

Enzimsko posmeđivanje jabuka

Bušić, Nives

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:915644>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**

REPOZITORIJ

PTF

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

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Nives Bušić

Enzimsko posmeđivanje jabuka

završni rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

Nastavni predmet

Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II

Enzimsko posmeđivanje jabuka

Završni rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban

Studentica: Nives Bušić

MB: 3554/10

Mentor: izv. prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban

Predano (datum):

Pregledano (datum):

Ocjena:

Potpis mentora:

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za prehrambenu tehnologiju

Katedra za tehnologiju voća i povrća

Franje Kuhača 20, 3100 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II

Tema rada: je prihvaćena na X sjednici Odbora za završne i diplomske ispite.

Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek odražanoj 16.rujna.2014.

Mentor: dr. sc. Nela Nedić Tiban

ENZIMSKO POSMEĐIVANJE JABUKA

Nives Bušić

Sažetak: Tijekom čuvanja, odnosno prerade prehrambenih proizvoda dolazi do različitih poželjnih ili ne poželjnih promjena boje. Ovim promjenama je posebno podležno voće i povrće. Promjena boje (posmeđivanje) do koje dolazi tijekom prerade i čuvanja voća i povrća, odnosno proizvoda od voća i povrća može se podijeliti na: enzimsko i neenzimsko posmeđivanje voća i povrća. Enzimsko posmeđivanje nastaje tijekom rezanja, guljenja ili usitnjavanja voća i povrća, odnosno mehaničkom povredom tkiva. Usljed enzimskog posmeđivanja dolazi do promjene boje namirnice kao i do promjene kemijskog sastava i prehrambene vrijednosti. Mnogi autori navode da je više od 50% gubitka voća posljedica enzimskog posmeđivanja. Takvi gubici impliciraju potrebu za što jasnijim razumijevanjem mehanizma enzimskog posmeđivanja, kako bi se omogućilo sprječavanje ili usporavanje tih reakcija te na taj način produžio rok trajanja proizvoda, minimalizirali gubici i osigurala ekonomska profitabilnost.

Ključne riječi: enzimsko posmeđivanje , polifenol oksidaza.

Rad sadrži: 37 stranica

1 tabilca

17 slika

28 referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Faculty of Food Technology Osijek

Department of Food Technologies

Subdepartment of Fruit and Vegetable Technology

Franje Kuhača 20, HR-3100 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific filed: Food Technology

Course title: Technology of Plant-Based Raw Materials II

Thesis subject: was approved by the Board of pre-Bologna and Graduate Exams of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. X held on September 16.2014.

Mentor: Nela Nedić Tiban, PhD, assoc.prof.

ENZYMATIC BROWNING OF APPELS

Summary: Different desirable and undesirable changes of colour occur during the conservation, that is, the processing of food products. Fruit and vegetables are especially susceptible to these changes. Change of colour (turning into brown), which occurs during the processing and conservation of fruit and vegetables, can be divided into: enzymatic and non-enzymatic browning of fruit and vegetables. Enzymatic browning appears during cutting, peeling or chopping of fruit and vegetables, that is, by mechanical damage of tissue. During the enzymatic browning, not only does the food change colour, but there is also the change in chemical structure and nutritive value. Many authors state that more than 50% of fruit losses is due to enzymatic browning. Such losses implicate a need for clearer understanding of the enzymatic browning, mechanism in order to prevent or to slow down such reactions and thus to prolong the product lifetime, minimise losses and ensure economic profitability.

Key words: enzymatic browning, polyphenol oxidase

Thesis contains: 37 pages

1 tables

17 figures

28 refereces

Orginal in: Croatian

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

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Jabuka.....	2
2.1.1. Antioksidativna aktivnost jabuka.....	4
2.1.2. Određivanje početka berbe jabuka.....	6
2.1.3. Sorte jabuka.....	8
2.1.4. Promjena na plodovima jabuka tijekom čuvanja.....	9
2.2. Enzimsko posmeđivanje jabuka.....	11
2.2.1. Čimbenici koji utječu na enzimsko posmeđivanje jabuka.....	12
2.2.2. Enzimi posmeđivanja.....	13
2.2.3. Supstrati polifenol oksidaze.....	18
2.3. Sprječavanje enzimskog posmeđivanja.....	22
2.3.1. Djelovanje na enzim.....	22
2.3.2. Djelovanje na kisik.....	26
2.3.3. Djelovanje na supstrate i reakcijske produkte.....	27
2.3.4. Inibitori posmeđivanja.....	31
3. ZAKLJUČAK.....	33
4. LITERATURA.....	34

1. UVOD

Enzimsko posmeđivanje predstavlja gubitak i promjenu boje plodova voća nakon što je na bilo koji način uslijed izloženosti zraku narušena osnovna struktura ploda (guljenje, rezanje, drobljenje, i dr.). Procjenjuje se da se više od 50% gubitka voća javlja kao rezultat enzimskog posmeđivanja. Posmeđivanje voća i povrća, osim što utječe na ekonomske prihode proizvođača, uzrokuje gubitak i za potošača.

Boja hrane je značajan čimbenik za prihvatljivost prehrambenih proizvoda. Tijekom čuvanja i prerade dolazi do različitih poželjnih ili ne poželjnih promjena boje.

U procesu prerade voća i povrća procesi posmeđivanja jedan su od najvećih problema.

Iako posmeđivanje u većini slučajeva predstavlja negativnu pojavu, ono može biti i poželjno.

Poželjno je kod prehrambenih proizvoda kod kojih je boja često najznačajni čimbenik za prihvatljivost od strane potrošača (groždice, kava, crne masline...).

Jabuka je plod stabla jabuke, vrste *Malus domestica*, porodice *Rosaceae*. Dozrijeva tijekom ljeta do polovice jeseni. Zbog unapređivanja tehnologije skladištenje jabuke te razvitak ULO hladnjača, potrošnja svježih plodova jabuke traje čitave godine.

U radu će biti opisan kemizam enzimskog posmeđivanja jabuka, čimbenici koji dovode do posmeđivanja jabuka, naročito enzim polifenol oksidaza (PPO), te supstrati, odnosno polifenolni spojevi koji su prisutni i sudjeluju u reakcijama posmeđivanja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Jabuka

Jabuka je plod stabla jabuke, vrste *Malus domestica*, porodice *Rosaceae* (web 1).

Stablo jabuke najčešće je kultivirano stablo na svijetu, a kao divlje raslo je u Europi još u pretpovijesnog doba. Pitoma jabuka podrijetlom je iz južnog Sibira i Azije, a Grci i Rimljani uzgajali su različite sorte. Stablo jabuke može biti do 12 m visoko, s razgranatom krošnjom. U svibnju cvate blijedo ružičastim do bijelim cvjetovima, a plodovi sazrijevaju od srpnja do listopada ovisno o sorti jabuke. Jabuka je najrasprostranjenija vrsta voća, osvježavajuća, kiselo-slatkog okusa i svojstvene arome. Poznate su brojne sorte (njih oko 10 000) a razlikuju se po okusu, slatkoći ili kiselosti, konzistenciji i sočnosti (web 1).



Slika 1 Jabuka (web 2).

Plod jabuke bogat je hranjivim sastojcima čija količina ovisi o vrsti, načinu uzgoja, a gotovo svi potrebni nutrijenti prisutni su barem u minimalnim količinama. Voda čini oko 82% ploda, ugljikohidrata ima oko 12%, masti i bjelančevina ima oko 1%, a celuloza se nalazi u plodu u količini od oko 1%. Jabuka sadrži i druge sastojke koji su neophodni za ljudski organizam: šećer (glukoza, fruktoza i saharoza), netopiva vlakna (pektin), organske kiseline (omjer šećera i kiselina određuju slatkoću), sve esencijalne i neesencijalne aminokiseline ali u malim količinama, aromatične tvari, boje (klorofil, karotenoidi i antocijani), vitamine i minerale najviše kalija čak i masnoće (sjemenke sadrže 24% ulja). Jabuka sadrži 3,3 g dijetalnih vlakana (web 1).

Od bioflavonoida jabuka sadrži najviše antocijana, koji su koncentrirani u kori i daju jabuci crvenu boju. Iz tog je razloga preporučljivo jesti jabuku s korom. Antocijani imaju protuupalno djelovanje, djeluju zaštitno na jetru i srce, te djeluju na imunološki sustav. Bioflavonoidi pojačavaju djelovanje vitamina C (web 1).

2.1.1. Antioksidativna aktivnost jabuka

Antioksidansi su tvari koji djeluju na način da štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala (npr. vitamin E, vitamin C, selen). Ljudski organizam ima upravo dovoljan antioksidacijski mehanizam obrane u svrhu uravnoteženja normalnog odnosa prooksidans/antioksidans. Neravnoteža između njih i razine sistema antioksidacijske obrane izaziva oksidacijski stres. Upravo kao i u ljudskom organizmu, proces oksidacije nepoželjna je pojava i u hrani. U tom smislu je izuzetno povećan interes prehrambene industrije za antioksidansima, posebno onima iz prirodnih izvora. Voće i povrće njihov su primarni izvor koji imaju najviše karotenoida i vitamina C.

Slobodni radikali nastaju svakodnevno u organizmu kao proizvodi razlaganja kisika u procesu oksidacije hrane u stanicama, odnosno stvaranja energije neophodne za život. Vezivanjem slobodnih radikala na lipide, ugljikohidrate, bjelančevine i genetski materijal nastaju nove lančane reakcije i oštećenja. Nagomilavanje slobodnih radikala narušava zdravlje i ubrzava starenje pa postajemo podložni nizu degenerativnih promjena.

Antioksidansi mogu biti enzimske i neenzimske prirode. Organizam može vlastitim obrambenim snagama (prirodnim antioksidansima) svladati određenu količinu slobodnih radikala. Kapacitet stvaranja antioksidanasa je uvjetovan ne samo genetski i spolom, već i životnom dobi, te navikama, osobito navikama u prehrani. Mnoge fitokemikalije i fitonutrienti- tvari iz voća, povrća i žitarica koje blagotvorno djeluju na zdravlje neutraliziraju slobodne radikale. Fitokemikalije čine zapravo obrambeni sustav biljaka i vrlo su moćni antioksidansi koji djelotvorno štite od mnogih bolesti, kao što su srčana oboljenja, dijabetes, povišeni krvni tlak, osteoporoza, plućne bolesti i rak (Kazazić, 2004.).

Tipovi antioksidanasa u hrani:

- Primarni: fenolne kiseline, galati, hidrokinoni, BHA (butilirani hidroksianisol), BHT (butilirani hidroksitoluen), tokoferoli, flavonoidi, askrobati, ekstrati biljaka i začina, antioksidansi nastali procesiranjem
- Sekundarni: tiopropionska kiselina, esteri tiopropionske kiseline
- Sinergisti: sulfiti, askrobinska kiselina, eritorbinska kiselina, polifosfati, vinska kiselina, limunska kiselina, lecitin, nitrati, amniokiseline, cink, selen, flavonoidi, karotenoidi

Djelovanje antioksidanasa

- Usporavanje starenja
- Snižavaju razinu kolesterola
- Smanjuju rizik od ateroskleroze
- Štite od srčanog i moždanog udara
- Smanjuju rizik nastanka raka
- Pomažu suzbijanju rasta tumora
- Pomažu detoksikaciju kancerogenih tvari
- Usporavaju napredovanje Alzheimerove bolesti
- Štite oči od procesa odumiranja makule
- Pomažu u obrani od štetnih posljedica duhanskog dima
- Pružaju zaštitu od kroničnih plućnih bolesti kao što su astma, bronhitis
- Pružaju zaštitu od ekoloških zagađivača (Kazazić, 2004)

U prirodne antoksidanse ubrajamo karotenoide od kojih su najpoznatiji beta karoten, likopen i lutein, flavonoide i izoflavone, vitamine A, C i E, mineralne selen i cink, koenzim Q, povrće iz roda krstašica i češnjak, borovnicu, glutation, liponsku kiselinu, melatonin. Hranom bi trebalo unositi četiri važna antioksidansa. To su vitamin C, beta karoten, vitamin E, te selen (web 3).

2.1.2. Određivanje početka berbe jabuka

Razlikuju se tri stupnja zrelosti. To su fiziološka zrelost, konzumna i tehnološka zrelost. U fiziološkoj zrelosti plodovi dostižu svoju najveću krupnoću, a sjemenke su posve razvijene i u povoljnim uvjetima mogu proklijati. Kad plodovi postignu najbolji okus, miris i boju pokožice te ostale karakteristike potrebne za daljnu namjenu (prerada, čuvanje) može se govoriti o tehnološkoj zrelosti (web 4).

Konzumna zrelost je stadij kada je voće prikladno za konzumiranje (web 4).

Plodovi raznih sorti beru se 6 do 7 dana prije tehnološke zrelosti, jesenske sorte 7 do 14 dana prije tehnološke zrelosti a zimske sorte se beru u fiziološkoj zrelosti. Postoji više metoda kojima se određuje dan početka berbe plodova jabuke (web 4).

Boja sjemenke u plodu se mijenja obično u vrijeme fiziološke zrelosti te bijela sjemenka poprima smeđu, tamna crnu boju (web 4).

Sigurniji pokazatelj optimalnog vremena berbe je metoda brojenja dana od pune cvatnje do zriobe. Radi se za svaku sortu posebno, ovisi o klimatskim uvjetima pa nije potpuno sigurna metoda. Za sortu *Jonathan* i njegove mutante iznosi od 140 do 145 dana, za *Red Delicious* iznosi od 145 do 155 dana, a za *Golden Delicious* 150 do 155 dana. Sljedeća metoda je zbrajanje srednjih dnevnih temperatura od pune cvatnje do berbe. Za sortu *Jonathan* taj zbroj iznosi 2440 °C. Metoda mjerenja čvrstoće ploda se mjeri posebnim aparatom koji se zove penetrometar (web 4).

Test na škrob:

Hidroliza škroba u šećer u plodovima voća počinje u središtu ploda, dok se škrob najdulje zadržava u vanjskom dijelu ploda, ispod pokožice. Plodovi za konzum moraju imati minimalnu količinu škroba jer veći sadržaj utječe, prije svega, na okus (web 4).



Slika 2 Test na škrob (web 4).



Slika 3 Penetrometar (web 5).

2.1.3. Sorte jabuka

Red Delicious je sorta jabuke koja dozrijeva u rujnu. Plod je krupan, zvonolika oblika, s karakterističnim rebrima oko čašice, i dubokom čašicom koja je okružena rebrima. Meso je žuto, sočno, više slatko nego kiselkasto, a miris podsjeća na dinju (Brzica, 1995)

Jonagold je američka sorta nastala križanjem sorti *Golden delicious* i *Jonathan*. Visokoproduktivna je plantažna sorta. Sazrijeva krajem rujna. Plodovi su vrlo krupni, okruglastog konusnog oblika, temeljne žućkasto-zelenkaste boje, kiselkastog-slatkastog okusa i fine arome. Spada u sorte koje treba skladištiti u suvremenim hladnjačama jer se u običnim skladištima kratko održava i gubi na kakvoći (Krpina, 2004)

Fuji je japanska sorta nastala križanjem sorti *Red delicious* i *Ralls janet*. Visokoproduktivna je plantažna sorta. Sazrijeva polovicom ili u drugoj polovici listopada. Plodovi su joj osrednje krupni, obojeni žuto-naračastom i prošarano crvenom bojom, fine je teksture i slatkog, ali nedovoljnog kiselog okusa. Premda je to stara japanska sorta, u Europi se širi tek posljednjih desetak godina (Krpina, 2004).

Sorte jabuka koje se najviše uzgajaju u Hrvatskoj su *Golden Delicious*, *Granny Smitih* i dr (web 4).

2.1.4. Promjene na plodovima jabuka tijekom čuvanja

Tijekom berbe jabuka nastavljaju se isti procesi koji su se odvijali i dok je plod bio na biljci.

Radi se o različitim biokemijskim procesima koji se svode na razlaganje supstanci koje se nalaze i u plodu, ali i na potrošnji i oslobađanju energije. Ove procese možemo nazvati dozrijevanje plodova. Promjene koje nastaju mogu biti pozitivne i negativne a intenzitet odvijanja procesa ovisi o stupnju zrelosti u trenutku berbe, načina izvođenja berbe i uvjetima čuvanja. Pozitivne promjene predstavljaju morfološke i fiziološke promjene na plodovima koje poboljšavaju njihovu kvalitetu. Promjene mogu biti: mehaničko – fizičke, fiziološke i patološke (web 6).

Mehaničko – fizičke promjene na plodovima mogu biti posljedica neadekvatne berbe, ne pažljivog rukovanja tijekom punjena ambalaže, transporta. Udarne mjesta mijenjaju svoja kvalitativna svojstva i dolazi do smežuravanja plodova.

Patološke promjene na plodovima nastaju kao posljedica razvitka parazitnih gljiva i štetočina na plodovima (*Botritis cinerea*, *Monila fructigena*, *Aspergillus niger*). Dolazi do različitih deformacija na plodovima i pojavljuje se različita vrsta truleža.

Fiziološke promjene su posljedica fizioloških poremećaja u samim plodovima a mogu nastati bilo u voćnjaku bilo u skladištu. Dolazi do promjena na pokožici i mesu ploda u vidu posmeđivanja. Ovakve promjene dovode do velikih finansijskih gubitaka. Najznačajnije bolesti su gorke pjege, staklavost, skald (web 4).

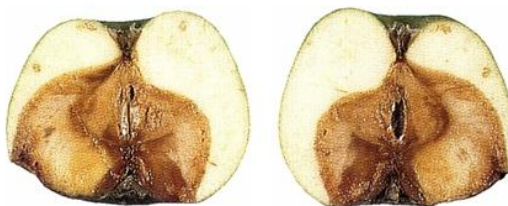
Skald iako nije gljivična bolest često se javlja na sortama prvenstveno zelene boje kože, prekasnog ili preranog termina branja, čestih izmjena temperature u skladištima, dugog i neodgovarajućeg čuvanja, toplog i suhog vremena kod berbe. Glavni simptomi su posmeđenje površine kože u nepravilnim oblicima tijekom skladištenja (web 4).



Slika 4 Staklavost jabuke (web 7).



Slika 5 Gorke pjege na jabuci (web 8).



Slika 6 Posmeđivanje jabuka (web 9).

2.2. Enzimsko posmeđivanje jabuka

Enzimsko posmeđivanje je proces oksidativne pretvorbe raznih supstrata tipa fenola u kinone, koji sudjeluju dalje u procesima kondenzacije i zajedno sa visokomolekularnim spojevima daju smeđe do crno obojene spojeve, tzv.melanoide. Enzimsko posmeđivanje je funkcija aktivnosti enzima i koncentracije supstrata u voću i povrću, a o njihovima koncentracijama ovisi stupanj posmeđivanja (web 10).

Posmeđivanje ne rezultira samo promjenom boje nego i promjenama drugih senzorskih svojstava kao što su okus, miris i tekstura, te promjenama nutritivne vrijednosti (Komthong i sur, 2006., Jiang, 2004.).

Među reakcije koje dovode do propadanja, voća i povrća u prerađevinama je i enzimsko posmeđivanje. Enzimsko posmeđivanje u većini slučajeva predstavlja negativnu pojavu koja je vezana za promjenu boje i sastava voća i povrća kojemu je na bilo koji način (guljenjem, rezanjem...) narušena osnovna struktura. Promjena boje svježeg voća, povrća je kompleksan proces, tijekom kojeg se monofenolni spojevi, uz nazočnost polifenol oksidaze i kisika hidroksiliraju u o-difenole, koji se kasnije oksidiraju do o-kinona. Nastali kinoni su jako reaktivni. Boja hrane je prvi i najznačajni čimbenik za prihvatljivost prehrambenog proizvoda od strane potrošača. Prehrambeni proizvodi sa visokom kvalitetom boje obično imaju veću vrijednost na tržištu. Jabuke predstavljaju voće koje je podložno enzimskom posmeđivanju, autohtone sorte su bogatije polifenolima, a time i sklonije posmeđivanju. Utvrđene su velike poteškoće tijekom izolacije PPO iz jabuka sorte *Monroe*, uslijed nazočnosti polifenola, koji reagiraju s enzimima i pri tome uzrokuju njihovu inaktivaciju i molekularnu modifikaciju. Da bi se izbjegli ovi problemi korišten je polivinil pirolidon. (Šubarić, 1999.).

2.2.1. Čimbenici koji utječu na enzimsko posmeđivanje

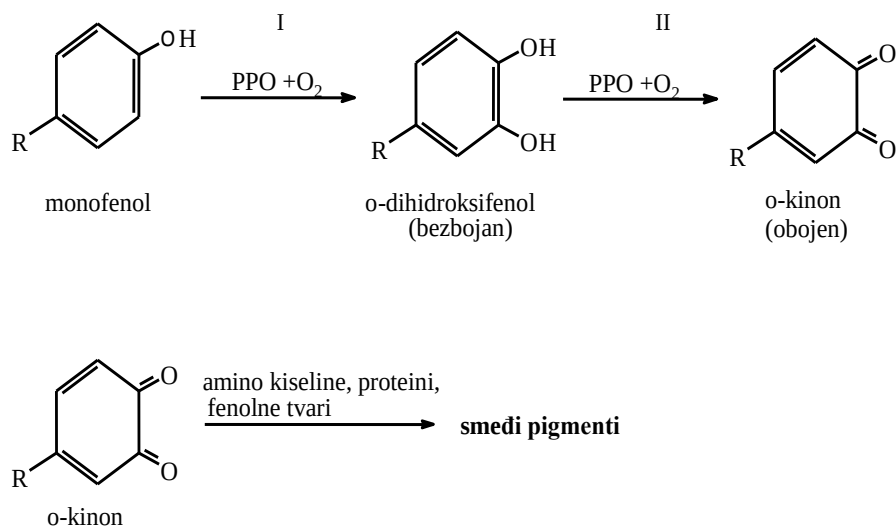
Enzimsko posmeđivanje se odvija u prisutnosti enzima, fenolnih spojeva (derivata katehola) i kisika (Murata i sur., 1992.).

Mehaničkim oštećenjem tkiva, enzim (smješten u citoplazmi), dolazi u kontakt sa supstratom (fenolni spojevi pretežno smješteni u vakuolama) i sa kisikom iz zraka, pri čemu dolazi do posmeđivanja. Ovi čimbenici stupaju u kontakt tek kada je narušena stanična struktura. U tehnologiji prerade voća i povrća to su operacije rezanja, mljevanja, drobljenja i dr (web 3).

2.2.2. Enzimi posmeđivanja

Tirozinaza je često poznata kao katehol oksidaza, o-difenolaza, fenolaza i polifenol-oksidaza (PPO). Taj enzim sadrži bakar kao protetsku skupinu koja također ima ključnu ulogu u biosintezi melanina i drugih polifenolnih spojeva (Šubarić, 1999.).

Tirozinaza katalizira ortohidroksilaciju monofenola do o-difenola kao i oksidaciju o-difenola do o-kinona. Reakcija obuhvaća uvođenje hidroksilne skupine u molekulu monofenola u orto položaj u odnosu na postojeću hidroksilnu skupinu.



Slika 7 Reakcije hidroksilacije monofenola i dehidrogenacije o-difenola, katalizirane enzimom polifenol oksidaze (Šubarić, 1999.).

Optimalni pH je između 5 i 7 za djelovanje polifenol-oksidaze. Ne pripada enzimima koji su jako stabilni kada je u pitanju djelovanje topline. Kratkotrajno izlaganje temperaturi od 70 - 90 °C, u tkivima i otopini, u većini slučajeva dovoljno je za djelomično ili potpuno inaktiviranje enzima (Murata i sur., 1992.).

U mikroorganizmima, biljkama i životinjama je zastupljen enzim polifenol-oksida. Biljke su bogate polifenolima koji sa mikroorganizmima sadrže veliki broj strukturno različitih monofenola, difenola i polifenola. Polifenol-oksida se smatra topljivim proteinom iz mikroorganizama i biljaka dok je kod sisavaca su vezan za membrane specifičnim organelama (melanozomima) (Šubarić, 1999.).

Molekularna masa varira između 29 000 i 200 000, sa podjedinicama od 29 000 do 69 000 ovisno o izvoru enzima. Enzimi iz bakterije *Streptomyces glaucescens* ima najmanju funkcionalnu jedinicu sa jednim parom bakra po polipeptidnom lancu od 29 000 (Šubarić, 1999.).

PPO su općenito nazočne u vrlo malim koncentracijama u svim organizmima u kojima su ispitivane. Da bi se enzim dobio u čvrstom obliku postoje određene poteškoće koje se odnose na kontaminaciju pigmentima i postojanje različitih oblika. To je jedan od razloga da je do nedavno samo PPO jedne vrste (*Neurospora crassa*) detaljno ispitan (Šubarić, 1999.).

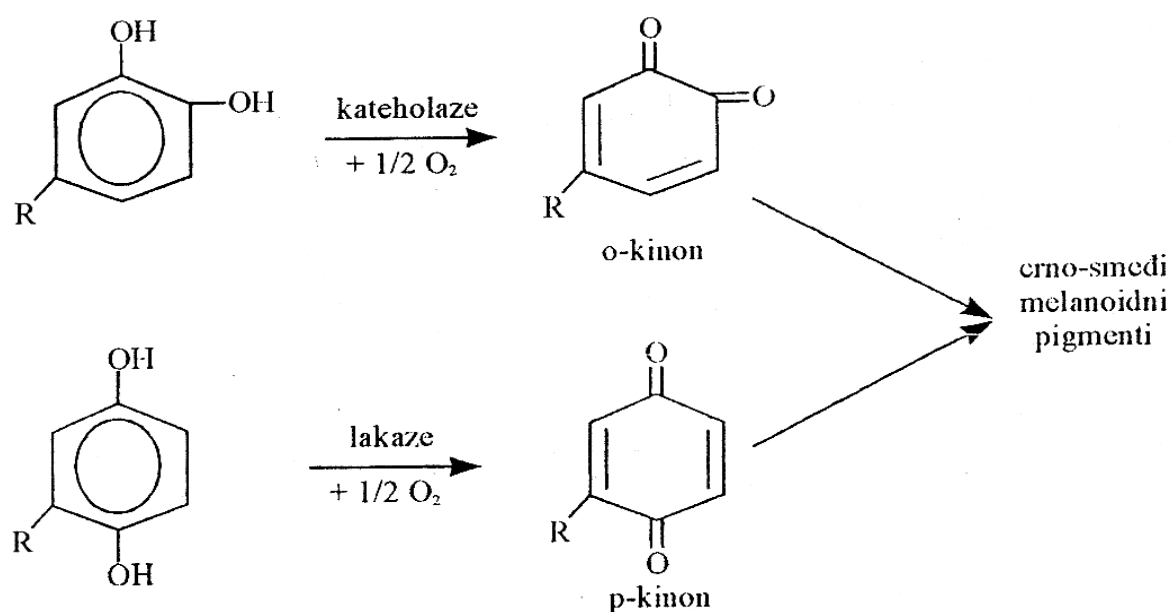
Razlikuju se tri osnovna funkcionala stanja PPO: met, deoksi i oksi.

Met tirozinaza- binuklearno središte met-tirozinaze sastoji se od dva tetragonalna Cu(II) iona povezana sa jednim ili dva liganda.

Oksitirozinaza- oksi oblik može se postići tretiranjem met-tirozinaze reducirajućim sredstvom u nazočnosti kisika. Pored vodikovog peroksida, brojna druga reduktivna sredstva, kao npr. hidroksilamin, askorbinska kiselina, natrij ditionat ili o-difenol mogu dovesti do ovoga procesa (Šubarić, 1999.).

U koži, mesu i jezgri voća otkrivena je aktivnost polifenol-oksidaze, raspored enzima u samoj stanici ovisi o mnogo čimbenika kao što su vrsta, zrelost, starost i dr (Šubarić, 1999.).

Uzročnik posmeđivanja u voću je difenol oksidaza, dok su naprimjer u jabukama češće prisutni o-difenol oksidaze a rjeđe lakaze ili p-difenol oksidaze (web 10).



Slika 8 Usporedne reakcije katalizirane s *o*-PPO i *p*-PPO (web 10).

Polifenol oksidaza je u zelenoj salati vezan na kloroplast a kod zrelog voća je u topljivom obliku. Tijekom zrenja dolazi do razgradnje membrana kloroplasta.

U tkivu svježeg voća i povrća nazočni su još enzimi peroksidaza (POD) i fenilalanin amonijak liaze (PAL). POD je važan oksidacijski enzim u biljnom carstvu. U prisustvu vodikovog peroksida enzim, koji u strukturi sadrži hem, vrši jednoelektronsku oksidaciju fenolne sastavnice. Proizvodnja vodikovog peroksida oksidacijom nekih fenola ubrzana je PPO-om i potiče djelovanje PPO-a i POD-a u procesu posmeđivanja voća i povrća (He i Luo, 2007.).

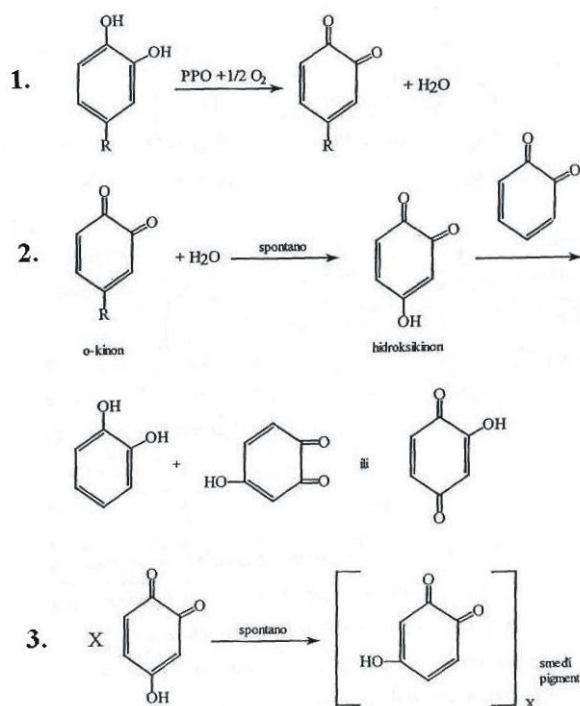
PAL je enzim koji započinje fenil propanoidni metabolizam, i povećanje u PAL aktivnosti izaziva povećanje koncentracije fenola, koji su supstrati za PPO i POD. Fenolni spojevi u voću i povrću su raznoliki i variraju u skladu s vrstom, sortom, zrelosti i drugim fiziološkim karakteristikama biljke. U strukturi sadrže aromatski prsten koji nosi jednu ili više hidroksilnih skupina, zajedno s brojnim drugim supstituentima.

Fenolni spojevi i PPO su odgovorni za enzimske reakcije posmeđivanja voća i povrća tijekom rezanja, guljenja i sl. Ovisno o izvoru enzima, varirat će i specifičnost supstrata PPO-a.

Provedena su istraživanja fenolnih spojeva i njihove uloge u oksidacijskim procesima, a dobiveni su rezultati prikazali odnos brzine posmeđivanja fenolnih spojeva i PPO-a. Dobiveni su zaključci da posmeđivanje breskve i jabuke obično pokazuje pozitivnu korelaciju s klorogenom kiselinom. Međutim nije značajna korelacija brzine ili stupnja posmeđivanja fenolnih spojeva i PPO-a (He i Luo, 2007.).

Mehanizam djelovanja PPO:

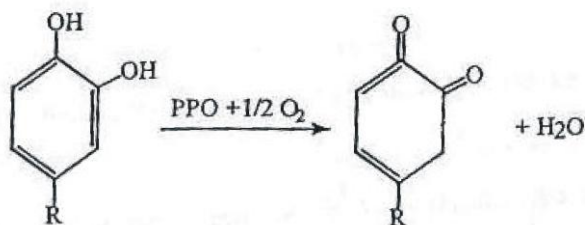
1. Prema Dawsonu:



Slika 9 Mehanizam nastanka enzimskog posmeđivanja prema Dawsonu (web 10).

Ova reakcija se sastoji od 3 stupnja. U prvom stupnju o-dihidroksifenol se oksidira pomoću PPO u o-kinon. U drugom koraku o-kinon prelazi u 3-hidroksifenol koji reakcijom s benzokinonom daje katehol i kinol. Treći korak predstavlja spontanu reakciju pretvorbe hidroksikinona u smeđi pigment (Katalinić, 2006.).

2. Prema Wogreich-u i Nelson-u:



Slika 10 Mehanizam nastajanja enzimskog posmeđivanja prema Wogreich-u i Nelson-u (web 10).

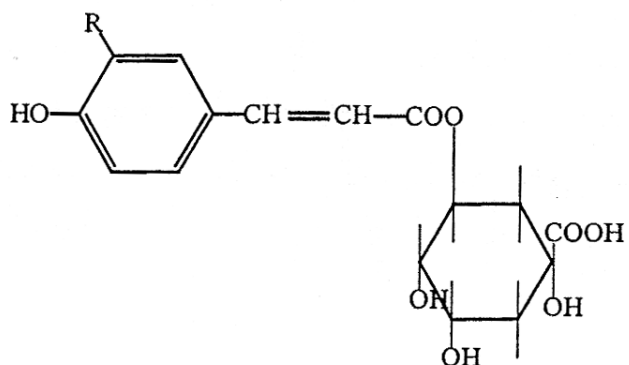
Prema Wogreich-u i Nelson-u u ovoj reakciji dolazi do nastanje vode (web 10).

2.2.3. Supstrati polifenol-oksidade

Supstrati PPO u reakcijama enzimskog posmeđivanja su monofenoli, odnosno difenoli sa hidroksilnim skupinama u orto položaju, odnosno u para položaju. Fenolni spojevi važni su za postizanje arome i boje proizvoda od voća i povrća. Polifenolni spojevi imaju značajnu ulogu za ljudsko zdravlje zahvaljujući svojim antioksidativnim svojstvima, međutim mogu imati i negativan učinak kod proizvoda voća i povrća gdje sudjeluju u tvorbi nepoželjnih taloga, odnosno žutih i smeđih pigmenata. Boja, trpkost, gorčina i aroma su svojstva koja ovise o sadržaju fenolnih tvari (Šubarić, 1999.).

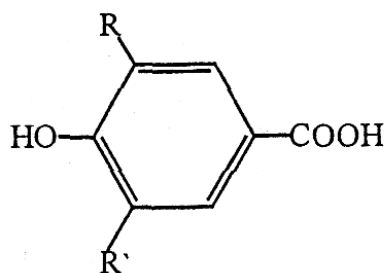
Fenolne tvari prisutne u soku jabuke, kruške i grožđa se mogu podijeliti u fenolne kiseline i flavonoide. Fenolne kiseline su cimetna i benzojeva kiselina, te njihovi derivati. Najznačajniji derivati cimetne kiseline su kava kiselina, ferula kiselina i kumarna kiselina i esteri cimetne kiseline. Klorogenska kiselina je polifenolni spoj koji je zastupljen u mnogim vrstama voća i povrća (web 10).

klorogenska kiselina ($R=OH$)
p-kumaroilkina kiselina ($R=H$)

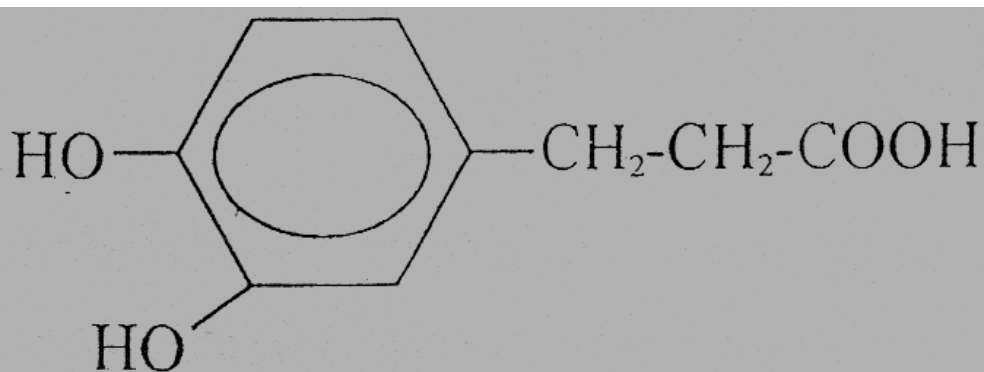


Slika 11 Klorogenska kiselina i *p*-kumaroilkina kiselina (web 10).

p-hidroksibenzojeva kiselina ($R= R'=H$)
 galna kiselina ($R= R'=OH$)

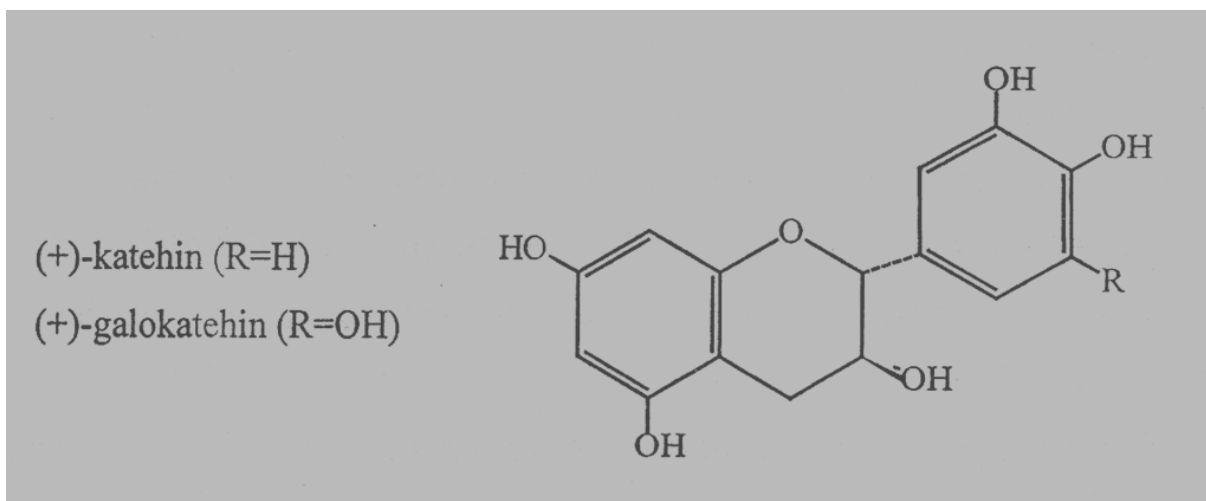


Slika 12 *p*-hidroksibenzojeva kiselina i galna kiselina (web 10).



kava kiselina

Slika 13 Kava kiselina (web 10).



Slika 14 Katehin i galokatehin (web 10).

Za ove spojeve je karakteristično da ne dolaze slobodni nego u vezanom obliku (Šubarić, 1999.).

Polifenoli u biljkama imaju višestruku ulogu. Oni pridonose kvaliteti voća i povrća, polifenolni sastav i količina polifenola varira s obzirom na vrstu voća, sortu, stupanj zrelosti, uvjete rasta i skladištenja. Lignini sudjeluju u izgradnji integralnog dijela biljne stanične stijenke te služe kao mehanička potpora i barijera protiv invazije mikroorganizama. Antocijanini, flavoni i flavanoli kao pigmeti, daju boju cvijeću i voću što je važno za privlačenje insekata i ptica koje pomažu kod rasprostranjivanja sjemena i oprašivanja. Neki polifenoli direktno utječu na rast biljke. Flavonoidi štite ranjivije stanične dijelove od štetnog zračenja jer imaju sposobnost snažne apsorpcije UV zračenja.

Jagodasto, bobičasto i koštuničavo voće su niskoenergetske vrste voća bogate polifenolnim spojevima (Jakobek, 2007.).

Flavonoidi predstavljaju najveću skupinu biljnih fenola i nositelji su žute, crvene i plave boje.

Osnovna podjela flavonoida je sljedeća:

1. Antocijanini
2. Flavoni i flavanoli
3. Flavanoni
4. Katehini i leukoantocijani
5. Proantocijanidini

Antocijanini, flavoni i flavonoli dolaze u prirodi u veznom obliku kao glikozidi. Flavon i flavonoglikozidi dolaze u svakoj biljnoj vrsti. Flavoni se razlikuju od flavonola u nedostatku OH skupine na C₃ atomu srednjeg prstena. Antocijanini su vrlo nestabilni. Gubitak boje se primjećuje poslije odmrzavanja smrznutog voća također i tijekom prerade. PPO ne utječe izravno na pigmente nego je promjena boje posljedica reakcije antocijana sa nastalim kinonima. Katehini su jako zastupljeni u listu čaja. Proantocijanidini su važni u tehnologiji vrenja. Pozitivno djeluju jer štite lipide od autooksidacije, ali mogu dovesti i do pojave nepoželjnog zamućenja. Polifenoli imaju značajnu ulogu u formiranju okusa piva, vina i voćnim sokovima ali mogu dovesti do zamućenja odnosno stvaranje taloga. Stupanj zamućenja ovisi o koncentraciji (Šubarić, 1999.).

Tablica 1 Fenoli supstrati u voću i povrću (web 10).

Sirovina	Fenoli supstrati
Batata Krumpir Salata	Klorogenska kiselina, kava kiselina Klorogenska kiselina, kava kiselina, katehol, DOPA, p-krezol, propionska kiselina Tirozin, kava kiselina, derivati klorogenske kisleine
Čaj	Flavanoli, katehini, tanini, derivati cimetine kiseline
Gljive	Tirozin, katehol, DOPA, dopamin, adrenalin, noradrenalin
Banana	3,4-dihidroksifeniletamin (dopamin), leukodefinidin, leukocijanidin
Breskva	Klorogenska kiselina, pirogalol, 4-metil katehol, kava kiselina, galna kiselina, katehin, dopamin
Grožđe Jabuka	Katehin, klorogenska kiselina, pirogalol, katehol, kava kiselina, DOPA, tanini, flavonoli, protokatehinska kiselina, rezorcinol, hidrokinon, fenol Klorogenska kiselina, katehol, katehin, kava kiselina, 3,4-dihidroksi fenilalanin (DOPA), protokatehinska kiselina, leukocijanidin, p-kumorna kiselina, flavonol-3-glikozidi, 4-metilkatehol
Kruška	Klorogenska kiselina, katehol, katehin, kava kiselina, DOPA, protokatehinska kiselina, p-krezol
Marelica	Izoklorogenska kiselina, katehol, katehin, kava kiselina, DOPA, protokatehinska kiselina, p-krezol
Šljiv	Klorogenska kiselina, katehol, katehin, kava kiselina,

2.3. Sprječavanje enzimskog posmeđivanja

Sprječavanje enzimskog posmeđivanja se provodi fizikalnim i kemijskim metodama a zajedničko im je da se zasnivaju na eliminaciji jednog ili više osnovih čimbenika koji su odgovorni za posmeđivanje: kisika, enzima ili supstrata.

Jednom kada dođe do oštećenja tkiva rezanjem, gnječenjem, guljenjem dolazi do nastajanja smeđih pigmenata. PPO oksidiraju o-fenole do o-kinona koji su vrlo reaktivni i brzo ulaze u procese polimerizacije pri čemu nastaju visokomolekularni spojevi, odnosno smeđi pigmenti (melanini) (Šubarić, 1999.).

2.3.1. Djelovanje na enzim

PPO može na više načina djelovati u cilju sprječavanja enzimskog posmeđivanja:

1. Termičko tretiranje (inaktivacija).
2. Reakcije s tvarima koje stvaraju komplekse sa bakrom kao aktivnim središtem: halidi, cijanidi, CO₂, natrij dierilditio-karbamat, azidi, aminokiseline, peptidi, proteini, H₂O₂, alkoholi.
3. Reakcije sa spojevima strukture sličnim supstratima
4. Djelovanje sa spojevima koje snizuju pH (Šubarić, 1999.).

Termička inaktivacija:

Inaktiviranje enzima je najpoznatiji i najčešći postupak. Djelovanjem topline u sekundarnoj ili terciarnoj strukturi molekule enzima utječe na katalitičku aktivnost enzima. Primjena visokih temperatura povezana je sa negativnim promjenama arome, teksture i boje prehrambenih proizvoda. Učinak topline na aktivnost PPO je veoma različit s obzirom na izvor PPO. Enzim izoliran iz jabuke *Fuji* termostatisanjem pri 30 °C u trajanju od 5 min. gubi oko 25% aktivnosti. Postupna inaktivacija enzima uslijedila je tretiranjem pri 50 °C u trajanju od 30 min (Šubarić, 1999.).

Blanširanje se provodi u rasponu od 70 do 105 °C i više, dok se pasterezacija općenito koristi u temperaturnom rasponu od 60 do 85 °C.

Blanširanje je termički postupak koji ima široku primjenu u obradi voća i povrća, ali zbog visoke temperature tijekom blanširanja dolazi do gubitka vitaminina, boje, arome, ugljikohidrata i drugih u vodi topljivih tvari. Inaktivacija PPO blanširanjem ustvari je učinkovit način kontrole posmeđivanja voća i povrća koja se konzervira sterilizacijom ili smrzava. Temperature blanširanja ovise o termostabilnosti enzima i o prirodi same namirnice. Blanširanjem se također sprječava enzimska degradacija klorofila i karotoneida (Marshall i sur., 2000.).

Konzerviranje sušenjem (dehidratacijom) osigurava mikrobiološku i enzimsku stabilnost proizvoda, ali tijekom procesa dolazi do gubitka vitamina, do pojave oksidacije, gubitka hlapljivih tvari, itd. Zbog navedenih nedostataka takvi se postupci zamjenjuju manje invazivnim metodama, kao što su sušenje zamrzavanjem (liofilizacija) i osmotska dehidratacija

Hlađenje podrazumijeva privremeno skladištenje hrane na temperaturama iznad točke smrzavanja. Sirovine kao npr. banane, mango, avokado, rajčica, itd. su osjetljivi na niske temperature, te ih stoga ne može pohranjivati na temperaturi nižoj od njihove kritične temperature.

Hlađenje kao proces općenito se postiže uz korištenje zraka, vode, leda ili vakuuma (vakuum hlađenje).

Čuvanje i skladištenje pri niskim temperaturama tijekom distribucije i maloprodaje su neophodni za prevenciju posmeđivanja u voću, povrću i morskim plodovima, budući da su temperature hlađenja učinkovite u smanjenju aktivnosti PPO (Marshall i sur., 2000.).

Djelovanje sa tvarima koji snizuju pH:

Aktivnost PPO ovisi o izvoru enzima i o supstratu, pH se kreće između 6 i 7. Enzimi ne pokazuju aktivnost pri pH vrijednosti ispod 4, dok je enzim potpuno inaktivan kod pH vrijednosti ispod 3. Limunska kiselina se koristi u cilju sprječavanja enzimskog posmeđivanja sa sniženom pH vrijednosti. Stvara helata sa bakrom u aktivnom središtu enzima. Limunska kiselina se zna koristiti u kombinaciji sa drugim inhibitorima posmeđivanja (askorbinskom kiselinom) (Šubarić, 1999.).

Reakcije sa spojevima koje stvaraju komplekse s bakrom kao aktivnim središtem u enzimu:

Spojevi koji imaju svojstvo stvaranja helata s bakrom se mogu koristiti u svrhu sprječavanja posmeđivanja, budući da su esencijaleni za aktivnost PPO.

Halidi su značajni inhibitori PPO, vežu se na bakar u aktivnom mjestu enzima i tako smanjuju njegovu dostupnost. pH ima značajan utjecaj na inhibiciju halidima zbog interakcije između negativnog naboja inhibitora i pozitivnog naboja imidazolne skupine u aktivnom središtu PPO. Optimalni pH za inhibiciju je 3,5 do 5,0 (Šubarić, 1999.)

Neka sredstva koja se koriste za heliranje su CaCl_2 , NaCl, askorbinska kiselina, sorbinska kiselina, karboksilne kiseline (limunska, jabučna, vinska, oksalna, kojična kiselina), makromolekule (porfirini, proteini, polisaharidi), EDTA. Upotreba natrijevog klorida za inhibiciju PPO ograničena je budući da utječe na okus proizvoda (Piližota i Šubarić, 1998.).

L-cistein je djelotvoran inhibitor enzimskog posmeđivanja. Koncentracije cisteina i drugih tiolnih spojeva potrebnih za postizanje prihvatljive razine inhibicije posmeđivanja ipak su pokazale da imaju negativne učinke na okus. Inhibicija sa cisteinom smatra se posljedicom formiranja bezbojnih tiol-konjugiranih o-kinona. Cistein je također pokazao sposobnost da reducira o-kinone u njihove fenolne prekursore (Marshall i sur., 2000.).

Oms-Oliu i sur. (2006) su uspoređivali pojedinačni i kombinirani efekt cisteina, glutationa, askorbinske kiseline i 4-heksilrezocinola (4-HR) na sprječavanje enzimskog posmeđivanja svježe narezane jabuke. Najbolji rezultati su postignuti kombiniranim djelovanjem N-acetil-L-cisteina, reduciranog glutationa i 4-HR. Nedostatak primjene cisteina i glutationa u sprječavanju posmeđivanja minimalno procesiranih proizvoda jest to što mogu imati negativan utjecaj na okus proizvoda (Eissa i sur., 2006).

2.3.2. Djelovanje na kisik

Da bi došlo do enzimskog posmeđivanja uvjet je prisutnost kisika. Kisik sudjeluje i kateholaznoj i krezolaznoj aktivnosti PPO gdje se reducira u vodu (Yoruk i Marshall, 2003.).

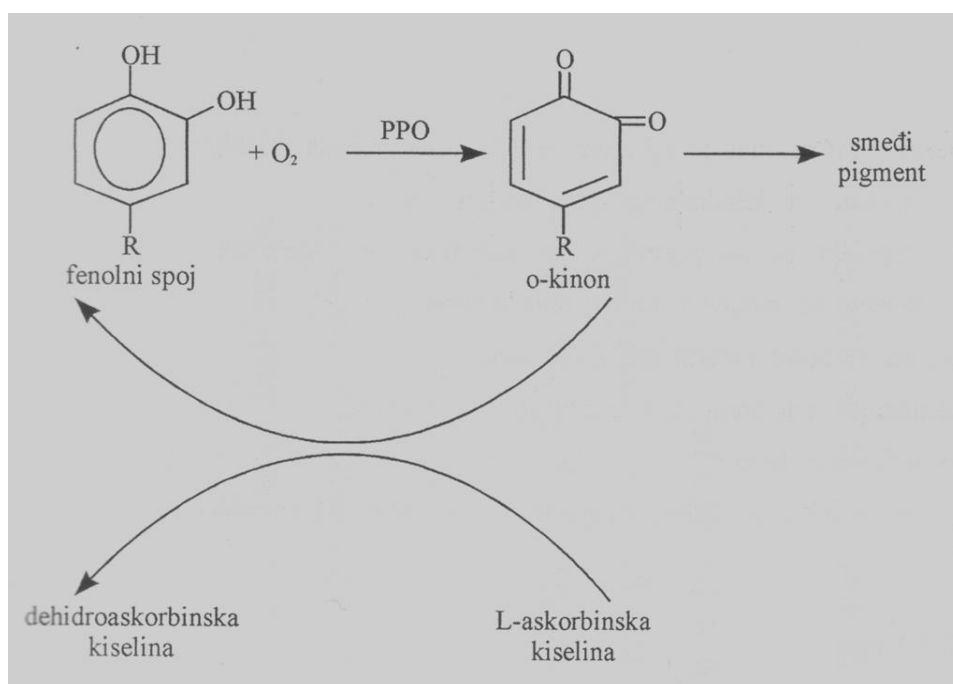
Nazočnost kisika je jedan od uvjeta da bi došlo do enzimskog posmeđivanja. Enzimsko posmeđivanje se može inhibirati isključivanjem kisika iz reakcija. Postiže se pakiranjem u ambalažu nepropusnu za kisik, pakiranjem u atmosferi dušika, potapanjem svježih narezanih jabuka u otopine natrijevog klorida, kiselina (Šubarić, 1999.).

2.3.3. Djelovanje na supstrate i reakcijske produkte

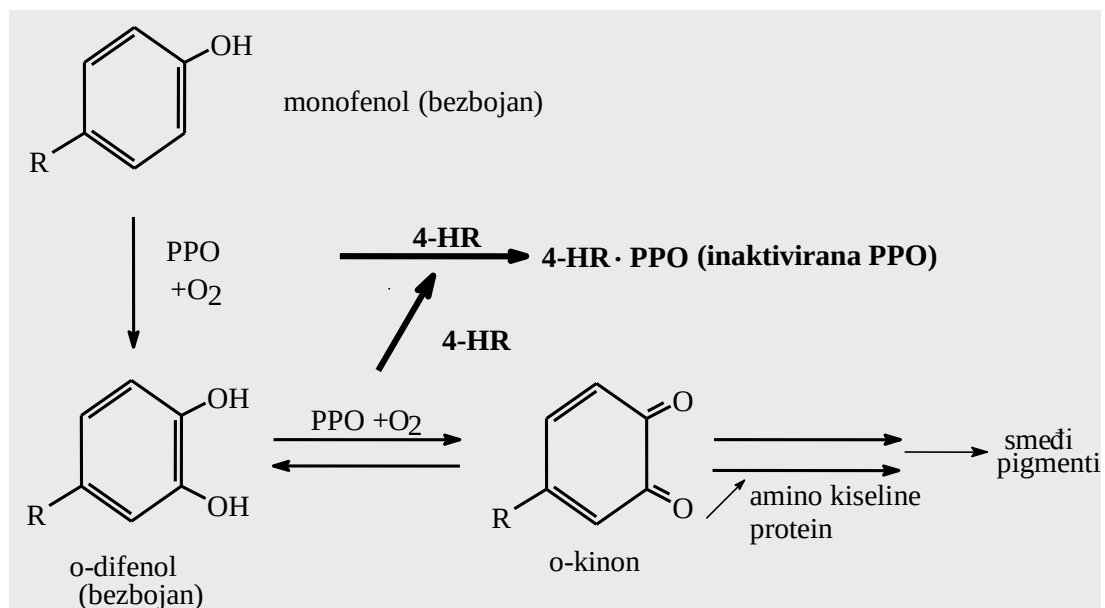
Reducirajuća sredstva su:

1. Askrobinska kiselina
2. Sulfiti
3. Tiolne tvari
4. Aminokiseline, peptidi, proteini

Sprječavanje enzimske aktivnosti u reakciji može se postići uklanjanjem jednog ili više supstrata (web 10).



Slika 15 Redukcija o-kinona sa L-AK tijekom reakcija enzimskog posmeđivanja (web 10).



Slika 16 Djelovanje 4 – heksilrezorcina na sprječavanje enzimskog posmeđivanja kataliziranog PPO (web 10).

Askorbinska kiselina

Askorbinska kiselina je spoj koji ima značajnu primjenu u različitim granama industrije, osobito pri proizvodnji farmaceutskih i prehrambenih proizvoda. Askorbinska kiselina ima izražena reduktivna i kiselinska svojstva. Askorbinska kiselina je dobro topljiva u vodi zahvaljujući svojim polarnim svojstvima. L-askorbinska kiselina je općenito ima za L- threo-2-heksenono-1,4-lakton. L-askorbinska kiselina ima funkciju u metaboličkim aktivnim biljnim i animalnim stanicama. Glavna biokemijska reakcija L-askorbinske kiseline je razaranje toksičnih slobodnih radikala.

Najvažnije svojstvo askorbinske kiseline je to što se može podvrgnuti oksidaciji i dva stupnja do dehidroaskorbinske kiseline preko slobodnog radikala nazvanog monodehidroaskorbinska kiselina. Kemijska razgradnja askorbinske kiseline također uključuje oksidaciju do dehidroaskorbinske kiseline, zatim hidrolizu do 2,3-diketogulonkse kiseline, te potom oksidaciju, dehidrataciju i polimerizaciju do velikog broja nutritivno inaktivnih spojeva.

Sprječavanje enzimskog posmeđivanja askorbinskom kiselinom predstavlja kompleksan proces jer postoje dokazi da askorbinska kiselina sudjeluje u sprječavanju sinteze između smeđih pigmenata djelovanjem askorbinske kiseline na PPO (Šubarić, 1999.).

Sulfiti

Najčešće primjenjivana metoda sprječavanja enzimskog posmeđivanja hrane je primjena sulfita. Sumporovi spojevi obuhvaćaju sumpor dioksid, natrij metabisulfit, natrij bisulfit, natrij sulfit, kalij metabisulfit i kalij bisulfit. Sulfiti obnavljaju različite funkcije u hrani. Sulfiti imaju funkciju sprječavanja rasta mikroorganizama u hrani, te djeluju kao sredstvo za izbjeljivanje, antioksidansi i reducirajuća sredstva. Sulfiti na nekoliko načina mogu spriječiti enzimsko posmeđivanje hrane, poznati su kao reducirajuća sredstva i njihovim djelovanjem dolazi do redukcije obojenih orto-kinona u bezbojne i manje reaktivne fenole. Mogu reagirati sa međuproduktima reakcije čime blokiraju daljnje posmeđivanje, a postoje indicije da reagiraju i sa samom PPO.

Karakteristično je da oni ne inhibiraju posmeđivanje ireverzibilno, troše se u reakciji te je primijenjena koncentracija inhibitora ovisna o vremenu za koje bi reakcija morala biti inhibirana.

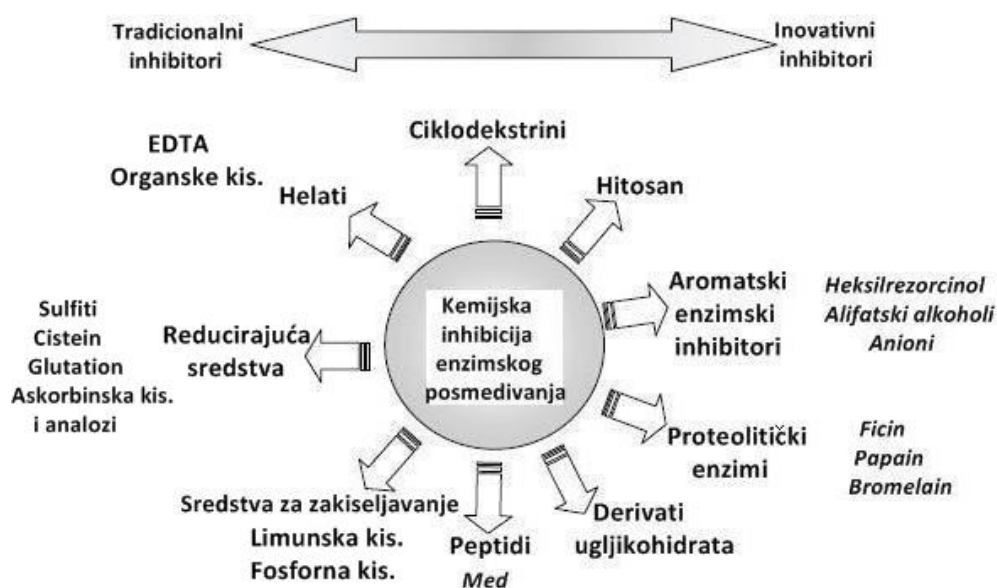
SO₂ ima široku primjenu kao sredstvo za sprječavanje enzimskog posmeđivanja jabuka tijekom prerade. Može se koristiti kao antioksidans, sredstvo za izbjeljivanje i kao antimikrobno sredstvo (Šubarić, 1999.).

Aminokiseline, peptidi i proteini

Ovo je jedan od načina djelovanja aminokiselina, peptida i proteina na sprječavanje enzimskog posmeđivanja. Između o-kinona i aminokiselina može doći do različitih kemijskih reakcija kao što su kovaletno vezivanje o-kinona sa tiolnom skupinom cisteina i tioeterske skupine metionina i amino skupine lizinskog ostatka u proteinima (Šubarić, 1999.).

2.3.4. Inhibitori posmeđivanja

Inhibitori posmeđivanja su kemijski spojevi koji se koriste za sprječavanje posmeđivanja hrane. Njihova uporaba u preradi hrane je ograničena posebnim zahtjevima kao što su toksičnost, neškodljivost, utjecaj na okus, miris, sastav i sl (Lozano, 2006.).



Slika 17 Inhibitori posmeđivanja koji se najčešće primjenjuju u prehrambenoj industriji (web 10).

Inhibitori posmeđivanja mogu imati različite mehanizme djelovanja na sprječavanje posmeđivanja: direktna inhibicija polifenol oksidaze, neenzimska redukcija o-kinona u derivate o-difenola, kemijska modifikacija ili uklanjanje fenolnih supstrata (Piližota i Šubarić, 1998.).

Od sredstava za zakiseljavanje, najčešće se primjenjuje limunska kiselina (najčešće u kombinaciji s drugim inhibitorima posmeđivanja). Za sprječavanje posmeđivanja minimalno procesiranih proizvoda primjenjuje se kao 0,5% do 2%-tna otopina i to najčešće u kombinaciji s drugim inhibitorima (Garcia i Barrett, 2002.; He i Luo, 2007.).

Limunska kiselina osim što inhibira posmeđivanje snižavanjem pH, ona djeluje i direktno na PPO tako što stvara helate s bakrom koji se nalazi u aktivnom središtu enzima. Od inhibitora koji djeluju po ovom principu i imaju značajnu primjenu u industriji minimalno procesiranog voća potrebno je spomenuti i oksalnu kiselinu i polifosfate.

Rezultati istraživanja pokazali su da oksalna kiselina vrlo uspješno sprječava posmeđivanje svježih narezane jabuke (Son i sur., 2001.).

Od ostalih sredstava koji sprječavaju posmeđivanje minimalno procesiranih proizvoda značajni su i kalcijev klorid, natrijev klorid, med, proteaze, aromatske karboksilne kiseline, EDTA i dr. (Garcia i Barrett, 2002.).

3. ZAKLJUČAK

Potrošači sve više zahtijevaju hranu koja je u većoj mjeri zadržala svojstva i prvobitni sastav sirovine. Jabuka je izuzetno bogata bioaktivnim spojevima a posebno kožica koja uglavnom predstavlja otpadni produkt prerade jabuke. Kožica bi se mogla koristiti u obogaćivanju različitih proizvoda u pogledu nutritivne vrijednosti. Enzimsko je posmeđivanje u svezi s djelovanjem polifenol-oksidade. Da bi se spriječilo enzimsko posmeđivanje, primjenjuju se različiti inhibitori tijekom prerade i skladištenja hrane.

4. LITERATURA

1. Brzica K, Šikić A: Jabuka, Agro znanje, Zagreb, 1995.
2. Eissa HA, Fadel HHM, Ibrahim GE, Hassan IM, Elrashid AA: Thiol containing compounds as controlling agents of enzymatic browning in some apple products. *Food Research International* 39:855-863, 2006.
3. Gracia E, Barrett DM: Preservative treatments for fresh-cut Fruits and Vegetables. U *Fresh-cut Fruits and Vegetables*, ur. Olusola Lamikanra, CRC Press, Boca Raton, 267-303, 2002.
4. He Q, Luo Y: Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce, Stewart Postharvest Solution (UK) Ltd., 2007., preuzeto s:
<http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-1715.pdf>
5. Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na oksidacijsku aktivnost voća. Doktorski rad. Prehrambeno- tehnološki fakultet, Osijek, 2007.
6. Jiang Y: Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry* 88:443–446, 2004.
7. Katalinić V: Kemija mediteranskog voća i tehnologija prerade, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2006., preuzeto s: http://tkojetko.irb.hr/documents/13794_178.pdf
8. Kazazić SP: Antioksidacijsko i antiradikalna aktivnost flavonoida; Institut „Ruđera Boškovića“ Zagreb, 2004.
9. Krpina I, Ifković F: Voćarstvo, Globus, Zagreb, 2004.
10. Komthong P, Katoh T, Igura N and Shimoda M: Changes in odours of apple juice during enzymatic browning. *Food Quality and Reference* 17:497–504, 2006.
11. Lozano JE: Fruit manufacturing. Scientific basis, engineering properties and deteriorative reactions of technological importance. Springer, New York, 2006.
12. Marshall MR, Kim J, Wei CI: Enzymatic browning in Fruits, Vegetables and Seafoods,

FAO, 1-56, 2000.

<http://www.fao.org/ag/ags/agsi/ENZYMEFINAL/Enzymatic%20Browning.html>

13. Murata M, Kurokami, C, Homma S: Purification and some properties of chlorogenic acid oxidase from apple (*Malus pumila*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56:1705-1710, 1992.

14. Obradović V: Tehnologija konzerviranja i prerade voća i povrća-interna skripta, Pozega 2011. Preuzeto s <http://www.vup.hr/Data/Files/13032891956360.pdf>

15. Piližota V, Šubarić D: Control of enzymatic browning of foods, *Food Technol. Biotechnol.* 36: 219-227, 1998.

16. Son SM, Moon KD, Lee CY: Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry* 73:23-30, 2001.

17. Šubarić D: Inhibicija polifenol-oksidade u svrhu sprječavanja enzimskog posmeđivanja. Doktorski rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet u Zagrebu, 2-39, 1999.

18. Yoruk R, Marshall MR: Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase. *J. Food Biochem.* 27:361-422, 2003

19. web 1: <http://www.podravka.hr/namirnica/46/jabuka/> (13.9.2014.)

20. web 2:

https://www.google.hr/search?q=jabuka&biw=1143&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=WcEpVPH_KcKC7gbQi4HICA&sqi=2&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=&imgdii=&imgsrc=gd_uW_rJNT9vrsM%253A%3BY-ad6_1NcLBy8M%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.alerttv.org%252Ftv2%252Fmedia%252Fk2%252Fitems%252Fcache%252F1450fe47fc6d3f93ff072c134eaeda35_XL.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.alerttv.org%252Ftv2%252Fcomponent%252Fk2%252F751-jabuka%3B900%3B600-web (17.9.2014.)

21. web 3 Izvor: Predavanje iz kolegija Kemija hrane

http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Kemija_hrane/predavanja-2012-2013/kolokvij%202/boja.pdf

22. web 4 Izvor: Predavanje iz kolegija Sirovina biljnog

http://studenti.ptfos.hr/Prediplomski_studij/Sirovine_biljnog_podrijetla/N%20Nedic%20Tiban/SIROVINE3.2013.14.pdf

23. web 5:

https://www.google.hr/search?q=mjerenje+cvrstoce+jabuke&biw=1143&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=l-kpVLqOKs34a133gMgK&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=&imgdii=WL_EQxjUakDvaM%3A%3BK8Ds1j2wqH1T2M%3BWL_EQxjUakDvaM%3A&imgrc=WL_EQxjUakDvaM%253A%3BXXfBlg0SpkusPM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.tehnologijahrane.com%252Fwp-content%252Fuploads%252F2010%252F11%252FMjerenje-tvrdo%2525C4%252587e-ploda-jabuke-penetrometrom-tipa-Bishop.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.tehnologijahrane.com%252Ftehnologijavoca-i-povrca%252Fbranje-i-priprema-voca-i-povrca-za-skladistenje%3B1464%3B1049 (17.9.2014.)

24. web 6: <http://agroavantura.wordpress.com/2013/10/23/promene-na-plodovima-jabuke-tokom-cuvanja/> (12.9.2014.)

25. web 7:

https://www.google.hr/search?q=staklavost+jabuke&biw=1143&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=FMlpVMnIJ4XnatalgpAB&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=&imgdii=&imgrc=Tm2grjAYFLbLbM%253A%3B4DtaTDDAoN4raM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.vocarstvo.org%252FGalleries%252FGallery3%252Fstaklavost.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fvocarstvo.org%252FClanak.aspx%253FidPodSadrzajJezik%253D89%3B186%3B174 (17.9.2014)

26. web 8:

https://www.google.hr/search?q=gorke+pjege+na+jabukama&biw=1143&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=YMIpVKWBDIKUatzYguAM&ved=0CAYQ_AUoAQ#tbm=isch&q=staklavost+jabuke&facrc=&imgdii=&imgrc=vgTEzQ4XE9ZmCM%253A%3B-4wBBlv_OlmaLM%3Bhttp%253A%252F%252Fagroavantura.files.wordpress.com%252F2013%252F09%252Fsen_sclld.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fagroavantura.wordpress.com%252Fcategory%252Fvoce%252F%3B411%3B4 (17.9.2014.)

27. web 9:

https://www.google.hr/search?q=posme%C4%91ivanje+jabuke&biw=1143&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ei=n8MpVJqCJlLvaau3gaAI&ved=0CAYQ_AUoAQ#facrc=&imgdii=&imgrc=YYOxdriqSLwhoM%253A%3BsK918k9uTxnEKM%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.tehnologijahrane.com%252Fwp-content%252Fuploads%252F2010%252F11%252FPhomopsis-kvarenje-jabuke.jpg%3Bhttp%253A%252F%252Fwww.tehnologijahrane.com%252Ftehnologijavoca-i-povrca%252Fetilen-i-ostali-biljni-hormoni-u-procesima-zrenja-i-dozrijevanja%3B446%3B199 (17.9.2014.)

28. web 10 Izvor: Predavanje iz kolegija Tehnologija prerade sirovina biljnog podrijetla II

http://studenti.ptfos.hr/Preddiplomski_studij/Tehnologija_prerade_sirovina_biljnog_podrijetla_II/VO%C4%86E%20I%20POVR%C4%86E/TehnologijaII%20EP%202013.14.pdf

