

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Martina Marić

6898/N

**UTJECAJ PRIPREME I VREMENA STAJANJA NA
PARAMETRE BOJE I UKUPNE FENOLE NAPITKA OD
LISTA MASLINE**

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Primjena inovativnih tehnologija u proizvodnji biljnih ekstrakata kao sastojaka funkcionalne hrane (IT-PE-FF)

Mentor: prof. dr. sc. *Branka Levaj*

Zagreb, 2017.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

UTJECAJ PRIPREME I VREMENA STAJANJA NA PARAMETRE BOJE I UKUPNE FENOLE NAPITKA OD LISTA MASLINE

Martina Marić, 0058204937

Sažetak: Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj pripreme i vremena stajanja na koncentraciju ukupnih fenola i boju napitka dobivenog od listića masline. U tu svrhu pripremljena je infuzija na tri različita načina, i to tako da je kontakt listića i vode početno zagrijane na 100°C bio 5, 10 te 15 min. Promjene su se pratile nakon stajanja od 5, 15, 30, 60, 240 te 420 min. Ukupni fenoli određeni su pomoću Folin-Ciocalteu reagensa, a boja primjenom kolorimetra. Prema rezultatima dobivenim provedenim istraživanjem, može se zaključiti da se unatoč oscilacijama pri različitim vremenima stajanja, količina ukupnih fenola povećava s vremenom kontakta, dok su promjene u boji vrlo neznatne. S vremenom stajanja infuzije sežu polagano prema tamnijim nijansama, a koncentracija ukupnih fenola se ne mijenja značajno.

Ključne riječi: infuzija lista masline, napitak, parametri boje, ukupni fenoli

Rad sadrži: 29 stranica, 10 slika, 4 tablice, 26 literaturna navoda, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. dr. sc. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: *Sanja Lončarić, mag. ing.*

Rad predan: srpanj 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Nutrition

Department of Food Engineering

Laboratory of Fruits and Vegetables Preservation and Processing

EFFECT OF PREPARATION PROCEDURE ON PHENOLS AND COLOR PARAMETERS OF OLIVE LEAVES DRINKS

Martina Marić, 0058204937

Abstract: The aim of this study was to determine the influence of the soaking time and staying time on concentration of total phenols and colour of infusion obtained from olive leaves. For this purpose the infusion was prepared by pouring leaves with boiling water and leaving them in the water 5, 10 and 15 min and then by decanting. Changes were observed after 5, 15, 30, 240 and 420 min. Total phenols were determined by Folin-Ciocalteu reagent, and the Lab color parameters were measured by colorimeter. According to obtained results, it can be concluded that the amount of total phenols increased with the contact time of leaves and water, while the changes of color parameters were insignificant. During staying time no remarkable oscillations of total phenols were observed and by the measured color parameters it was evident that infusions slowly became darker shades.

Keywords: olive leaf infusion, drink, total phenols, color parameters

Thesis contains: 29 pages, 10 figures, 4 tables, 26 references, 1 supplement

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Branka Levaj, PhD, Full Professor

Technical support and assistance: Sanja Lončarić, BSc

Thesis delivered: July 2017

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	
2.1. MASLINA.....	2
2.2. KEMIJSKI SASTAV.....	4
2.3. FENOLNI SPOJEVI.....	5
2.3.1. FENOLNI SPOJEVI LISTA MASLINE.....	6
2.4. INFUZIJA LISTA MASLINE.....	8
2.5. BOJA I PARAMETRI BOJE.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	
3.1. MATERIJALI.....	13
3.2. METODE RADA	
3.2.1. Određivanje ukupnih fenola.....	15
3.2.2. Određivanje boje na kolorimetru.....	18
3.2.3. Statistička obrada podataka.....	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	
4.1. Rezultati određivanja ukupnih fenola.....	20
4.2. Rezultati određivanja promjene boje napitka od lista masline.....	23
5. ZAKLJUČCI.....	26
6. LITERATURA.....	27
7. PRILOZI.....	29

1. UVOD

Maslina (*Olea europea* L.) je dugovječna zimzelena biljka iz porodice *Oleaceae*. Uzgaja se diljem svijeta, a 98% usjeva raste na području Mediterana. Glavni proizvod dobiven od stabla masline je maslinovo ulje.

Iako se maslina uzgaja uglavnom zbog plodova i ulja, u novije vrijeme se sve više pažnje posvećuje proučavanju lista masline koji se u procesu prerade i proizvodnje masline smatra otpadom. Različita istraživanja potvrdila su ljekovita svojstva lista masline, koja se pripisuju prisutnosti brojnih biološki aktivnih spojeva.

List masline sadrži visok udio fenolnih spojeva različite strukture koji sudjeluju u mnogim biokemijskim procesima važnim za život biljke. Najzastupljeniji i najaktivniji spoj sa snažnim antioksidacijskim djelovanjem je oleuropein. To je spoj iz skupine sekoiridoida koji samostalno ili u sinergiji s drugim spojevima može djelovati na način da snižava krvni tlak, uzrokuje vazodilataciju krvnih žila, pokazuje antimikrobni, antikancerogeni, antiproliferacijski te antiaterosklerotski učinak.

Infuzija lista masline je napitak sličan čaju koji se dobije prelijevanjem suhih listića masline vrućom vodom. Manje je poznat u svijetu čajeva. Međutim, koristi se od davnina u narodnoj medicini, a danas je sve više i više popularan upravo zbog dokazane zdravstvene vrijednosti.

Cilj ovog rada bio je odrediti kako priprema (kontakt listića i proključale vode od 5, 10 ili 15 min) i stajanje (5, 15, 30, 60, 240 te 420 min nakon procjeđivanja) napitka od lista masline djeluju na koncentraciju ukupnih fenola te na promjenu boje.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASLINA (*Olea europaea* L.)

Maslina (*Olea europaea* L.) je jedna od najstarijih poljoprivrednih drvenastih kultura koja se uzgaja u mnogim dijelovima svijeta. To je stablo prepuno simbolike, a s ljudima egzistira već oko 5000 - 7000 godina (Cavalheiro i sur., 2015). Podrijetlo masline može se pratiti do područja uz istočnu obalu Sredozemnog mora, nakon čega je proširena prema zapadu i sjeveru Mediterana. Feničani, Grci i Rimljani proširili su tu kulturu po cijelom sredozemnom području (Brown, 2004). Danas na području Mediterana raste 98% usjeva maslina (Talhaoui i sur., 2015).

Maslina je zimzelena biljka koja spada u porodicu *Oleaceae*, podporodicu *Oleoideae* te rod *Olea*. Dugovječna je biljka pa njena stabla mogu doživjeti i više stotina godina. Pojedina živuća stabla stara su preko tisuću godina. Raste na oskudnom tlu, gotovo bez vode, ali uz obilje sunca. Zbog visokog postotka ulja (15 - 35%) u plodovima, maslina je dobila ime po latinskoj riječi *olea*, što znači ulje (Therios, 2008).



Slika 1. Grančica masline (Anonymous 1, 2016)

Maslina (Slika 1) se uzgaja zbog plodova i ulja već tisućljećima. Glavni proizvod dobiven preradom maslina je maslinovo ulje. Listovi masline, zajedno s grančicama, predstavljaju otpad dobiven tijekom berbe, prerade ili pak orezivanja maslina, čime se ujedno i nakupljaju najveće količine otpada (Abaza i sur., 2015).

Listovi masline su nasuprotni, u prosjeku dugački 2 do 8 cm, elipsastog oblika te kožasti na izboju. S donje strane su svjetliji, srebrnkasti, a s gornje strane tamno do svijetlozelenih nijansi. Mogu se upotrebljavati u mnoge svrhe; npr. smatraju se jeftinom sirovinom koja je odličan izvor visoko vrijednih spojeva, poput fenola, pa se zbog toga ekstrakt lista masline u posljednjih nekoliko godina sve više koristi u medicini, u prehrambenoj industriji, farmaceutskoj industriji, kozmetičkim proizvodima i sl. Osim toga, ekstrakt se može dodavati u maslinovo, suncokretovo ili palmino ulje kako bi se poboljšala stabilnost ulja i antioksidacijska svojstva, a mogu se i direktno miješati sami listovi masline s prezrelim maslinama da bi se dobilo ulje boljeg okusa (Therios, 2008; Talhaoui i sur., 2015; Salta i sur., 2007).

2.2. KEMIJSKI SASTAV LISTA MASLINE

List masline je otpad u proizvodnji maslina i maslinovog ulja, međutim sve se više proučava, jer je izvor brojnih mineralnih tvari, masnih kiselina i fenolnih spojeva, a konzumacija istih pomaže održavanju preporučenih količina nutrijenata važnih za ljudski organizam, a i za životinje (Cavalheiro i sur., 2015).

Nadalje, vrlo je važno istaknuti da je vrsta nezasićenih masnih kiselina u maslinovom ulju i listu masline različita. Oleinska kiselina je najvažnija masna kiselina u maslinovom ulju, dok u lišću masline prevladava linolenska (udio linolenske kiseline u maslinovom ulju je 0,5 – 2,0%, a u listu masline 41,30%). Desaturacijom i elongacijom, uz pomoć enzima, iz linolenske kiseline proizvode se dugolančane polinezasićene masne kiseline kojih onda u listu masline ima 40 puta više nego u maslinovom ulju, što je vrlo zanimljivo u nutricionističkom pogledu.

Od mineralnih tvari u visokim koncentracijama u listu masline su prisutni aluminij, kalcij, željezo, bakar, kalij, magnezij, fosfor i sumpor. Ukoliko se dnevno uzima 50 g osušenih listova maslina, moguće je zadovoljiti 100% preporučenog dnevnog unosa navedenih minerala (Cavalheiro i sur., 2015).

U listu masline pronađeni su i ugljikohidrati poput glukoze i šećernih alkohola (od kojih je najvažniji manitol), sirovi proteini, aminokiseline (arginin, leucin, valin, prolin, glicin, alanin) te brojne druge komponente (Therios, 2008).

List masline sadrži visok udio fenolnih spojeva različitih struktura. Najaktivniji i najzastupljeniji spoj sa snažnim antioksidacijskim djelovanjem je oleuropein, a pored njega tu su još i hidroksitirozol, ligstrozid, verbaskozid i drugi sekoiridoidi (Talhaoui i sur., 2015).

2.3. FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi (polifenoli) su kemijski spojevi koji se ubrajaju u specifične pigmente i sekundarni su biljni metaboliti (Shortle i sur., 2014). Nalaze se u različitim biljnim vrstama, a do danas je poznato više od 8000 različitih struktura. U prirodi se obično nalaze u esterificiranom ili konjugiranom obliku, a vrlo rijetko se mogu pronaći u slobodnom obliku (Bravo, 1998).

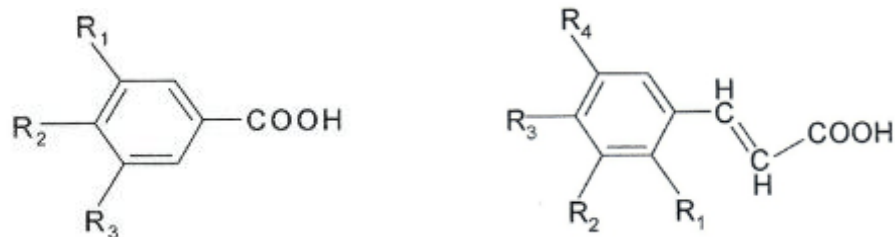
Sudjeluju u mnogim važnim biokemijskim procesima tijekom zrenja i dozrijevanja. U biljkama djeluju antioksidacijski, antimikrobno i kao fotoreceptori (Shortle i sur., 2014). Naime, njihovo najvažnije svojstvo je antioksidacijsko djelovanje, zbog sposobnosti da doniraju elektrone i inhibiraju reakcije oksidacije različitih komponenata hrane uzrokovane djelovanjem slobodnih radikala (Talhaoui i sur., 2015).

Fenolni spojevi tema su brojnih istraživanja zbog svog velikog doprinosa senzorskim i biološkim svojstvima voća. Uključeni su u nastajanje tvari boje, formiranja okusa te arome svojstvene pojedinoj vrsti voća i proizvodima dobivenima od tog voća. Osim toga, poznati su mnogi farmakološki i terapijski učinci (Shortle i sur., 2014).

Sintetiziraju ih biljke kao odgovor na stresne uvjete poput infekcija, oštećenja i UV zračenja i služe im kao obrana od patogena i predatora. Na sastav i količinu fenolnih spojeva u biljkama značajno utječu parametri okoliša poput svjetlosti, temperature, agrotehničkih mjera, uvjeti dozrijevanja te uvjeti skladištenja, obrade i prerade. Polifenoli nastaju u svim dijelovima biljke i predstavljaju vrlo raznoliku skupinu bioaktivnih spojeva nastalih iz tirozina i fenilalanina (Bravo, 1998).

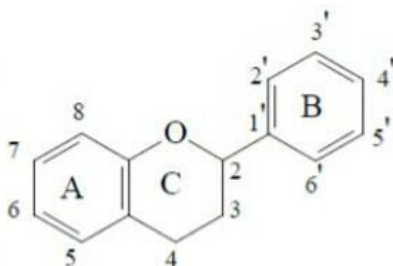
Osnovnu strukturu fenola čini aromatski prsten na koji može biti vezana jedna ili više hidroksilnih skupina. Prema kemijskoj strukturi, fenolni spojevi u biljkama dijele se na flavonoide, fenolne kiseline, kumarine, stilbene, hidrolizirane i kondenzirane tanine, lignine i lignane (Shahidi i Nacz, 2004; Talhaoui i sur., 2015).

Fenolne kiseline (Slika 2) pripadaju grupi neflavonoida. Mogu biti prisutne u slobodnom ili vezanom obliku i čine oko trećinu fenolnih spojeva prisutnih u biljkama. Dijele se u dvije skupine, ovisno o stupnju hidroksilacije i metilacije aromatskog prstena, a to su hidroksibenzojeve (galna, p-hidroksibenzojeva, vanilinska, siringinska, protokatehinska, salicilna i gentizinska kiselina) i hidroksicimetne kiseline (p-kumarinska, kavaska, ferulinska i sinapinska kiselina) te njihovi derivati (Macheix i sur., 1990; Bravo, 1998).



Slika 2. Osnovna struktura hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline

Flavonoidi pripadaju najbrojnijoj skupini fenolnih spojeva koju nalazimo u različitim biljnim vrstama, a identificirano ih je više od 6400 (Kazazić, 2004). To su fenolni spojevi sastavljeni od 15 atoma ugljika s dva aromatska prstena (A i B) međusobno povezana trećim piranskom prstenom (C) koji sadrži kisik (Slika 3). Flavonoidi prisutni u biljkama međusobno se razlikuju po položaju hidroksilnih i glikozidnih skupina te po konjugaciji između prstena A i B. Dijele se na antocijane, flavonole, flavanole, flavone, izoflavone, procijanidine i dr. (Hollman i Katan, 1999).



Slika 3. Kemijska struktura flavonoida

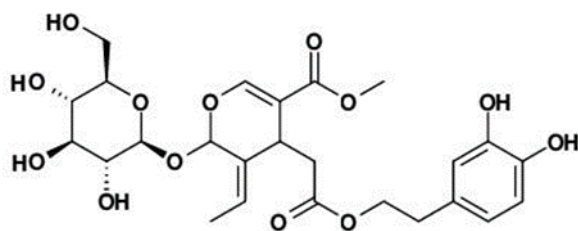
2.3.1. FENOLNI SPOJEVI LISTA MASLINE

Fenolni spojevi prisutni u listu masline su brojni i različite prirode. List je primarno mjesto biljnog metabolizma i smatra se jeftinim i lako dostupnim izvorom biološki aktivnih spojeva (Abaza i sur., 2015). List masline, u usporedbi s plodom masline, sadrži veću koncentraciju ukupnih fenola (Özcan i Matthäus, 2016).

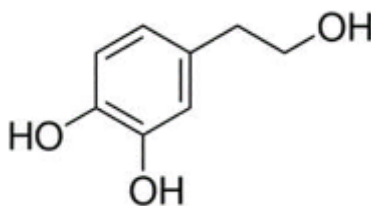
Fenolni spojevi u listu masline grupirani su s obzirom na glavne strukturne karakteristike na sekoiridoide (oleuropein i verbaskozid), flavone (luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukozid,

diosmetin-7-glukozid, luteolin i diosmetin), flavonole (rutin), flavan-3-ole (katehin) te supstituirane fenole (tirozol, hidroksitirozol, vanilin, vanilinska kiselina, kavaska kiselina).

Oleuropein (Slika 4) je najzastupljeniji i zato najznačajniji spoj u listu masline, a slijede ga hidroksitirozol, flavon-7-glukozidi i verbaskozidi. Hidroksitirozol (Slika 5) je prekursor oleuropeina, a verbaskozid konjugirani glukozid hidroksitirozola i kavaska kiselina. Dokazani su brojni pozitivni učinci navedenih fenolnih spojeva na zdravlje čovjeka (Abaza i sur., 2015; Özcan i Matthäus, 2016; Xie i sur., 2015; Pereira i sur., 2009).



Slika 4. Kemijska struktura oleuropeina



Slika 5. Kemijska struktura hidroksitirozola

Istraživanja su pokazala da su u neprerađenim maslinama i listovima maslina veće količine oleuropeina, dok je u prerađenim maslinama i listovima zastupljeniji hidroksitirozol (Xie i sur., 2015). Nadalje, prema rezultatima istraživanja, u vodenom ekstraktu lista masline oleuropein je činio čak oko 73% od ukupno svih identificiranih spojeva, a najmanje zastupljena komponenta bila je kavaska kiselina s udjelom oko 1% (Pereira i sur., 2009).

Od fenolnih kiselina prevladavaju hidroksicimetne kiseline – kavaska, p-kumarinska, ferulinska, klorogenska kiselina i derivati hidroksicimetne kiseline.

2.4. INFUZIJA LISTA MASLINE

Čaj je, nakon vode, najčešće konzumirano piće u svijetu. To se može pripisati ugodnom okusu i mirisu, ali i pretpostavljenim zdravstvenim učincima promatranih od strane različitih studija. Smatra se da potječe iz Kine, a u Europu dolazi po prvi puta u 16. stoljeću. U Velikoj Britaniji, zbog velike popularnosti, postaje nacionalni napitak koji zamjenjuje kavu. Tri su osnovna tipa čaja kojeg klasificiramo prema načinu proizvodnje, tj. razini fermentacije listova: nefermentirani (zeleni), polufermentirani (oolong, bijeli, žuti) i fermentirani (crni, crveni) (Cabrera i sur., 2006).

Prije svega, treba razlikovati čaj od biljne infuzije. Čaj je napitak koji se dobiva namakanjem listova biljke čajevca (*Camellia sinensis*) u vrućoj vodi, dok je biljna infuzija napitak koji se sprema na isti način, ali se dobiva iz neke druge biljke (Cabrera i sur., 2006).

Biljna infuzija napravljena je od svježih ili suhih listova, cvijeća, korijenja ili sjemenja različitih vrsta biljaka (Schulzki i sur., 2017). Infuzija lista masline dobivena je od suhih listića masline (Slika 6). Iako je ova infuzija manje poznata u svijetu čajeva, istraživanja su dokazala izuzetna ljekovita svojstva (Özcan i Matthäus, 2016).



Slika 6. Infuzija lista masline (Anonymous, 2011)

Sadrži brojne biološki aktivne spojeve, poput fenolnih spojeva, korisne za ljudsko zdravlje tako da se može reći da su listovi masline povoljna sirovina, gledajući osim s komercijalnog, i sa zdravstvenog aspekta (Özcan i Matthäus, 2016). Istraživanja Xie i sur.

(2015) su utvrdila da koncentracija fenola u listovima maslina, može ovisiti o sorti masline, starosti biljke, količini padalina ili pak o tome jesu li listići skupljani sa strane koja je više bila okrenuta suncu ili je bila u sjeni (čak 3 puta manje fenola, nego na osunčanoj strani) i sl.

Od davnina, listići masline koristili su se oralno kao osvježivači daha, a infuzija lista masline kao narodni lijek za suzbijanje vrućice, malarije, probavnih smetnji, infekcija urinarnog trakta, kod problema s astmom te kao diuretik. Iako ga koriste najviše ljudi s Mediterana, u zadnjih nekoliko godina interes za infuziju lista masline, ali i brojne druge biljne napitke je porastao u cijelom svijetu, zbog čega je provedeno niz *in vivo* i *in vitro* istraživanja koja su dokazala njegova poželjna svojstva (Özcan i Matthäus, 2016).

Danas je poznato da može djelovati antiproliferacijski na stanice leukemije induciranjem apoptoze, antiradioaktivno, a može i štititi žene od razvoja raka dojke. Osim toga, djeluje i antifungalno, kardioprotektivno, hipoglikemijski, štiti gastrointestinalni sustav (mukozu) te štiti od pojave ateroskleroze (Talhaoui i sur., 2015).

Mnoga istraživanja dokazala su snažnu antioksidacijsku aktivnost oleuropeina, najvažnijeg sekoiridoida u listu masline, koja se odražava u obrani stanica od oksidacijskog stresa, uzrokovanog hidrogen peroksidima, što je vrlo korisno u tretmanu dijabetesa tipa II (Cavalheiro i sur., 2015). Naime, pokazalo se da oleuropein ima mogućnost reducirati slobodne masne kiseline nastale lipogeneozom, inhibirati apsorpciju kolesterola u probavnom sustavu ili njegovu proizvodnju u jetri. Ima povoljne učinke i pri liječenju bolesti jetre, kardiovaskularnih bolesti te bolesti neuroendokrinološkog sustava (Talhaoui i sur., 2015).

Jedna od njegovih važnijih uloga je u sprječavanju hipertenzije tj. snižavanje krvnog tlaka. To svojstvo pripisuje se također oleuropeinu koji djeluje sinergistički s drugim aktivnim supstancama u ekstraktu pri čemu uzrokuju koronarnu vazodilataciju (Susalit i sur., 2010). Također, redovita konzumacija napitka od lista masline može spriječiti grčenje srčanog mišića i probleme srčanog ritma.

Osim oleuropeina, pozitivne učinke na zdravlje pokazuje i njegov produkt degradacije, hidroksitirozol, koji djeluje antioksidacijski kao čistač slobodnih radikala, antimikrobno, antiaterosklerotski, hipoglikemijski, snižava udio kolesterola i ukupnih masti u organizmu itd. (Özcan i Matthäus, 2016).

2.5. BOJA

Boja je osjet vida izazvan podraživanjem mrežnice oka elektromagnetskim zračenjem. Ljudsko oko detektira boju pomoću receptora (fotoosjetljivih stanica) štapića i čunjića koji se nalaze u mrežnici oka i živcima su povezani s mozgom. Štapići su receptori osjetljivi na svjetlost, dok su čunjići osjetljivi na boje.

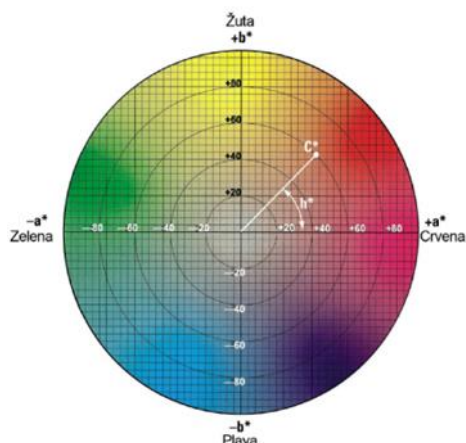
Tri su različite vrste čunjića: L (osjetljivi na veće valne duljine – crveni dio spektra), M (osjetljivi na srednje valne duljine – zeleni dio spektra) te S (osjetljivi na kratke valne duljine – plavi dio spektra). Kombinacijom tih primarnih boja u ljudskom mozgu nastaju druge boje. Svjetlost stimulira sve vrste čunjića, ali u različitim omjerima, što kao rezultat daje različite nijanse boja (Mihoci, 2015).

Osjet boje izaziva elektromagnetsko zračenje pa ga nazivamo stimulusom. Ukupna količina energije koja se prenosi u jedinici vremena na mrežnicu oka raspodijeli se na različite valne duljine i pretvara se u tri signala - po jedan signal za svaki tip čunjića. To se naziva trikromatičnost, a ujedno čini osnovu kolorimetrije. Različite spektralne kombinacije mogle bi izazvati percepciju jednake boje. Ta pojava naziva se metamerizam i znači da ljudsko oko ne može vidjeti razliku između uzoraka različitih spektralnih svojstava. Spektrofotometrija je postupak kojim se određuje spektarna raspodjela stimulusa (Weatherall i Coombs, 1992).

Boja je psihofizičko svojstvo i nije ju dovoljno opisati samo subjektivno, nego je potrebno i odabrati metodu koja ju opisuje na što sličniji način onome na koji ju doživljavamo (Mihoci, 2015).

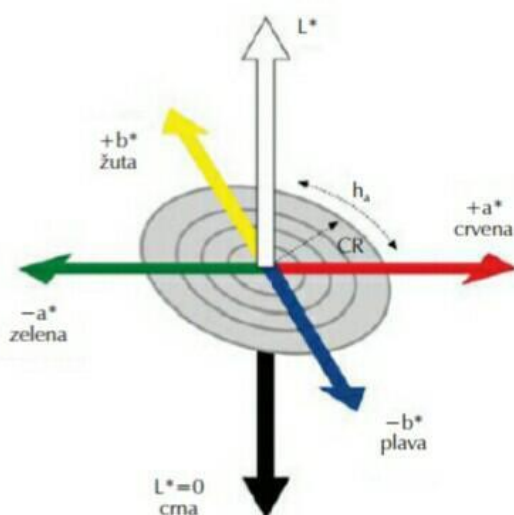
Budući da čovjekovo oko vidi boju ovisno o stimulaciji receptora za crvenu, zelenu i plavu komponentu, potrebne su tri vrijednosti kako bi se opisale sve moguće boje. Najraširenija je primjena CIELab sustava boja (Slika 7). To je suvremeni sustav koji koristi trodimenzionalnu prostornu prezentaciju koja mjeri boju prema njezinim tonovima, zasićenosti i svjetlini. CIE (Commission Internationale de L'Eclairage) – Međunarodna komisija za regulaciju svjetla.

Jedna od metoda mjerenja po navedenom sustavu je metoda pri kojoj se kolorimetrom mjere tzv. Hunterovi parametri: H, C, L, a i b vrijednosti (Weatherall i Coombs, 1992).



Slika 7. Parametri boje u CIELab prostoru boja (Anonymous 3, 2015)

Tijelo boja (Slika 8) zamišlja se kao kugla tj. kao dvije polukugle sa zajedničkom bazom. Ono na svom crnom i bijelom kraju ima šiljke i tu je zasićenost jednaka nuli. Svaka boja se može prikazati nekom točkom u trodimenzionalnom sustavu i jednoznačno odrediti uz pomoć triju koordinata. Približavanjem nekoj od srednjih vrijednosti, oko razlikuje više stupnjeva zasićenosti. Tijelo je ograničeno plohom spektarnih boja različite svjetloće (Weatherall i Coombs, 1992).



Slika 8. Prostor boje po CIELab sustavu (Mihoci, 2015)

Vrijednost L (engl. *Lightness*) predstavlja svjetlinu boje ili luminanciju i daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline) pri čemu je $L=100$ apsolutno bijelo, a $L=0$ je apsolutno crno. Dakle, niže vrijednost L ukazuju na tamnije obojenje, a više vrijednosti L ukazuju na svjetlije obojenje.

Vrijednost C (engl. *Chroma*) predstavlja intenzitet boje ili zasićenost boja, a računa se prema formuli:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

pri čemu **vrijednost a** predstavlja odnos zelene i crvene komponente, a **vrijednost b** predstavlja odnos žute i plave komponente. Negativna a vrijednost označava pritom zelenu, a pozitivna vrijednost crvenu boju, dok negativna b vrijednost označava plavu, a pozitivna vrijednost žutu boju. Visoku zasićenost imaju jarke i čiste boje i one su dosta udaljene od ishodišta koje je okomito s osi L (viša C vrijednost). S druge strane, približavanjem ishodištu raste udio sive boje i zasićenost se smanjuje (niža C vrijednost).

Vrijednost H (engl. *Hue angle*) predstavlja osjet izazvan različitim dijelovima spektra uz jednaku svjetloću tj. to je ton boje. Izražava se kao omjer crvene, zelene, žute i plave boje i računa prema formuli:

$$H = \arctan (b/a)$$

Ako dvije boje nisu posebno udaljene u bojenom krugu, onda će se doživjeti jedna od tih dviju boja, a što su više udaljene jedna drugoj manje mijenjaju ton pa su i manje zasićene.

Ukupna razlika obojenosti (ΔE) je mjera odstupanja i ukupne razlike obojenosti, bilo da se radi o razlici u tonalnosti i zasićenosti ili razlici u svjetlini. Ona se računa ukoliko se želi pratiti razlika boje u odnosu na neku ishodišnu točku i to iz razlika svih triju dimenzija neke točke u odnosu na referentnu točku. Izračun prema formuli:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Sirovina korištena u ovom istraživanju su listići maslina ubrani u masliniku u studenom 2016. godine u Ravnim kotarima, Raštevčić. Sorte maslina od kojih su listići prikupljeni su Orkula (90%), Leccino (5%) te par stabala Marokanke i Garbunčele (lokalna sorta s Dugog otoka).

Listovi maslina prikupljeni u navedenom masliniku transportirani su u kartonskim kutijama do prostorija Fakulteta, gdje su rašireni u tankom sloju i ostavljeni nekoliko dana da se prosuše. Prije početka samog procesa, listići su dobro oprani u vodi kako bi se uklonila zemlja i druge nečistoće, prosušeni na zraku te su škarama narezani na duljinu otprilike jednaku 1 cm. Na vagi su izvagana po 4 g listića za svaki uzorak te su stavljani u laboratorijske čaše. Kada se voda zagrijala na 100°C, preko listića je preliveno 100 mL proključale vode i ostavljeno je stajati 5, 10 ili 15 min - **vrijeme kontakta**.

Nakon isteka 5, 10 ili 15 min, dobiveni napitak procijedi se u čiste laboratorijske čaše. U uzorcima su se pratile promjene nakon stajanja od (5), 15, 30, 60, 240 te 420 min - **vrijeme stajanja**. Za svako navedeno vrijeme kontakta listića i vruće vode radila su se tri uzorka (tri paralele).

Prvo mjerenje fenola bilo je nakon 5 min, boje nakon stajanja napitka 15 min, a daljnje promjene su praćene nakon stajanja od 30, 60, 240 te 420 min (Tablica 1).

Sva mjerenja provedena su u tri paralele za svaki uzorak tj. svako vrijeme.

Tablica 1. Plan provođenja procesa mjerenja

Vrijeme kontakta (min)	5	10	15
Vrijeme stajanja (min)	5*	5*	5*
	15	15	15
	30	30	30
	60	60	60
	240	240	240
	420	420	420

*Nakon vremena stajanja od 5 min radilo se samo određivanje ukupnih fenola.

3.2. METODE RADA

3.2.1. ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLA

Princip određivanja:

Određivanje ukupnih fenola u ekstraktu uzorka vrši se primjenom spektrofotometrijske metode koja se temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Mjeri se intenzitet nastalog obojenja pri 765 nm.

Aparatura i pribor:

1. Laboratorijske čaše od 50 mL, 100 mL i 200 mL
2. Tehnička vaga Mettler
3. Kuhalo za vodu
4. Termometar
5. Predmetna stakalca
6. Stakleni štapić
7. Cjediljke
8. Epruvete
9. Stalak za epruvete
10. Vortex miješalica (MS2 Minishaker IKA, Staufen, Njemačka)
11. Mikropipete, obujma od 500 μ L, 700 μ L i 1000 μ L
12. Vodena kupelj (BÜCHI Heating Bath B-490, Švicarska)
13. Spektrofotometar (UV UNICAMHELIOS β)

Reagensi:

1. Folin-Ciocalteu reagens
2. 20%-tna otopina Na_2CO_3

Postupak određivanja:

U staklenu epruvetu, pomoću mikropipete otpipetira se prvo 100 µL ekstrakta, 2 mL prokuhane destilirane vode te 200 µL Folin-Ciocalteu reagensa. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene (20%-tne) otopine natrijeva karbonata i sve se dobro promiješa pomoću Vortexa. Uzorci se 25 minuta termostatiraju u vodenoj kupelji pri temperaturi od 50°C. Nakon termostatiranja, uzorci se ulijevaju u staklene kivete. Pripremi se i slijepa proba u koju se stavlja samo destilirana voda. Spektrofotometrom se mjeri apsorbanacija pri valnoj duljini 765 nm.

Izrada baždarnog pravca za određivanje ukupnih fenola:

Za izradu baždarnog pravca potrebno je izvagati 0,5 g galne kiseline, koja se zatim otopi s 10 ml 96%-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Od dobivene otopine galne kiseline rade se razrjeđenja na način da se u odmjerne tikvice od 100 ml otpipetira redom 1 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline te se tikvice dopune do oznake destiliranom vodom. Tako da koncentracije galne kiseline u odmjernim tikvicama iznose 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L.

Otpipetira se 100 µL otopine standarda iz svake tikvice u staklene epruvete pa se dodaje redom 200 µL Folin-Ciocalteu reagensa te 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Sadržaj epruvete promiješa se pomoću Vortexa, nakon čega se uzorci termostatiraju 25 min u vodenoj kupelji pri temperaturi od 50°C. Pripremi se i slijepa proba u koju se stavi 100 µL destilirane vode. Mjeri se apsorbanacija svih uzoraka pri valnoj duljini 765 nm.

Izračunavanje:

Kad se izmjere apsorbanacije svih uzoraka, nacrtava se baždarni pravac pri čemu se na apscisu navode koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinatu izmjerene vrijednosti apsorbanacije pri 765 nm (baždarni pravac crta se pomoću programa Microsoft Excel).

Dobivena jednađba pravca:

$$y = 0,0109x$$

Koncentracija ukupnih fenola računa se prema dobivenoj jednađbi pravca na sljedeći nađin:

$$x = y/0,0109$$

gdje je: y - apsorbancija pri 765 nm

x - koncentracija ukupnih fenola izražena kao ekvivalent galne kiseline (mg/L)

3.2.2. ODREĐIVANJE BOJE NA KOLORIMETRU

Princip određivanja:

Boja uzorka određuje se difuzno reflektirajućom spektrofotometrijom na kolorimetru CM-3500d. Objektivno mjerenje boje temelji se na parametrima trodimenzionalnog spektra boja (L, a i b). Mjerenje je provedeno korištenjem kolorimetra. Kolorimetar je uređaj za određivanje intenziteta boje određenih tvari koji ne ovisi o vizualnom prosuđivanju obojenosti.

Aparatura i pribor:

- 1) Laboratorijske čaše od 100 mL i 200 mL
- 2) Tehnička vaga Mettler
- 3) Kuhalo za vodu
- 4) Termometar
- 5) Predmetna stakalca
- 6) Stakleni štapić
- 7) Cjediljke
- 8) Staklena kiveta za kolorimetrijsko mjerenje
- 9) Spektrofotometar (KONICA MINOLTA, CM-3500d) (kolorimetar)

Priprema uzorka:

Napitci (infuzije) lista masline pripremljeni su na način opisan u poglavlju 3.1. Mjerenje boje se provodilo nakon stajanja od 15 min, 30 min, 60 min, 240 min te nakon 420 min.

Postupak određivanja:

Kolorimetar se standardizira te se na računalo pokrene program Spectromagic NX. Jedan po jedan uzorak se ulije u kivetu i kiveta se stavi u utor uređaja. Pokrene se mjerenje, a pomoću računalnog softvera očitaju se L, a i b vrijednost.

Izračunavanje:

Na temelju rezultata računa se ton boje prema formuli:

$$H = \arctan (b/a)$$

intenzitet ili zasićenost boje prema formuli:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

te ukupna razlika obojenosti (ΔE) uzoraka prema formuli:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

gdje je: ΔL – razlika u vrijednosti parametra L (svjetloća)

Δa – razlika u vrijednosti parametra a (udio crvene boje)

Δb – razlika u vrijednosti parametra b (udio plave boje)

3.2.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Svi dobiveni rezultati statistički su obrađeni pomoću programa Microsoft Excel. Provedena je analiza varijance (ANOVA) te su na temelju dobivenih rezultata određeni statistički značajni utjecaji primjenjenih postupaka pripreme i vremena stajanja na ispitivane parametare boje i ukupne fenole napitka od lista masline.

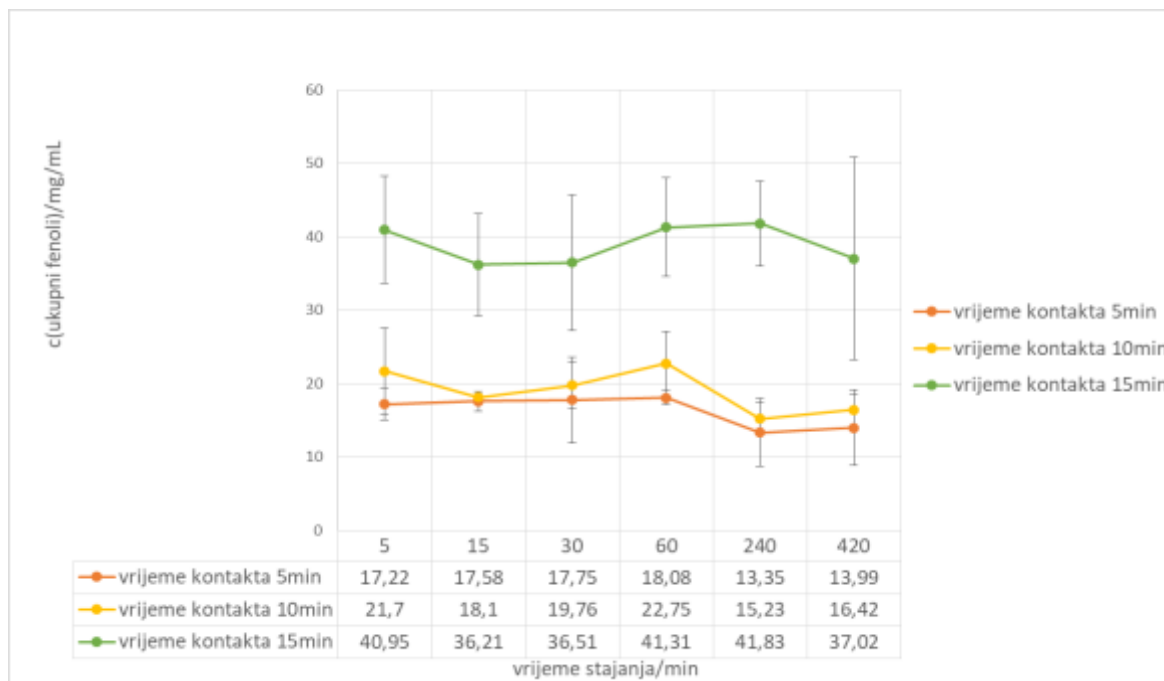
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati određivanja promjene ukupnih fenola

U ovom poglavlju prikazani su rezultati provedenog istraživanja o utjecaju pripreme i stajanja na ukupne fenole i boju napitka (infuzije) lista masline. Infuzija lista masline dobijena je prelijevanjem listića masline proključalom vodom.

Kako bi se utvrdio optimalni postupak pripreme obzirom na ukupne fenole i boju napitka, pratile su se njihove promijene uslijed različitog vremena kontakta (5, 10 i 15 min) listića i vode. Kako bi se ispitala stabilnost napitka tijekom sedam sati, navedeni parametri su mjereni u zadanim vremenima stajanja (5, 15, 30, 60, 240 te 420 min). Svrha tog dijela istraživanja bila je utvrditi, obzirom na udio fenola i izgled napitka, da li je napitak poželjno konzumirati neposredno nakon pripreme ili zadržava nepromijenjena svojstva i neko duže vrijeme.

Određivanje količine ukupnih fenola provedeno je spektrofotometrijskom metodom pomoću Folin-Ciocalteu reagensa. Rezultati ukupnih fenola, izraženi u mg/L, prikazani su grafički (Slika 9).



Slika 9. Grafički prikaz utjecaja vremena stajanja na promjenu koncentracije ukupnih fenola u napitku od lista masline

Iz rezultata spektrofotometrijskog mjerenja, preračunatih na ukupne fenole i prikazanih na navedenoj slici, vidljivo je da se količina ukupnih fenola znatno povećava pri dužem vremenu kontakta, tako da je najmanja pri vremenu kontakta od 5 min, a najveća pri vremenu kontakta od 15 min, dok je količina ukupnih fenola vrlo slična pri vremenu kontakta od 5 i 10 min.

Katalinić i sur. (2006) su istraživali utjecaj vremena u pripremi (vremena kontakta listića i vode) napitka od biljke *Mellisae folium* na ukupne fenole, a mjerenja su provodili počevši od prve do tridesete minute. Zaključili su da već od prve do pete minute kontakta dolazi do značajnog porasta ukupnih fenola u napitku, a porast se dalje nastavlja s vremenom.

Klimczak i sur. (2007) su pratili promjenu ukupnih fenola u soku od naranče tijekom skladištenja i također su zamijetili povećanje, a navode da je do njega došlo zbog Maillardovih reakcija pri kojima dolazi do nastanka intermedijarnih spojeva koji reagiraju s Folin-Ciocalteu reagensom, što uzrokuje veće koncentracije ukupnih fenola.

Međutim, količina ukupnih fenola znatno varira tijekom različitog vremena stajanja.

Za napitak dobiven pri vremenu kontakta od **5 min**, tijekom stajanja uočava se lagani pad u intervalu od 15. do 30. min, nakon čega se koncentracija do 60. min povećava. U 240. min, uočava se da koncentracija fenola ponovno opada, a zatim opet lagano raste do 420. min stajanja.

Za napitak dobiven pri vremenu kontakta od **10 min**, koncentracija fenola raste sve do 60. min, a onda naglo opada do 240. min. U vremenskom intervalu od 240. do 420. min zabilježava se lagani porast slično kao i za prethodni uzorak.

Za napitak dobiven pri vremenu kontakta od **15 min**, uočava se nešto drugačiji trend tako u prvih 30 min stajanja koncentracija fenola lagano opada, a potom raste do 240. min, nakon čega slijedi nagli pad koncentracije ukupnih fenola do 420 min.

Rezultati su obrađeni i statistički, analizom varijance, korištenjem programa Microsoft Excel (Tablica 2). Utvrđeno je da je vrijeme kontakta listića masline s vodom statistički značajno, signifikantno, utječe na koncentraciju fenola dok vrijeme stajanja nema statistički značaj. Navedeno se jasno može uočiti i na prethodnoj slici (Slika 9).

Tablica 2. Analiza varijance

ANOVA	F	P-vrijednost
Vrijeme stajanja	3,007739889	0,065127137
Vrijeme kontakta	122,8990582	9,13089*10⁻⁸

4.2. Rezultati određivanja promjene boje napitka od lista masline

U svim uzorcima određeni su parametri boje L , a , b , C i H spektrofotometrijski pomoću kolorimetra (Tablica 3) i na temelju dobivenih podataka izračunata je ukupna razlika obojenosti ΔE za svaki uzorak u odnosu na početne vrijednosti te je prikazana grafički (Slika 10).

Tablica 3. Rezultati određivanja parametara boje

Vrijema kontakta (min)	Vrijeme stajanja (min)	L^* - svjetlina boje	$-a^*$ - udio zelene boje	b^* - udio žute boje	C – zasićenost boje	H – tonalnost boje
5	15	97,075±0,488	-1,97±0,212	11,255±1,689	11,425±1,690	99,945±0,403
	30	97,065±0,431	-1,94±0,226	11,25±1,697	11,41±1,711	99,815±0,361
	60	97,02±0,424	-1,915±0,191	11,29±1,626	11,45±1,640	99,655±0,445
	240	97,265±0,431	-2,12±0,169	11,68±1,612	11,87±1,612	100,325±0,601
	420	97,105±0,459	-2,16±0,155	11,985±1,732	12,185±1,732	100,265±0,742
10	15	96,88±0,297	-1,945±0,163	12,14±1,598	12,295±1,605	99,13±0,438
	30	96,84±0,240	-1,9±0,141	12,19±1,555	12,33±1,555	98,885±0,474
	60	96,725±0,205	-1,88±0,141	12,24±1,612	12,385±619	98,755±0,474
	240	96,845±0,177	-2,015±0,163	12,755±1,336	12,91±344	98,995±0,191
	420	96,595±0,092	-1,965±0,233	13,375±1,025	13,52±1,046	98,325±0,346
15	15	96,59±0,325	-2,125±0,289	14,21±1,838	14,37±1,867	98,5±0,085
	30	96,515±0,346	-2,135±0,261	14,24±1,966	14,395±1,987	98,535±0,134
	60	96,42±0,354	-2,085±0,177	14,365±1,945	14,52±1,952	98,285±0,431
	240	96,55±0,325	-2,225±0,233	14,76±1,853	14,925±1,874	98,58±0,184
	420	96,335±0,474	-2,245±0,163	15,055±1,845	15,22±1,852	98,5±0,410

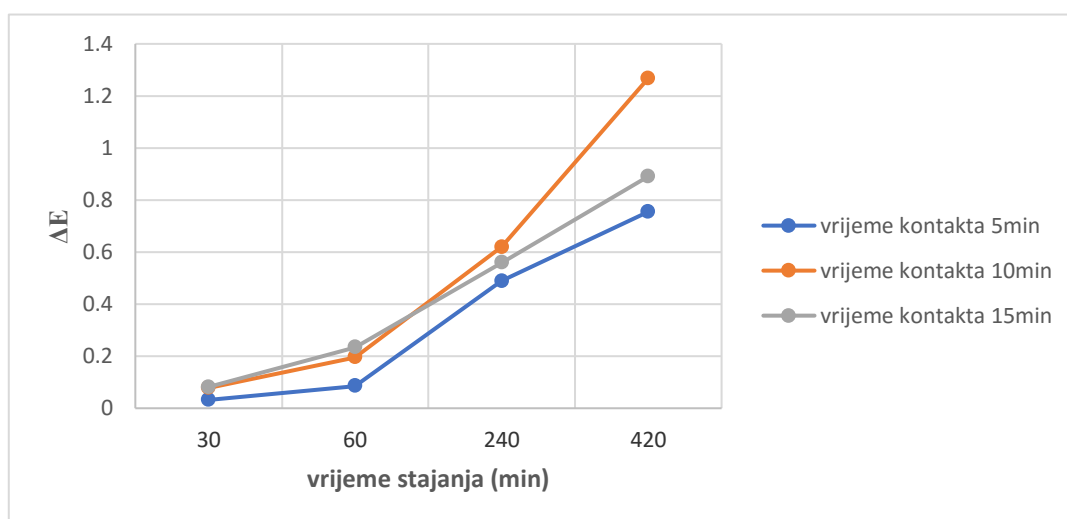
L vrijednost predstavlja svjetlinu boje, a dobiveni rezultati ukazuju na to da se smanjuje duljim vremenom kontakta listića i vode tj. pri vremenu kontakta od 5 min je najsvjetlija, a pri vremenu kontakta od 15 min najtamnije je obojena.

Što se tiče a i b vrijednosti, iako postoje variranja pri sva tri vremena kontakta, a se smanjuje, a b povećava, što ukazuje na promjenu boje prema manje zelenim i žućim tonovima.

Zasićenost boje C lagano se povećavala s vremenom stajanja, a povećanje se može uočiti i s duljim vremenom kontakta.

Tonalnost boje H izražava se u stupnjevima i sve vrijednosti nalaze se u II. kvadrantu. Što su vrijednosti veće uzorak ima više udjela zelene boje, a što je manji više žute boje. Najveće izmjerene vrijednosti su pri vremenu kontakta od 5 min, a zatim se neznatno smanjuje pri vremenu kontakta od 10 i 15 min, dok pri različitom vremenu stajanja dosta varira u sva tri slučaja iako su vrijednosti kroz vrijeme stajanja za svaki uzorak vrlo slične početnim vrijednostima.

Dobiveni rezultati ukupne razlike obojenosti (ΔE) pokazuju da je promjena boje od početka do kraja mjerenja veoma mala u sva tri slučaja i kreće se od 0.032 do 1.268. Pri vremenu kontakta od 5 i 15 min ta je promjena gotovo linearna. Povećanje ΔE zamijetili su i autori (Sant'Anna i sur., 2013) koji su pratili promjenu bioaktivnih komponenata usporedno s promjenom boje u različitim namirnicama (sok od naranče, crveno vino, zeleni čaj, maslinovo ulje, med itd.) te navode da je razlog povećanja ukupne razlike obojenosti degradacija fenola.



Slika 10. Utjecaj različitog vremena stajanja na ukupnu razliku obojenosti (ΔE)

Tablica 4. Podaci dobiveni analizom varijance

parametri boje		F	P-vrijednost
L - svjetlina boje	vrijeme stajanja	4,23355956	0,039384394
	vrijeme kontakta	91,21491536	3,11473*10 ⁻⁸
-a - udio zelene boje	vrijeme stajanja	11,8462872	0,001924987
	vrijeme kontakta	43,83010691	4,89142*10 ⁻⁵
b - udio žute boje	vrijeme stajanja	39,38985063	2,62055*10 ⁻⁵
	vrijeme kontakta	939,6020708	3,22912*10 ⁻¹⁰
C - zasićenost boje	vrijeme stajanja	46,09500391	1,44543*10 ⁻⁵
	vrijeme kontakta	1053,666257	2,04572*10 ⁻¹⁰
H - tonalnost boje	vrijeme stajanja	1,178484277	0,389251155
	vrijeme kontakta	53,06380678	2,41433*10 ⁻⁵

Temeljem statističke analize može se zaključiti da su kod parametara *L*, *a*, *b* te *C* i vrijeme kontakta i vrijeme stajanja statistički značajni. Kod rezultata za parametar *H* (ton boje), koji zapravo i najviše ukazuje na izgled konkretnog uzorka, uočava se da vrijeme stajanja nema statistički značaj, dok je vrijeme kontakta statistički značajno. Iako postoji, promjena boje je vizualno slabo uočljiva.

5. ZAKLJUČCI

1. Vrijeme kontakta (5, 10 i 15 min) značajno utječe na ukupne fenole u napitku lista masline. Koncentracija ukupnih fenola povećava se s vremenom kontakta tj. najviša koncentracija fenola zabilježena je pri vremenu kontakta od 15 min, a najmanja pri vremenu kontakta od 5 min.
2. Tijekom različitog vremena stajanja (5, 15, 30, 60, 240 i 420 min) koncentracija ukupnih fenola varira bez jasne pravilnosti, ali promjene nisu statistički značajne.
3. Vrijeme stajanja i vrijeme kontakta blago utječu na promjenu parametara boje u odnosu na prvo provedeno mjerenje. Napitak lista masline stajanjem je lagano potamnio (L vrijednost se smanjuju), postao je jarkiji (C vrijednost se povećala) te manje zelen i više žut (H se smanjuje).
4. Ukupna razlika obojenosti (ΔE) vrlo malo se mijenja s vremenom stajanja i vremenom kontakta i blago raste u oba slučaja, a kreće se od 0.032 do 1.268.
5. Napitak (infuzija) lista masline dobiven pri vremenu kontakta listića i prokuhale vode od 15 min sadrži najviše fenola, a ujedno je i najtamnije obojen.

6. LITERATURA

Abaza L., Taamalli A., Nsir H., Zarrouk M. (2015) Olive tree (*Olea europaea* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants* **4**: 682-698.

Anonymous 1 (2016) Probyo, <<https://probyo.com/products/olive-leaves/>>. Pristupljeno 14. srpnja 2017.

Anonymous 2 (2011) Čaj od lista masline, <<https://www.magicus.info/pomoc-i-samopomoc/prirodne-terapije/caj-od-lista-masline-2>>. Pristupljeno 14. srpnja 2017.

Anonymous 3 (2015) Color knowledge introduced: the CIELAB color space, <<http://www.iw17.cn/newsshow.asp?sid=29&id=159>>. Pristupljeno 16. srpnja 2017.

Bravo, L. (1998) Polyphenols: Chemistry, Dietary sources, Metabolism and Nutritional significance. *Nutrition Reviews* **56**: 317-333.

Brown J.P. (2004) Wine and oil in the antique Mediterranean, „Saint- Etienne“ house

Cabrera C., Artacho R., Giménez R. (2006) Beneficial effects of green tea—a review. *The Journal of the American College of Nutrition* **25** (2): 79-99.

Calvaheiro C.V., Picoloto R.S., Cichoski A.J, Wagner R., Ragagnin de Menezes C., Zepka L.Q., Da Croce D.M., Barin J.S. (2015) Olive leaves offer more than phenolic compounds – Fatty acids and mineral composition of varieties from Southern Brasil. *Industrial Crops and Products* **71**: 122-127.

Hollman P., Katan M. (1999) Health Effects and Bioavailability of Dietary Flavonols. *Free Radical Research* **31**: 75-80.

Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. (2006) Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* **94**: 550-557.

Kazazić S.P. (2004) Antioksidacijska i antiradikalna aktivnost flavonoida. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* **55**: 279-290.

Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczynska-Swiglo A. (2007) Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis* **20**: 313-322.

Macheix JJ, Fleureit A, Billot J. (1990) Fruit Phenolics, CRS Press.

- Mihoci M. (2015) Spektrofotometrijsko određivanje boje. *Kemija u industriji* **64**: 681-694.
- Nacz M., Shahidi F. (2004) Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* **1054**: 95-111.
- Özcan M.M., Matthäus B. (2016) A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology* **243**: 1-11.
- Pereira D.M., Valentão P., Andrade P. (2009) Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules* **14**: 2202-2211.
- Salta F.N., Mylona A., Chiou A., Boskou G., Andrikopoulos N.K. (2007) Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International* **13**: 413-421.
- Sant'Anna V., Gurak P., Damasceno Ferreira Marczak L., Tessaro I.C. (2013) Tracking bioactive compounds with colour changes in foods. *Dyes and Pigments* **98**: 601-608.
- Schulzki G., Nüßlein B., Sievers H. (2017) Transition rates of selected metals determined in various types of teas (*Camellia sinensis* L. Kuntze) and herbal/fruit infusions. *Food Chemistry* **215**: 22-30.
- Shortle E., O'Grady M.N., Gilroy D., Furey A., Quinn N., Kerry J.P. (2014) Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenate. *Meat Science* **98** (4): 828-834.
- Susalit E., Agus N., Effendi I., Tjandrawinata R., Nofiarnyc D., Perrinjaquet-Moccetti T., Verbruggend M. (2010) Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine* **18**: 1-8.
- Talhaoui N., Taamalli A., Gómez-Caravaca A.M., Fernández-Gutiérrez A., Segura-Carretero A. (2015) Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* **77**: 92-108.
- Therios I.N. (2008) Olives, CABI, str. 1-31.
- Weatherall I.L., Coombs B.D. (1992) Skin Color Measurements in Terms of CIELAB Color Space Values. *J Invest Dermatol.* **99**: 468-473.
- Xie P., Huang L., Zhang C., Zhang Y. (2015) Phenolic composition, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea* L.) extracts and their structure - activity relationships. *Journal of Functional Foods* **16**: 460-471.

7. PRILOZI



Prilog 1. Priprema uzoraka napitaka od lista masline

Zadnja stranica završnog rada

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Martina Manić

ime i prezime studenta