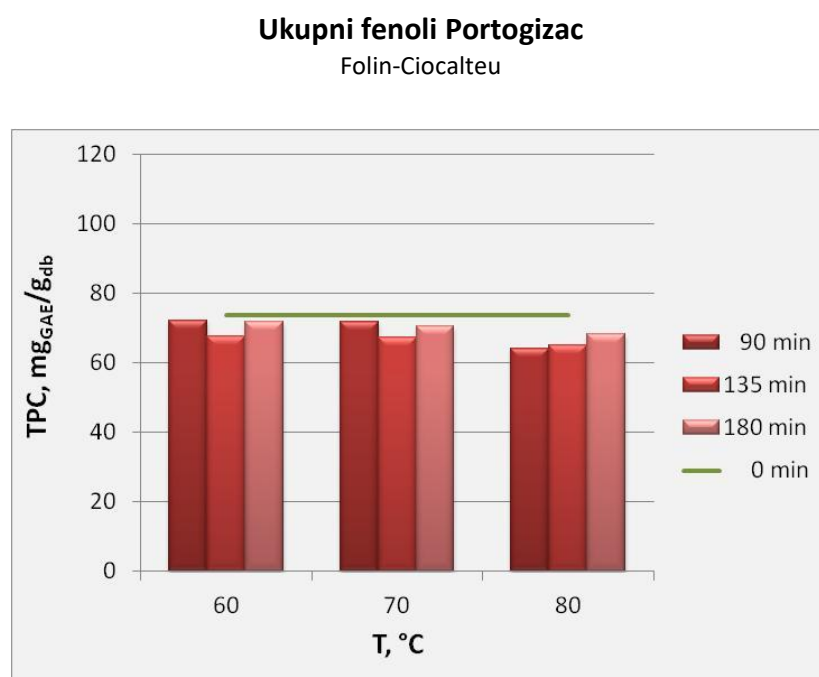
Eksperimentalno je ispitan utjecaj dva procesna uvjeta sušenja (temperatura: 60-70-80 °C i vrijeme: 90-135-180 minuta) na ekstrabilnost fenolnih tvari i antioksidacijsku aktivnost tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac. Uspoređeni su rezultati dobiveni analizom ekstrakata vlažnog i sušenog tropa grožđa. Eksperimentalno dobiveni podatci su prikazani dijagramima.



### 4.6.1 Udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima tropa grožđa

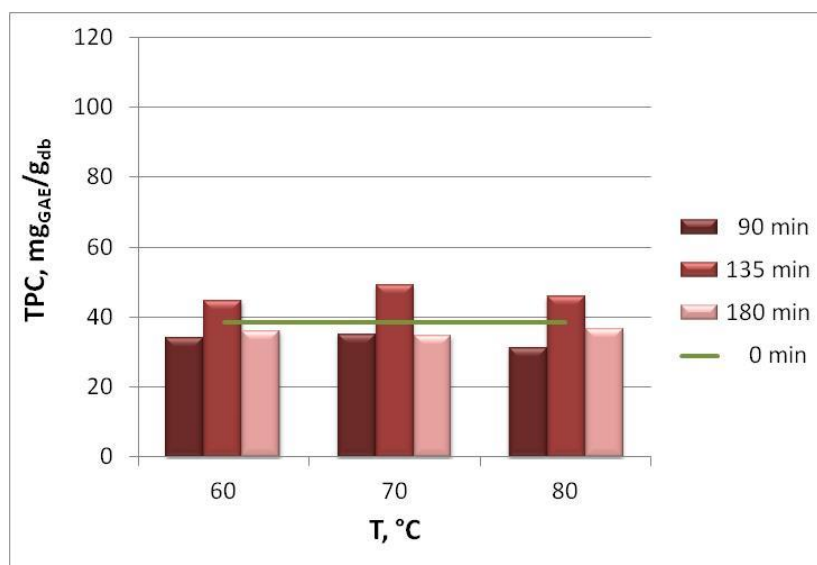


**Slika 10** Udio ukupnih fenolnih spojeva ( $C_{UFS\_FC}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja



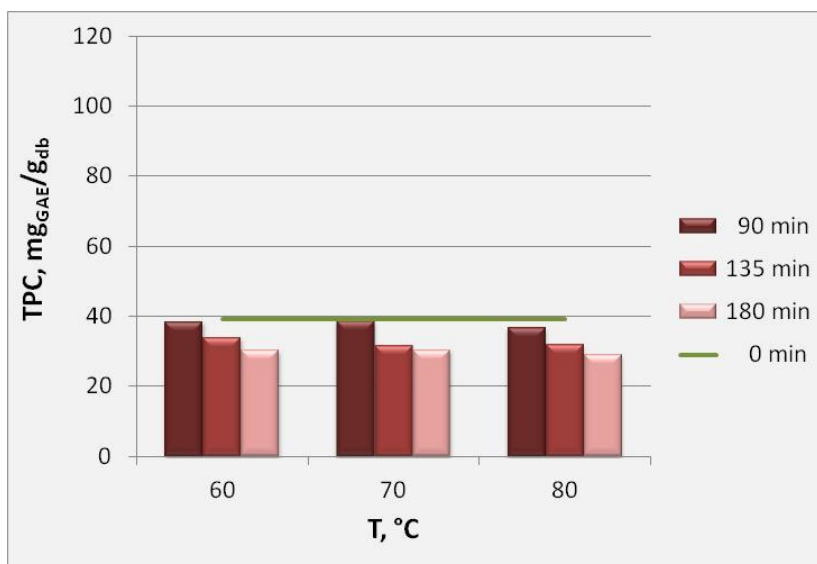
**Slika 11** Udio ukupnih fenolnih spojeva ( $C_{UFS\_FC}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

### Ukupni fenoli Traminac Prussian Blue



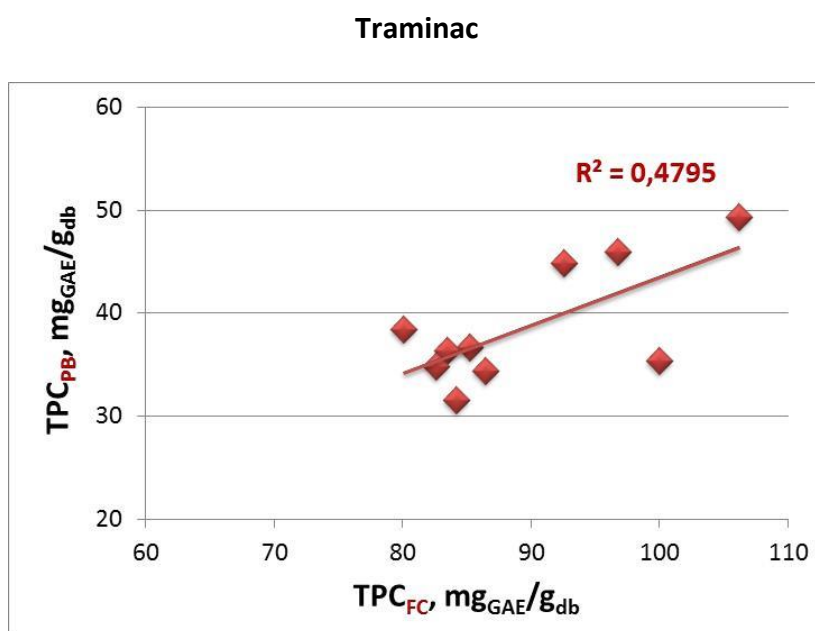
**Slika 12** Udio ukupnih fenolnih spojeva ( $C_{UFS\_FC}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

### Ukupni fenoli Portugizac Prussian Blue

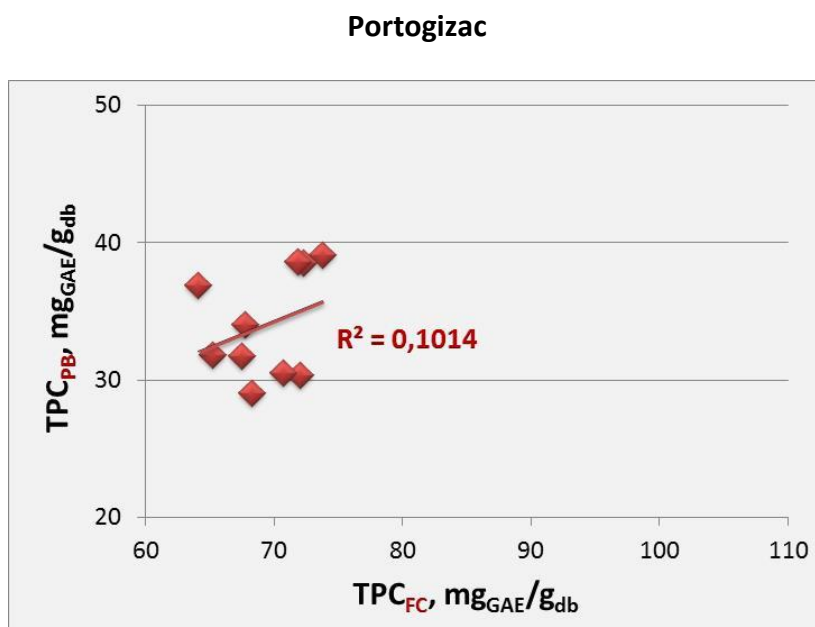


**Slika 13** Udio ukupnih fenolnih spojeva ( $C_{UFS\_FC}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

#### 4.6.2 Povezanost udjela ukupnih fenolnih spojeva određenih Folin-Ciocalteu metodom i Prussian Blue metodom

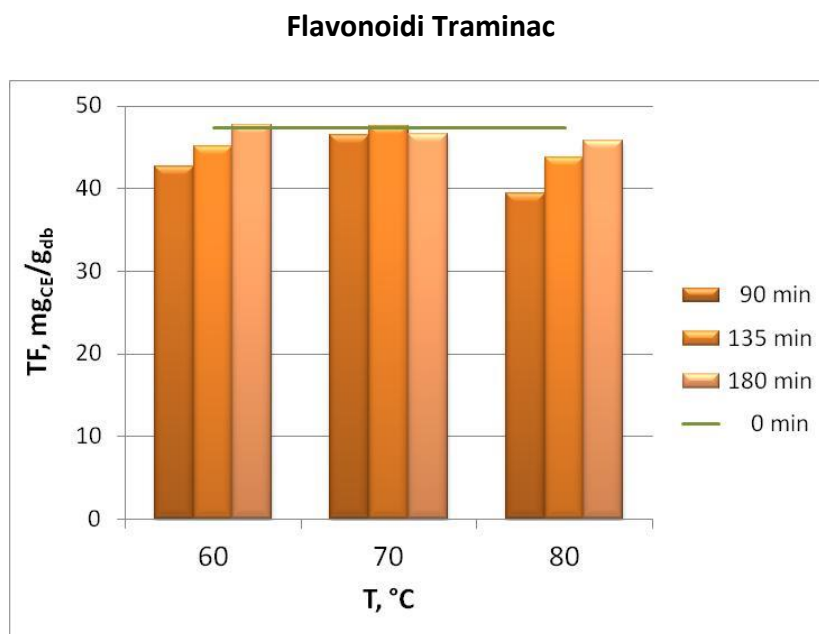


Slika 14 Povezanost vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva određenih Folin-Ciocalteu metodom i Prussian-Blue metodom

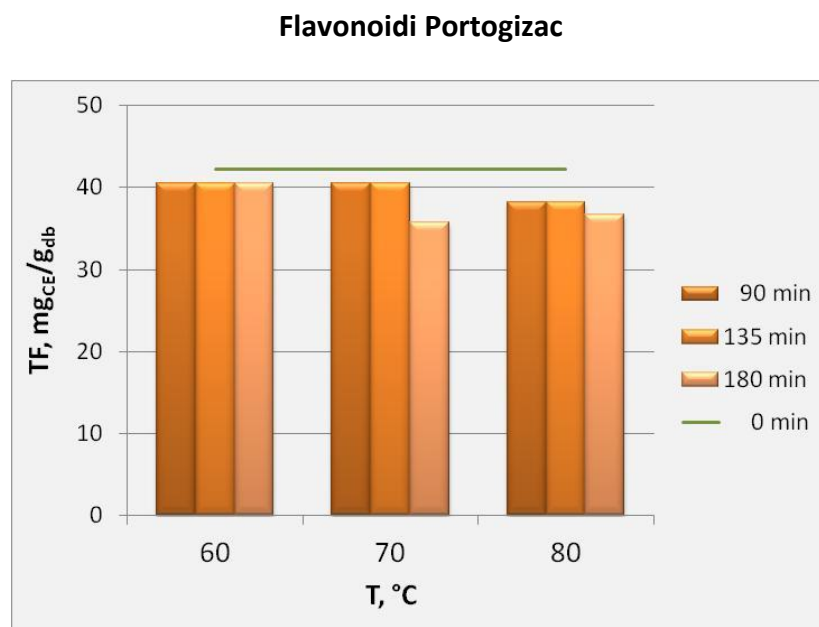


Slika 15 Povezanost vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva određenih Folin-Ciocalteu metodom i Prussian-Blue metodom

## 4.6.3 Udio ukupnih flavonoida u ekstraktima tropa grožđa

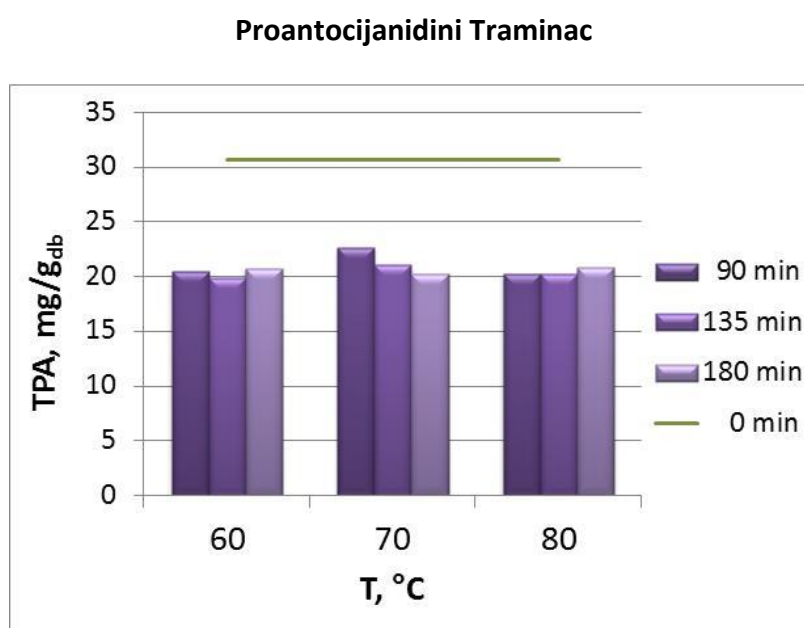


**Slika 16** Udio ukupnih flavonoida ( $C_{UF}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

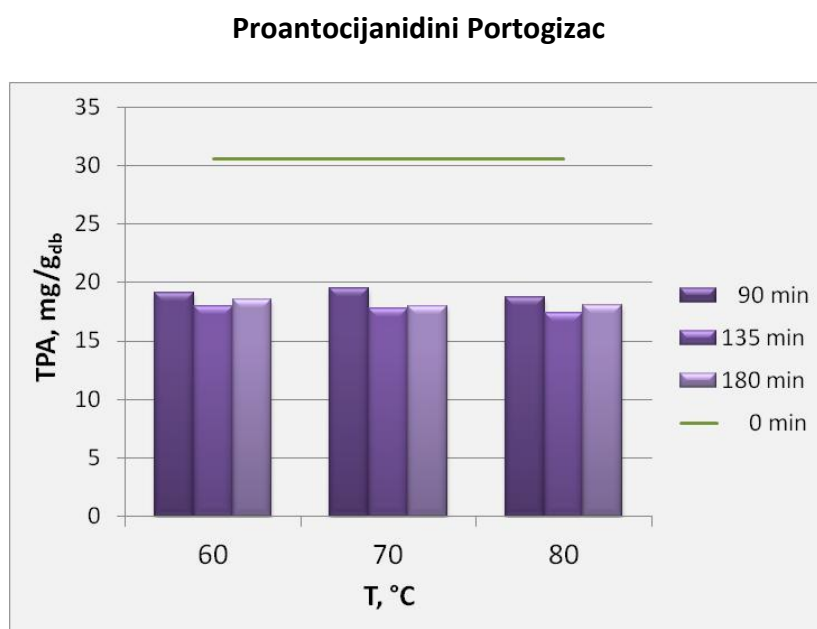


**Slika 17** Udio ukupnih flavonoida ( $C_{UF}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

## 4.6.4 Udio ukupnih ekstrabilnih proantocijanidina u ekstraktima tropa grožđa



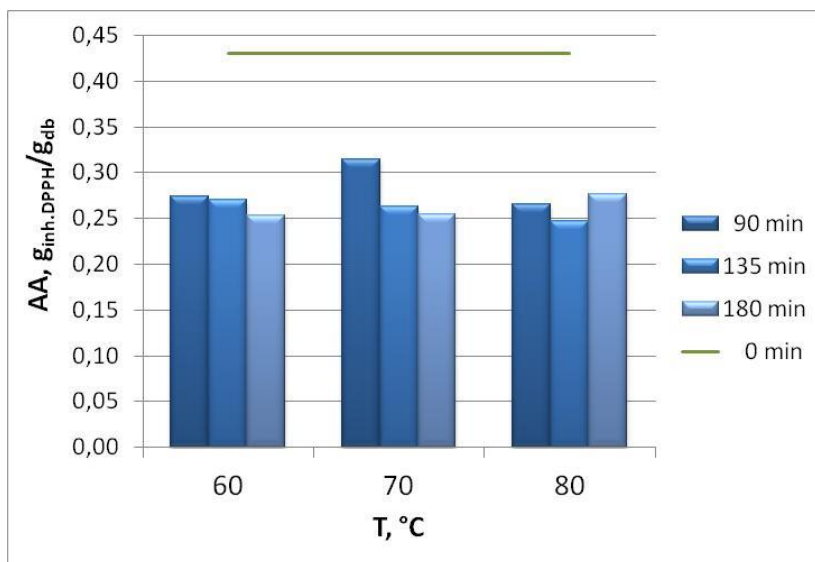
**Slika 18** Udio ukupnih proantocijanidina ( $C_{UPA}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja



**Slika 19** Udio ukupnih proantocijanidina ( $C_{UPA}$ ) u ekstraktima vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

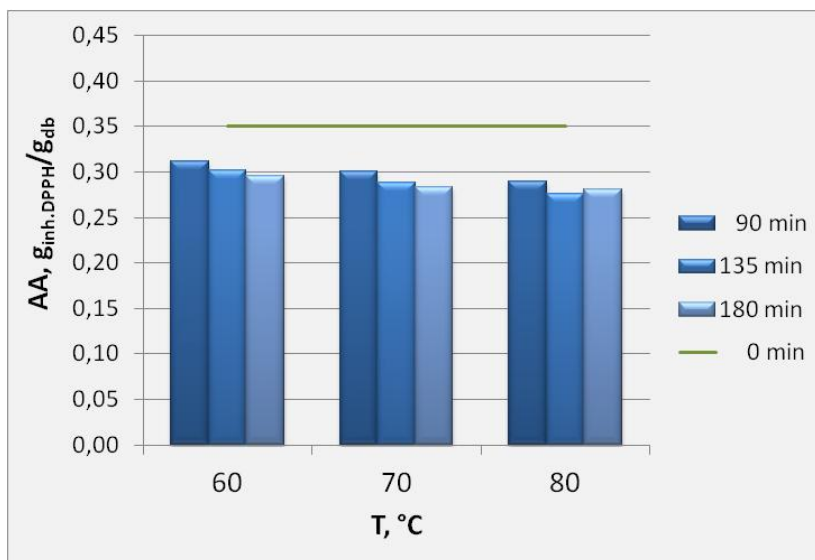
## 4.6.5 Antioksidacijska aktivnost ekstrakata tropa grožđa

## Antioksidacijska aktivnost Traminac



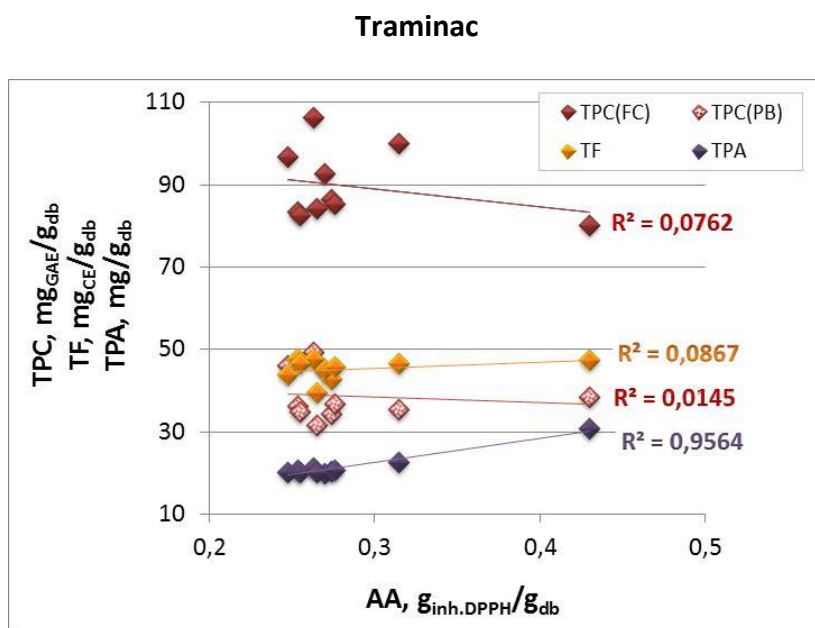
Slika 20 Antioksidacijska aktivnost (AA) ekstrakata vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

## Antioksidacijska aktivnost Portugizac

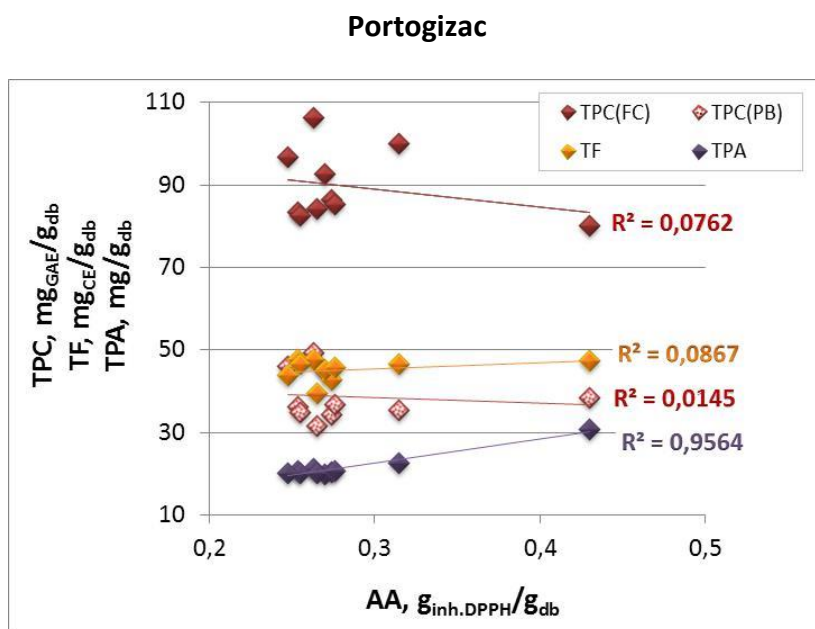


Slika 21 Antioksidacijska aktivnost (AA) ekstrakata vlažnog i osušenog tropa grožđa u ovisnosti o temperaturi i vremenu sušenja

## 4.6.6 Povezanost udjela fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti



Slika 22 Povezanost udjela fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti



Slika 23 Povezanost udjela fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti

## **5 RASPRAVA**



Sušenje tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac provedeno je u fluidiziranom sloju. Sušenjem u fluidiziranom sloju postiže se velika brzina i ujednačenost sušenja. Određen je udio fenolnih spojeva, flavonoida, proantocijanidina u ekstraktima vlažnog i sušenog tropa grožđa za obje sorte grožđa. Određena je antioksidacijska aktivnost ekstrakata vlažnog i sušenog tropa grožđa za obje sorte grožđa. Uspoređivani su rezultati analiza ekstrakata vlažnog i sušenog tropa grožđa.

U ovom istraživanju obrada dobivenih eksperimentalnih podataka i izrada grafova provedena je u Excel programu.

Iz eksperimentalno određenih apsorbancija dobivenih spektrofotometrijskim mjerenjem pomoću regresijskih jednadžbi (5 i 6) dobivenih iz kalibracijske krivulje (*Slika 7*), izračunate su masene koncentracije fenolnih tvari određene metodom prema Folin-Ciocalteau i izražene u ekvivalentima galne kiseline za ukupne fenolne tvari ( $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{mL}$ ). Na isti način izrađena je i kalibracijska krivulja (*Slika 8*) iz koje su dobivene regresijske jednadžbe (7 i 8) za izračun masene koncentracije fenolnih tvari određenih Prussian Blue metodom, čiji su rezultati izraženi u ekvivalentima galne kiseline za ukupne fenolne tvari ( $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{mL}$ ). *Slika 9* prikazuje kalibracijsku krivulju iz koje su dobivene regresijske jednadžbe (9 i 10) za izračunavanje masene koncentracije ukupnih flavonoida, a rezultati su izraženi u ekvivalentima (+)-katehina za ukupne flavonoide ( $\text{mg}_{\text{CE}}/\text{mL}$ ). Masena koncentracija ukupnih proantocijanidina izračunata je prema jednadžbi 2.

Rezultati svih određenih tvari u tropu grožđa preračunati su na masu suhe tvari tropa grožđa prema jednadžbi 11.

Antioksidacijska aktivnost izražena je u postotku inhibiranog DPPH (jednadžba 3), te je potom preračunata na suhu tvar tropa grožđa (jednadžba 4).

Prema Folin-Ciocalteovoj udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Traminac iznosio je  $80,04 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ , u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva iznosile su od  $83,47$  do  $106,21 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ , udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Portugizac iznosio je  $73,83 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ , u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva iznosile su od  $64,11$  do  $72,30 \text{ mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.t.}}$ .

Prema Prussian-Blue metodi udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Traminac iznosio je 38,36 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva iznosile su od 31,66 do 50,53 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Portugizac iznosio je 39,15 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva iznosile su od 30,41 do 38,48 mg<sub>GAE/g<sub>s.t.</sub></sub>. (**Slike 10-13**).

Određivanje ukupnih fenolnih spojeva provedeno je dvjema metodama jer je poznato da Folin-Ciocalteova metoda nije strogo specifična samo za fenolne komponente nego može biti ometana prisutstvom drugih spojeva (šećeri, proteini, askorbinska kiselina i dr.) koji reduciraju Folin-Ciocalteov reagens dajući lažno visoke rezultate. Ovim istraživanjem je to i potvrđeno, odnosno dobivene su niže vrijednosti za udio ukupnih fenolnih spojeva kod Prussian-Blue metode u odnosu na Folin-Ciocalteovu metodu. Isto tako u ekstraktima sušenog tropa grožđa sorte Traminac dobivene su više vrijednosti za ukupne fenolne spojeve objema metodama u odnosu na udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktima vlažnog tropa grožđa, dok su kod ekstrakata sušenog tropa grožđa sorte Portugizac vrijednosti udjela ukupnih fenolnih spojeva bile niže nego kod ekstrakata vlažnog tropa grožđa. Ova pojava može se objasniti razlikom u postupku prerade samog grožđa u vino, odnosno od sorte Traminac proizvode se svijetla vina, koja se proizvode vrenjem mošta (grožđanog soka) bez pokožice i sjemenki, dok se od sorte Portugizac proizvode crna vina, koja se proizvode vrenjem masulja koji se sastoji od soka, pokožice i sjemenki. Stoga možemo pretpostaviti da je trop grožđa sorte Traminac manje iscrpljen, od tropa grožđa sorte Portugizac, odnosno sadrži više zaostalih tvari u tropu, kao što su šećeri, koji na povišenim temperaturama mogu reagirati sa proteinima i stvarati Maillardove produkte koji reagiraju sa Folin-Ciocalteovim reagensom.

**Slike 14 i 15** prikazuju povezanost udjela ukupnih fenolnih spojeva određenih Folin-Ciocalteovom i Prussian-Blue metodom za sorte grožđa Traminac i Portugizac. Kod sorte Traminac koeficijent koleracije (R) iznosio je 0,69 što pokazuje umjerenu do dobru povezanost podataka (48% zajedničkih podataka). Kod sorte Portugizac koeficijent koleracije (R) iznosio je 0,32 što pokazuje slabu povezanost podataka (10% zajedničkih podataka).

Udio ukupnih flavonoida u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Traminac iznosio je 47,38 mg<sub>CE/g<sub>s.t.</sub></sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih flavonoida iznosile su od 39,42 do 47,65 mg<sub>CE/g<sub>s.t.</sub></sub>, udio ukupnih flavonoida u ekstraktima vlažnog tropa grožđa

sorte Portugizac iznosio je 42,24 mg<sub>CE</sub>/g<sub>s.t.</sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih flavonoida iznosile su od 35,79 do 40,61 mg<sub>CE</sub>/g<sub>s.t.</sub> (**Slike 16 i 17**). Kod ekstrakata obje sorte grožđa sušenjem je došlo do smanjenja masenog udjela flavonoida.

Udio ukupnih proantocijanidina u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Traminac iznosio je 30,74 mg/g<sub>s.t.</sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih flavonoida iznosile su od 19,86 do 22,65 mg/g<sub>s.t.</sub>, udio ukupnih proantocijanidina u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Portugizac iznosio je 30,53 mg/g<sub>s.t.</sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa vrijednosti udjela ukupnih flavonoida iznosile su od 17,38 do 19,45 mg/g<sub>s.t.</sub> (**Slike 18 i 19**). Kod ekstrakata obje sorte grožđa sušenjem je došlo do smanjenja masenog udjela proantocijanidina.

Antioksidacijska aktivnost u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Traminac iznosila je 0,43 g<sub>inh.DPPH</sub>/g<sub>s.t.</sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa antioksidacijska aktivnost iznosila je od 0,26 do 0,31 g<sub>inh.DPPH</sub>/g<sub>s.t.</sub>, antioksidacijska aktivnost u ekstraktima vlažnog tropa grožđa sorte Portugizac iznosila je 0,35 g<sub>inh.DPPH</sub>/g<sub>s.t.</sub>, u ekstraktima sušenog tropa grožđa antioksidacijska aktivnost iznosila je od 0,28 do 0,31 g<sub>inh.DPPH</sub>/g<sub>s.t.</sub> (**Slike 20 i 21**). Kod ekstrakata obje sorte grožđa sušenjem je došlo do smanjenja antioksidacijske aktivnosti.

**Slike 22 i 23** prikazuju povezanost udjela fenolnih spojeva i antioksidacijske aktivnosti ekstrakata tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac. Kod sorte Traminac vrijednost koeficijenta povezanosti (R) za ukupne fenolne spojeve i ukupne flavonoide kreće se od 0,28 do 0,38, što predstavlja slabu povezanost, dok je koeficijent povezanost (R) udjela ukupnih proantocijanidina i antioksidacijske aktivnosti iznosio 0,98 što predstavlja izvrsnu povezanost, uz 96% zajedničkih podataka. Kod sorte Portugizac vrijednost koeficijenta povezanosti (R) za ukupne fenolne spojeve i ukupne flavonoide kreće se od 0,67 do 0,75, što predstavlja dobru povezanost, dok je koeficijent povezanost (R) udjela ukupnih proantocijanidina i antioksidacijske aktivnosti iznosio 0,91 što predstavlja izvrsnu povezanost, uz 83% zajedničkih podataka.

## **6 ZAKLJUČCI**

Na osnovu dobivenih eksperimentalnih podataka, njihove statističke obrade i rasprave može se zaključiti sljedeće:

- Sušenjem tropa grožđa u fluidiziranom sloju pri ispitivanim uvjetima (temperatura 60 °C; 70 °C i 80 °C i vrijeme 90; 135 i 180 minuta) smanjen je udio vlage tropa grožđa sa 66% na udio vlage ispod 10%, udio vlage smanjivao se proporcionalno povećanju temperature i vremena sušenja
- Sušenje tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac u fluidiziranom sloju pri ispitivanim uvjetima utjecalo je na:
  - povećanje ukupnih fenolnih spojeva za trop grožđa sorte Traminac u iznosu do 32,7% (rezultat dobiven Folin-Ciocalteu metodom), i 31,7% (rezultat dobiven Prussian-Blue metodom)
  - smanjenje ukupnih fenolnih spojeva za trop grožđa sorte Portugizac u iznosu do 13,2% (rezultat dobiven Folin-Ciocalteu metodom), i 22,3% (rezultat dobiven Prussian-Blue metodom)
  - smanjenje ukupnih flavonoida za trop obje ispitivane sorte grožđa, smanjenje ukupnih flavonoida za trop grožđa sorte Traminac iznosilo je do 16,8%, dok je smanjenje ukupnih flavonoida za trop grožđa sorte Portugizac iznosilo do 15,3%
  - smanjenje ukupnih proantocijanidina za trop obje ispitivane sorte grožđa, smanjenje ukupnih proantocijanidina za trop grožđa sorte Traminac iznosilo je do 35,4%, dok je smanjenje ukupnih proantocijanidina za trop grožđa sorte Portugizac iznosilo do 43,1%
- Sušenje tropa grožđa sorti Traminac i Portugizac u fluidiziranom sloju utjecalo je na smanjenje antioksidacijske aktivnosti za obje ispitivane sorte grožđa, za trop grožđa sorte Traminac smanjenje antioksidacijske aktivnosti iznosilo je do 39,5%, dok je smanjenje antioksidacijske aktivnosti za trop grožđa sorte Portugizac iznosilo do 20%
- Ukupni proantocijanidini najviše doprinose antioksidacijskoj aktivnosti ekstrakta kod tropa obje sorte grožđa
- Kako je sušenje tropa grožđa u fluidiziranom sloju pri ispitivanim uvjetima dovelo do smanjenja udjela ekstrahiranih fenolnih tvari, kao i na smanjenje antioksidacijske aktivnosti sušenje tropa grožđa u fluidiziranom sloju potrebno je provoditi ili na nižim temperaturama ili tijekom kraćeg vremena sušenja.

## **7 LITERATURA**

- Avallone R., Plessi M., Baraldi M., Monzani A.. Deteermination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of Food Composition and Analysis* 41, 475-487, 2006.
- Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D.. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes and Aronia. *Journal of Food Science*: 69, 164-169, 2004.
- Bucić-Kojić A.: Utjecaj procesnih uvjeta i načina kruto-tekuće ekstrakcije na ekstrabilnost fenolnih tvari iz sjemenki grožđa. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2008.
- Budini R., Tonelli D., Griotti S.: Analysis of Total Phenols using the Prussian Blue Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 28, 1236-1238, 1980.
- Chafer A., Berna A., Monton J. B., Munoz R.: High pressure solubility data of system ethanol (1) + epicatehin (2) + CO<sub>2</sub> (3). *Journal of Supercritical Fluids*, 24, 103-109, 2002.
- Gumul D., Korus J.: Polyphenol content and antioxidant activity of rye bran extrudates produces at varying parameters of extrusion process. *EJPAU* 9(4), 11, 2006.
- Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J.. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572-584, 2002.
- Kzazazić S. P.. Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arhiv za higijenu Rada i Toksikologiju*: 55, 279-290, 2004.
- Lapornik B., Prošek M., Golc Wondra A.: Comparision of extracts prepared fro plant byproducts using different solvents and extraction time. *Journal Food Engineering*, 71, 214-222, 2005.
- Marinova D., Ribarova F., Atanassova M.. Total phenolic and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the university of Chemical Tehnology and Metallurgy*: 40, 255-260, 2005.

- Mujić I.: *Ekstrakcija i ekstraktori biljnih materijala*. Biotehnički fakultet, Bihać, 2006.
- Naczk M., Shahidi F.. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*: 1054, 95-111, 2004.
- Naczk M., Shahidi F.. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41, 1523-1542, 2006.
- Pinelo M., Sineiro J., Núñez M. J.. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering* 77, 57-63, 2006.
- Planinić M.: Modeliranje procesa i određivanje efektivnog koeficijenta difuzivnosti vlage tijekom sušenja mrkve i krumpira. *Doktorski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2008.
- Podhorski R., Viličić Ž., *Fludizacija*, Tehnička enciklopedija br. 5, LZMK, Zagreb, 451-461, 1974.
- Radanović V.: *Tehnologija vina*. IRO Građevinska knjiga, Beograd, 1986.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribereau-Gayon P. and Sudraud P. (1976) *Sciences et Techniques du Vin*, Vol. 3: *Vinifications – Transformations du Vin*, Dunod, Paris., 1976.
- Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang., Glover W.. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66, 401-436, 1999.
- Sahelian R., Polyphenols. <http://www.raysahelian.com/polyphenols.html> [24. 02. 2015.]
- Schofield P., Mbugua D. M., Pell A. N.. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*: 91, 21-40, 2001.
- Skoog D. A., West D.M. Holler F. J.: *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga Zagreb, 516-620, 1999.
- Stratil P., Klejdus B., Kubán V.. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables – Evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 54, 607-616, 2006.



Šeruga M.: Kolorimetrija. *Laboratorijske vježbe iz fizikalne kemije*. Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 1988.

Škerget M., Kotnik P., Handolin M., Rižner Hraš A., Simonič M., Knez Ž.. Phenols, proantocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*: 89, 191-198, 2005.

Tomas S.: *Sušenje, apsorpcija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, str. 1-14, 2000.

Tripalo B., Viličić Ž.: *Sušenje*, Tehnička enciklopedija br. 12, LZMK, Zagreb, str. 451-461, 1992.

Veljković V. B., Milenović D.M.: Analiza ekstrakcije rezionida kantariona (*Hypericum perforatum* L.). *Kemija u industriji* 56, 60-67, 2002.

Wood J. E., Sentilmohan S. T., Peskin A. V.. Antioksidant activity of procyanidin containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*: 77, 155-161, 2002.

Yilmaz Y., Toledo R. T.. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in Food Science & Technology* 15, 422-433, 2004.