

# Ispitivanje primjene suhog koštuničavog voća kao kiselo-baznog indikatora

---

**Glavaš, Dora**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:082222>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Dora Glavaš

**Ispitivanje primjene suhog koštuničavog voća**

**kao kiselo-baznog indikatora**

Završni rad

Mentor: doc.dr.sc. Ana Amić

Osijek, 2022.

## **Sažetak**

Pojam koštuničavo voće obuhvaća velik broj voća koje je rasprostranjeno po cijelom svijetu. Odnosi se na voće čiji plod ima tvrdi košticu u sredini. Najpoznatiji predstavnici su šljiva, breskva, trešnja, višnja, itd. Brojne vrste koštuničavog voća sadrže pigmente koji u ovisnosti o pH mijenjaju boju otopine. Zbog toga je takav biljni materijal pogodan kao alternativni kiselo-bazni indikator. Cilj istraživanja bio je ispitati može li suho koštuničavo voće poslužiti kao kiselo-bazni indikator. Korištene su suhe višnje, trešnje, šljive, breskve, marelice, nektarine, ringlov, japanske trešnje i drenjina. Kao otapala za pripremu indikatora korišteni su aceton, etanol i metanol. Preliminarno ispitivanje izvedeno je na višnji kako bi se odredio optimalni omjer biljnog materijala i otapala. Sve voće bilo je iznimne čistoće, bez primjesa i onečišćenja koji bi mogli utjecati na rezultate ispitivanja. Istraživanje je pokazalo kako se suho koštuničavo voće, u najvećoj mjeri šljiva, višnja i trešnja, može uspješno koristiti kao prirodni kiselo-bazni indikator.

***Ključne riječi:*** prirodni indikatori, (poli)fenoli, aceton, etanol, metanol, koštuničavo voće

## **Abstract**

The term stone fruit refers to a number of fruit that are widespread throughout the world. It refers to fruit which has a stone in the middle of the fruit. The most famous representatives are plums, peaches, sour cherries, sweet cherries, etc. Many species of this type of fruit contain pigments that change colour depending on the pH of the medium. Because of this fact, such plant material is appropriate as an alternative acid-base indicator. The aim of this study was to examine whether dry stone fruit could serve as an acid-base indicator. Dried sour cherries, sweet cherries, plums, peaches, apricots, nectarines, cherry plums, Japanese cherries and Cornelian cherries have been used. Acetone, ethanol and methanol were used as solvents for indicator preparation. The preliminary research was performed on cherries in order to determine optimal ratio of plant material and solvent. All used fruit were pure, with no additives or impurities that could impact results in any way. Research has shown that dry stone fruit, mainly plums and cherries, can be successfully used as a natural acid-base indicator.

**Key words:** natural indicators, (poly)phenols, acetone, ethanol, methanol, stone fruit

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. LITERATURNI PREGLED .....	2
2.1. Koštuničavo voće .....	2
2.1.1. Višnja, <i>Prunus cerasus</i> L. ....	3
2.1.2. Trešnja, <i>Prunus avium</i> L. ....	5
2.1.3. Šljiva, <i>Prunus domestica</i> L. ....	7
2.1.4. Breskva, <i>Prunus persica</i> L. ....	9
2.1.5. Nektarina, <i>Prunus persica</i> var. <i>nucipersica</i> L. ....	10
2.1.6. Marelica, <i>Prunus armeniaca</i> L. ....	12
2.1.7. Drenjina, <i>Cornus mas</i> L. ....	13
2.1.8. Ringlov, <i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. ....	14
2.1.9. Japanska trešnja, <i>Prunus serrulata</i> Lindl. ....	14
2.2. Dehidrirano koštuničavo voće .....	15
2.3. Konvencionalni kiselo-bazni indikatori .....	16
2.4. Prirodni indikatori .....	18
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	20
3.1. Korišteni biljni materijal .....	20
3.2. Korištene kemikalije i pribor .....	20
3.3. Preliminarno ispitivanje .....	20
3.4. Priprema otopina .....	21
3.5. Plan rada i postupak .....	22
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	23
4.1. Preliminarno ispitivanje – višnja .....	23
4.2. Višnja .....	25
4.3. Trešnja .....	27
4.4. Šljiva .....	30
4.5. Breskva .....	32
4.6. Nektarina .....	34
4.7. Marelica .....	36
4.8. Ringlov .....	38
4.9. Drenjina .....	40

4.10. Japanska trešnja .....	42
5. ZAKLJUČAK .....	45
6. LITERATURNI VRELA .....	47

## 1. UVOD

U suvremenoj kemiji, pri izvođenju eksperimenata, prevladava uporaba sintetski dobivenih kiselobaznih indikatora koji često mogu biti skupi ili nedostupni. Zbog toga pojedine škole iz nastavnog programa izbacuju izvođenje eksperimenata. U ovom radu ispitana je učinkovitost alternativnih kiselobaznih indikatora koji bi svojom primjenom uvelike poboljšali i olakšali izvedbu određenih eksperimenata u nastavi kemije.

Ispitivanje je provedeno na uzorcima suhog koštuničavog voća uz dodatak raznih otapala, i to acetona, etanola i metanola. Od voća su ispitani višnja, trešnja, breskva, marelica, nektarina, drenjina, japanska trešnja, ringlov i šljiva. U prvom dijelu rada detaljnije su opisane voćke koje su korištene te je naveden njihov kemijski sastav koji je od velike važnosti za ovo istraživanje. Također, nabrojani su i opisani sintetski kiselobazni indikatori, kao i alternativni kiselobazni indikatori.

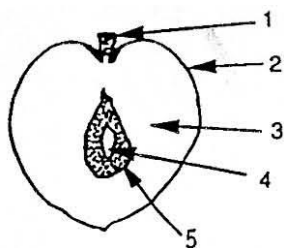
U drugom dijelu rada, nakon prikaza korištenih materijala i metoda, prikazani su rezultati istraživanja te su pojašnjene promjene koje su se dogodile. Rezultati su prikazani slikama koje su detaljno objašnjene. Dobiveni rezultati su pokazali kako većina ovdje ispitanog suhog koštuničavog voća može poslužiti kao kiselobazni indikator, a razlog tomu je kemijski sastav voća. U voću prisutni polifenoli i antocijanini uzrokuju promjenu boje u različitim pH medijima. Prema dobivenim rezultatima, kao vizualno najdojmljiviji pokazali su se indikatori pripremljeni od šljive, višnje i trešnje, dok se od otapala posebno istakao etanol.

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Koštuničavo voće

Pojam *voće* općenito obuhvaća sve plodove ili sjemenke samoniklih višegodišnjih stabala ili grmova koje ljudi od davnina do danas konzumiraju u svakodnevnoj prehrani. Voće se može jesti sirovo ili prerađeno [1]. Možemo ga pronaći na svim kontinentima, a dijelimo ga prema području uspijevanja. Razlikujemo kontinentalno voće, u koje se ubraja koštuničavo voće, jabučasto voće, bobičasto voće, jagodičasto voće i sl., te južno voće u koje se ubrajaju agrumi. U ovom radu detaljnije ćemo se osvrnuti na koštuničavo voće [1, 2].

Koštuničavo voće odnosi se na veliki broj vrsta voća. Iako su one oblikom i okusom različite, građa ploda im je svima jednaka. Kao što vidimo na Slici 1., plod se sastoji od peteljke (1), ljuske koja štiti plod (2), mesnatog usplođa (3) te male ili velike koštice koja se nalazi u sredini ploda (5), a u toj tvrdoj koštici se nalazi sjemenka (4) [1, 3].



Slika 1. Građa ploda koštuničavog voća [3].

Vrste koštuničavog voća koje ljudi najčešće konzumiraju su: višnja, trešnja, šljiva, breskva, marelica ili kajsija, nektarina, itd. Kemijski sastav im je vrlo raznolik i općenito ovisi o vrsti, a najčešće se znatno razlikuju u količini ugljikohidrata. Ono što im je zajedničko je da se sastoje od oko 83-85 % vode, vrlo male količine masti (tek 0,2-0,5 %) te oko 1 % proteina [4]. Također, u njima možemo pronaći veliki broj vitamina i minerala, kao i neke važne fitonutrijente. Obzirom da je voće vrlo slatko, bitno je naglasiti njegovu kalorijsku vrijednost. Na 100 g svježeg koštunjičavog voća unesemo 47 do 71 kilokalorija (engl. *kilocalories*, kcal) ovisno o vrsti koju jedemo [1, 4, 5].

Sorte koštuničavog voća vole toplu klimu, zbog toga najbolje uspijevaju na umjerenim geografskim širinama. No postoje egzotične sorte koštuničavog voća koje rastu samo na određenim područjima, na primjer pravu pistaciju ili prljavu tršlju (*Pistacia vera*



L.) možemo pronaći u Iranu i Siriji, Kaliforniji te Turskoj. Još jedna egzotična sorta je japanska trešnja (*Prunus serrulata* L.) koja uglavnom raste u Japanu, Kini i Koreji. Koštuničavo voće je sezonsko voće, hladno vrijeme i zima ne pogoduje uzgoju pa ovo voće većinom sazrijeva u toplim mjesecima [6].

### 2.1.1. Višnja, *Prunus cerasus* L.

Višnja (*Prunus cerasus* L.) je listopadna biljna vrsta koja pripada rodu *Prunus*, te porodici ružovki, *Rosaceae*. Nastala je križanjem slatke trešnje s nekim divljim, kiselijim vrstama. Stablo trešnje može narasti i do 6 metara i ima gustu, okruglastu krošnju s vitkim granama crveno-smeđe boje. Korijski sustav kod višnje je vrlo plitak, zbog toga joj najbolje odgovaraju topla i dobro propusna tla [7]. Listovi višnje mogu biti ovalni ili eliptični, no svi imaju ušiljeni vrh te nazubljene rubove. Cvjetovi se nalaze na dugim peteljka i bijele su boje. Oni su dvospolni i pravilni. Plod je koštunica tamno crvene boje okruglog oblika, upravo zbog svog crvenog mesa prozvana je simbolom djevičanstva (Slika 2.) [8].



Slika 2. Plod višnje [8].

Porijeklom je iz Male Azije, a kod nas najčešće raste u bjelogoričnim miješanim šumama. Najpoznatija sorta u Hrvatskoj je ona koja se uzgaja u Dalmaciji i naziva se višnja maraska (*Prunus cerasus* var. *marasca* (Host.) Viv.). Maraska je izrazito poznata po svojim velikim i sočnim plodovima zbog kojih se prerađuje u sok i liker. Višnja je izvrsna medonosna biljka jer osim što se nektar nalazi u cvjetovima koje oprašuju pčele, višnja ima izvancvjetne nektarije koje se nalaze na naličju listova. Zbog kemijskog sastava višnje (Tablica 1.), vrlo se često koristi u prehrambenoj industriji te ponekad u medicini. Plod višnje se može jesti sirov ili se prerađuje u sok, čaj, rakiju, džem i sl. [1, 7-9].

Tablica 1. Kemijski sastav ploda svježe višnje i proizvoda od višnje [1].

hranjive tvari	višnja svježa (g)	sok od višnje (g)
<b>voda</b>	84-88	83-87
<b>proteini</b>	1	0,3
<b>masti</b>	0,5	-
<b>ugljikohidrati</b>	11	14
<b>minerali</b>	0,5	0,5
<b>sirova vlakna</b>	1-2	u tragovima

*Phenol-Explorer* je baza podataka u kojoj možemo pronaći podatke o (poli)fenolima u hrani. Baza je nastala pregledom i ujedinjenjem preko 1300 znanstvenih radova. U Tablici 2. dan je popis (poli)fenola svježe višnje, koji je sastavljen pregledom *Phenol-Explorer 3.6* baze.

Tablica 2. (Poli)fenolni spojevi u plodu svježe višnje [10]. Legenda: min – minimalna koncentracija, max – maksimalna koncentracija, SD – standardna devijacija. Rezultati su izraženi u mg/100g.

Flavonoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
<b>Antocijanini</b>	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	1,12	0,35	2,42	1,13
	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozil-rutinozid	43,63	6,20	109,70	57,39
	cijanidin-3- <i>O</i> -rutinozid	6,98	0,97	13,80	6,45
	peonidin-3- <i>O</i> -rutinozid	2,70	2,70	2,70	0,00
<b>Fenolne kiseline</b>					
<b>Hidroksicimetne kiseline</b>	3-kafeoil kininska kiselina	19,10	8,20	40,50	18,53
	3-feruloil kininska kiselina	0,13	0,00	0,40	0,23
	3- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	13,97	10,60	20,00	5,24
	4-kafeoil kininska kiselina	0,27	0,00	0,80	0,46
	4-feruloil kininska kiselina	0,07	0,00	0,20	0,12
	4- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	1,47	0,70	3,00	1,33
	5-kafeoil kininska kiselina	7,20	5,50	9,60	2,14
	5-feruloil kininska kiselina	0,07	0,00	0,20	0,12
	5- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	0,10	0,00	0,30	0,17

Iz Tablice 2. vidimo da je u plodu sadržana velika količina antocijanina koji su odgovorni za tamno crvenu boju ploda višnje. Također, velika količina antocijanina ukazuje kako bi višnja potencijalno mogla biti dobar prirodni kiselo-bazni indikator.

### 2.1.2. Trešnja, *Prunus avium* L.

Trešnja (*Prunus avium* L.) je također listopadno drvo iz porodice ružovki (Rosaceae). Ime vrste *avium* potječe od latinske riječi *avis* koja znači ptica, a iskorištena je u nazivu vrste vjerojatno zbog toga što ptice vole jesti plod trešnje. Zbog toga u Hrvatskoj možemo čuti naziv ptičarica ili ptičja trešnja. Porijeklom je iz Turske iz koje je uvezena u Rimsko Carstvo, a zatim su je stari Rimljani proširili po cijeloj Europi. Njezino stablo može narasti i do 30 metara visine i ima vrlo raširenu i razgranatu krošnju. Kora je crveno-smeđe boje te je vrlo tanka i žilava, a starenjem drveta se odvaja u vodoravnim prugama. Listovi su vrlo jednostavni, eliptični te imaju šiljasto nazubljene rubove, zeleni su i sjajni, a u jesen prije nego što otpadnu postaju crveni ili narančasti. Cvjetovi su dvospolni i imaju dvostruko ocvijeće, bijele su boje. Plod trešnje je okrugla mesnata koštunica koja je svijetlo crvene do tamno crvene boje ovisno o sorti, a promjer joj je oko 1 centimetar (Slika 3.). Korijski sustav je vrlo jak i dubok, za razliku od višnje. Tlo koje pogoduje rastu trešnje je duboko i rahlo, neutralnog ili blago alkalnog pH [11-13].



Slika 3. Plod trešnje [14].

Plodovi dozrijevaju u lipnju te je bitno dobro procijeniti kada ubrati zreli plod, jer jednom ubran plod trešnje više ne dozrijeva. Trešnje su vrlo bogate vitaminima C i B te sadrže minerale kao što su kalcij, kalij, magnezij, fluor, a mogu se pronaći sumpor i bakar [15]. Baš zbog svog sastava (Tablica 3.) osim kao svježeg voća, trešnje imaju važnu ulogu kao prerađevina u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Prerađuju se u kompot, džem, liker, marmeladu, itd. Čaj od peteljki trešnje koristi se kao diuretičko sredstvo te se smatra da liječi bolest bubrega [3, 15].

Tablica 3. Kemijski sastav ploda svježe trešnje i proizvoda od trešnje [1].

hranjive tvari	trešnja svježa (g)	džem od trešnje (g)
<b>voda</b>	81-85	33
<b>proteini</b>	1	0,7
<b>masti</b>	0,3	0,3
<b>ugljikohidrati</b>	14	64
<b>minerali</b>	0,5	u tragovima
<b>sirova vlakna</b>	1-2	u tragovima

Pregledom baze *Phenol-Explorer 3.6* određen je (poli)fenolni sastav ploda svježe trešnje, što je prikazano u Tablici 4. Također, kao i višnja, trešnja sadrži visoku koncentraciju antocijanina koji su odgovorni za tamnu boju ploda. Oni također mijenjaju boju u različitom pH mediju te je zbog toga trešnja potencijalno dobar prirodni kiselo-bazni indikator.

Tablica 4. (Poli)fenolni spojevi u plodu svježe trešnje [10].

Flavonoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
<b>Antocijanini</b>	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	18,73	0,00	48,00	16,32
	cijanidin-3- <i>O</i> -rutinozid	143,27	1,57	393,00	97,62
	pelargonidin-3- <i>O</i> -rutinozid	1,24	0,00	3,91	1,30
	peonidin-3- <i>O</i> -glukozid	0,76	0,00	3,00	0,84
	peonidin-3- <i>O</i> -rutinozid	7,42	0,00	27,50	7,54
<b>Flavanoli</b>	(+)-katehin	1,50	0,61	2,17	1,10
	(-)-epikatehin	7,78	5,45	9,53	2,88
	(-)-epikatehin-3- <i>O</i> -galat	0,09	0,00	0,20	0,14
	(-)-epigalokatehin	0,05	0,00	0,11	0,08
	procijanidin dimer B1	0,23	0,23	0,23	0,00
	procijanidin dimer B2	2,10	2,10	2,10	0,00
	procijanidin dimer B3	0,08	0,08	0,08	0,00
	procijanidin dimer B4	0,18	0,18	0,18	0,00
	procijanidin dimer B5	0,20	0,20	0,20	0,00
	procijanidin dimer B7	1,01	1,01	1,01	0,00
	procijanidin trimer C1	1,85	1,85	1,85	0,00
<b>Fenolne kiseline</b>					
<b>Hidroksicimetne kiseline</b>	3-kafeoil kininska kiselina	44,71	8,20	128,16	33,70
	3-feruloil kininska kiselina	0,43	0,00	0,80	0,40
	3- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	38,43	7,18	131,45	41,30
	4-kafeoil kininska kiselina	0,77	0,00	1,80	0,93
	4- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	1,27	1,10	1,50	0,21

### 2.1.3. Šljiva, *Prunus domestica* L.

Šljiva (*Prunus domestica* L.) je srednje veliko listopadno stablo, no ponekad se može pojaviti kao manje stablo bujnog rasta. Izvorno stablo šljive je raslo na gorju Kavkaz te je od tamo preko Sirije prošireno do Europe. Stablo može narasti i do 10 metara u visinu te ima bujnu razgranatu krošnju. Kod mladih stabala kora je glatka i sivo-smeđe je boje, dok kod starijeg drveća kora puca. Listovi su vrlo jednostavni, mogu biti ovalni, eliptični ili tupasti, a na rubovima su sitno nazubljeni. Cvjetovi šljive su dvospolni i pravilni te ih nalazimo na dugim peteljka. Ocvijeće je dvostruko, a sastoji se od 5 bijelih jajastih latica. Plod je koštunica ovalnog oblika čije je meso zelenkasto-žute boje dok je kožica plave do crvene boje ovisno o sorti šljive, meso im je pahuljasto i sočno, zbog čega se vrlo teško odvaja od koštice koja je vrlo glatka (Slika 4.). Raste na dubokom, propusnom tlu bogatom mineralima fosforom i kalijem. Optimalan pH tla za uzgoj šljive je 6-7,5 [1, 16, 17].



Slika 4. Plod šljive [16].

Kemijski sastav ploda šljive vrlo je raznolik. Plodovi sadrže veliki broj vitamina kao što su provitamin A, vitamini C, B1, B2 i E, a od minerala sadrže kalcij, kalij, cink i željezo. Osim što ima antioksidativna svojstva, također pospješuje apsorpciju željeza i simulira imunološki sustav. Suhe šljive se često koriste za održavanje normalne funkcije i zdravlja crijeva [18].

Pretragom baze *Phenol-Explorer 3.6* određen je sastav (poli)fenola u plodu suhe i svježe šljive te vidimo rezultate u Tablici 5. Usporedbom suhe i svježe šljive vidimo da se dio spojeva izgubio tijekom sušenja. Svježa šljiva sadrži veliku količinu antocijanina koji su odgovorni za tamno plavu boju ploda. Zbog toga se pretpostavlja da je svježa šljiva potencijalno bolji kiselo-bazni indikator od suhe šljive.

Tablica 5. (Poli)fenolni spojevi suhe i svježe šljive [10]

SUHA ŠLJIVA					
Flavonoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
Flavonoli	kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid	2,50	0,00	6,50	2,62
Fenolne kiseline					
Hidroksicimetne kiseline	3-kafeoil kininska kiselina	118,59	92,80	148,50	18,83
	3- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	1,32	1,00	1,50	0,35
	4-kafeoil kininska kiselina	31,25	28,80	35,10	3,01
	5-kafeoil kininska kiselina	38,79	5,30	43,60	18,48
	kavena kiselina	1,11	0,90	2,80	0,84
	<i>p</i> -kumarinska kiselina	1,11	0,00	2,90	1,16
SVJEŽA ŠLJIVA					
Antocijanini	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	8,63	0,00	64,10	12,93
	cijanidin-3- <i>O</i> -rutinozid	33,85	0,00	144,80	30,44
	peonidin-3- <i>O</i> -glukozid	0,46	0,00	2,30	0,68
	peonidin-3- <i>O</i> -rutinozid	4,85	0,00	9,70	6,86
Flavanoli	(+)-katehin	4,60	3,35	5,40	1,13
	(-)-epikatehin	2,22	0,00	4,35	2,21
	procijanidin dimer B1	8,84	8,84	8,84	0,00
	procijanidin dimer B2	5,20	5,20	5,20	0,00
	procijanidin dimer B3	1,00	1,00	1,00	0,00
	procijanidin dimer B4	1,02	1,02	1,02	0,00
	procijanidin dimer B5	1,59	1,59	1,59	0,00
	procijanidin dimer B7	4,69	4,69	4,69	0,00
	procijanidin trimer C1	10,01	10,01	10,01	0,00
	procijanidin trimer EEC	7,73	7,73	7,73	0,00
Flavonoli	kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	0,27	0,00	5,37	1,11
	kvercetin-3- <i>O</i> -glukozid	0,54	0,00	3,70	1,05
	kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid	5,90	1,00	15-57	3,74
Fenolne kiseline					
Hidroksicimetne kiseline	3-kafeoil kininska kiselina	75,88	2,68	215,40	57,43
	3-feruloil kininska kiselina	1,85	1,20	2,90	0,74
	3- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	1,49	0,40	3,60	1,25
	4-kafeoil kininska kiselina	1,40	0,00	5,60	2,80
	5-kafeoil kininska kiselina	8,40	0,90	21,00	5,47
	5-feruloil kininska kiselina	0,05	0,00	0,20	0,10

#### 2.1.4. Breskva, *Prunus persica* L.

Breskva (*Prunus persica* L.) je listopadno stablo koje najčešće raste u Europi i Aziji, a najbolje uspijeva na Mediteranu. Zbog vjerovanja da je Perzija njihovo izvorno područje često se upotrebljava naziv perzijska jabuka [4]. Stablo breskve može narasti i do 10 metara u visinu, a na vrhu se nalazi vrlo rijetka razgranata krošnja. U početku kora drveta je smeđe boje i površina joj je glatka, no što je drvo starije kora počinje pucati i poprima sivo-smeđu boju. Listovi su jednostavni i mogu biti eliptični ili lancetasti te imaju nazubljene rubove. Cvjetovi su dvospolni i pronalazimo ih na kratkim stapkama. Ocvijeće je dvostruko i sastoji se od manjih rozih ili bijelih latica. Plod je okrugao i mesnat, obavljen je baršunastom kožicom koja ga štiti, u sredini se nalazi rebrasta koštica plosnatog oblika (Slika 5.). Tla na kojima breskve uspijevaju moraju biti lagana i pjeskovita, a optimalan pH za rast je 6-7 [19, 20].



Slika 5. Plod breskve [19].

Breskva se može jesti svježa, ali se od nje mogu raditi različiti pripravci npr. marmelada, džem, sok, čaj, itd. Kemijski sastav svježeg ploda je također raznolik, a on sadrži veliki broj različitih vitamina i minerala. Neki od njih su vitamini A, C, i E, kao i kalcij, kalij, željezo i magnezij [20]. U Tablici 6. možemo vidjeti popis (poli)fenolnih spojeva u breskvi s i bez kožice, utvrđenih pregledom *Phenol-Explorer 3.6* baze. Prema prikazanim rezultatima, breskva sadrži malu količinu cijanidina i procijanidina, što ukazuje na to da breskva možda nije obećavajući kiselo-bazni indikator. Ipak, bitno je naglasiti da se ovi rezultati odnose na oguljenu breskvu.

Tablica 6. (Poli)fenolni spojevi u svježoj neoguljenoj i oguljenoj breskvi [21].

SVJEŽA NEOGULJENA BRESKVA					
Flavanoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
Flavanoli	(+)-katehin	2,33	2,33	2,33	0,00
Fenolne kiseline					
Hidroksicimetne kiseline	3-kafeoil kininska kiselina	8,75	3,30	14,20	7,71
	3-feruloil kininska kiselina	0,20	0,20	0,20	0,00
	3- <i>p</i> -kumaroil kininska kiselina	0,35	0,30	0,40	0,07
	5-kafeoil kininska kiselina	15,55	4,30	26,80	15,91
SVJEŽA OGULJENA BRESKVA					
Antocijanini	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	0,28	0,00	1,32	0,35
Flavanoli	(+)-katehin	5,47	0,53	19,67	4,97
	(-)-epikatehin	7,97	0,65	16,48	4,19
	(-)-epikatehin-3- <i>O</i> -galat	1,00×10 <sup>-2</sup>	0,01	0,01	0,00
	procijanidin dimer B1	25,77	0,71	68,74	19,57
	procijanidin dimer B2	2,32	2,32	2,32	0,00
	procijanidin dimer B3	2,44	0,07	8,50	2,04
	procijanidin dimer B4	0,13	0,13	0,13	0,00
	procijanidin dimer B5	0,04	0,04	0,04	0,00
	procijanidin dimer B7	1,30	1,30	1,30	0,00
	procijanidin trimer C1	2,53	2,53	2,53	0,00
	procijanidin trimer EEC	0,34	0,34	0,34	0,00
Flanonoli	kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	0,71	0,00	1,46	0,41
Fenolne kiseline					
Hidroksicimetne kiseline	3-kafeoil kininska kiselina	4,13	0,90	8,15	2,09
	5-kafeoil kininska kiselina	5,25	0,70	24,22	5,06
	kavena kiselina	0,63	0,00	1,20	0,47

### 2.1.5. Nektarina, *Prunus persica* var. *nucipersica* L.

Nektarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* L.) ime je dobila prema grčkom bogu Nektaru, a sok ovog ploda se naziva „pićem bogova“. Potječe iz Kine, odakle je stigla u Grčku, a danas pretežito raste u umjereno toplim krajevima južne i sjeverne hemisfere. Ona je podvrsta breskve, a od nje se razlikuje samo po kožici ploda. Nektarina ima gladak plod, odnosno njena kožica nema dlačice (Slika 6.). U početku, nektarine su bile izrazito male i zelenkaste boje, no daljnjim križanjem dobiven je plod koji je sličan breskvi. Stablo može narasti i do 6 metara, a cvjetovi su bijelo-ružičasti. Naizgled se ne razlikuju od stabla breskve [22].





Slika 6. Plod nektarine [22].

Nektarine imaju vrlo malo kalorija, samo 53 kcal na 100 g, nemaju masnoće, a mogu poslužiti kao odličan izvor antioksidansa. Sadrže vitamine A, B i C te velik broj minerala kao što su kalcij, željezo, magnezij, natrij, itd. (Tablica 9.). Zbog visokog udjela antioksidansa imaju važnu imunološku ulogu, jačaju imunitet i povećavaju obrambenu sposobnost organizma [22, 23].

Tablica 7. Vitamini u svježoj nektarini [22].

vitamini na 100 g	Vrijednost ( $\mu\text{g}$ )
<b>vitamin A</b>	73
<b>vitamin B6</b>	0,03
<b>vitamin C</b>	8
<b>vitamin E</b>	0,5

U Tablici 7. vidimo popis bioaktivnih (poli)fenolnih spojeva u cijeloj nektarini i u nektarini bez kožice koji su izlistani u bazi *Phenol-Explorer 3.6*. U Tablici 8. možemo vidjeti kako su u svježoj nektarini (s kožicom i bez) prisutne vrlo male količine antocijanina, pa je to vjerojatni razlog što je nektarina svjetlije crvene boje.

Tablica 8. (Poli)fenolni spojevi u svježoj nektarini [21].

CIJELA NEKTARINA					
Flavonoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
<b>Antocijanini</b>	malvidin-3,5- <i>O</i> -diglukozid	0,30	0,00	1,78	0,64
<b>Flavanoli</b>	(+)-katehin	4,72	1,09	11,29	3,67
	procijanidin dimer B1	9,95	2,80	17,17	5,26
<b>Flavonoli</b>	kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	0,11	0,00	0,47	0,20
	kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,10	0,00	0,56	0,21
Fenolne kiseline					
<b>Hidroksicimetne kiseline</b>	3-kafeoil kininska kiselina	3,96	1,83	6,16	1,50
	5-kafeoil kininska kiselina	6,08	3,49	8,61	1,58
NEKTARINA BEZ KOŽICE					
<b>Antocijanini</b>	cijanidin-3- <i>O</i> -glukozid	0,56	0,00	2,36	0,66
<b>Flavanoli</b>	(+)-katehin	4,78	0,00	23,60	5,41
	(-)-epikatehin	2,98	1,32	5,64	1,14
	procijanidin dimer B1	25,77	0,71	68,74	19,57
<b>Flavonoli</b>	kvercetin-3- <i>O</i> -galaktozid	0,57	0,00	1,60	0,46
Fenolne kiseline					
<b>Hidroksicimetne kiseline</b>	3-kafeoil kininska kiselina	5,13	1,15	18,30	3,75
	5-kafeoil kininska kiselina	8,19	2,31	27,71	5,51

### 2.1.6. Marelica, *Prunus armeniaca* L.

Marelica ili kajsija (*Prunus armeniaca* L.) potječe iz sjeveroistočne Kine, odakle se proširila po cijeloj Europi. Stablo je srednjeg rasta te može narasti do 12 metara u visinu i tvori razgranatu, okruglastu krošnju s tanjim granama. Listovi su ovalnog oblika, vrlo jednostavni, a na rubovima nazubljeni. Cvjetovi rastu pojedinačno i sastoje se od 5 bijelih ili rozih latica. Plodovi sazrijevaju već početkom lipnja, a sastoje se od koštice u sredini i žutog mesnatog usplođa (Slika 7.). Kožica je žuto-narančaste boje i prekrivena sitnim dlačicama. Marelice su izuzetno bogate vitaminom A i zbog toga imaju ulogu i u farmaceutskoj industriji. Osim što se mogu jesti svježe, mogu se i sušiti, prerađivati u džem, marmelade, a vrlo je poznata i rakija od marelice [24, 25].



Slika 7. Plod marelice [24].

U Tablici 9. možemo vidjeti popis (poli)fenolnih spojeva u svježoj marelici utvrđenih pregledom *Phenol-Explorer 3.6* baze. Prema podacima prikazanim u Tablici 9. može se zaključiti kako svježa marelica ne sadrži antocijanine ni flavonoide što ukazuje da marelica moguće nema veliki potencijal kao kiselo-bazni indikator. Međutim, moguće je da metode korištene u radovima citiranima u *Phenol-Explorer* bazi nisu najpogodnije za detekciju ovih spojeva u marelici, stoga ove rezultate treba uzeti s rezervom. Nadalje, iako u uzorcima svježe marelice nisu dokazani antocijanidini, procijanidini su prisutni (iako u jako malim koncentracijama).

Tablica 9. (Poli)fenolni spojevi u svježoj marelici [26].

Flavonoidi		srednja vrijednost	min	max	SD
<b>Flavonoidi</b>					
<b>Flavanoli</b>	(+)-katehin	2,96	0,31	4,95	3,28
	(-)-epikatehin	3,47	0,02	6,06	4,27
	procijanidin dimer B1	0,09	0,09	0,09	0,00
	procijanidin dimer B3	0,05	0,05	0,05	0,00
	procijanidin dimer B7	$1,00 \times 10^{-2}$	0,01	0,01	0,00
	procijanidin trimer EEC	$1,00 \times 10^{-2}$	0,01	0,01	0,00
<b>Flavanoli</b>	kvercetin-3- <i>O</i> -rutinozid	0,12	0,01	0,56	0,15
<b>Fenolne kiseline</b>					
<b>Hidroksicimetne kiseline</b>	3-kafeoil kininska kiselina	5,38	2,60	7,80	1,88
	5-kafeoil kininska kiselina	3,58	0,30	10,30	2,70

### 2.1.7. Drenjina, *Cornus mas L.*

Drenjina ili crveni drijen (*Cornus mas L.*) je listopadna biljka koju u prirodi pronalazimo u obliku grma ili niskog stabla. Klasificirana je u porodicu drijenovki (Cornaceae). Kora stabla je sive boje i površina joj je ispucana. Listovi su jajoliki s cjelovitim rubovima. Cvjetovi su dvospolni i mnogobrojni, a javljaju se već krajem zime. Plodovi su mesnate bobice crvene boje koje vise s manjih stapki (Slika 8.) [27]. Drenjina sadrži veliku količinu vitamina, posebice vitamina C. Osim toga, plod sadrži dosta šećera, tanina i antocijanina [28].



Slika 8. Plod drenjine [27].

#### **2.1.8. Ringlov, *Prunus cerasifera* Ehrh.**

Ringlov (*Prunus cerasifera* Ehrh.), naziva se još i zerdelija. To je listopadno stablo nižeg rasta, koje se često pronalazi i u polugrmolikom obliku. Listovi su u obliku jajeta, vrh im je zašiljen, a rubovi nazubljeni. Cvjetovi su bijele ili ružičaste boje, sastavljeni od pet malih latica. Plodovi su manje koštunice okruglog ili eliptičnog oblika, promjera 2-3 centimetra, a mogu biti žute ili crveno-smeđe boje, ovisno o sorti (Slika 9.). Bogata je mineralima kalijem, fosforom i magnezijem, a sadrži i dosta vitamina C [29].



Slika 9. Plod ringlova [29].

#### **2.1.9. Japanska trešnja, *Prunus serrulata* Lindl.**

Japanska trešnja (*Prunus serrulata* Lindl.) porijeklom je iz Kine te se zatim uvozi u SAD i Japan. U Japanu postaje simbol dolaska proljeća, upravo zbog toga je dobila ovaj naziv. Stablo je uskog rasta i naraste 10-25 metara u visinu. Listovi su dugi i nazubljeni na rubovima, eliptičnog oblika. Cvjetovi su bijeli ili nježno ružičasti i sakupljeni u cvatove što

možemo vidjeti na Slici 10. Upravo zbog prekrasnih cvjetova, ova se biljka često koristi kao ukras u parkovima. Plod je manja koštunica okruglog oblika i bordo je boje [30].



Slika 10. Cvijet japanske trešnje [30].

## 2.2. Dehidrirano koštuničavo voće

Osim konzumacije svježeg voća, razvijena je i tehnika sušenja voća. Od davnina se voće sušilo na Suncu, a danas postoje posebni uređaji ili sušionici. Od koštuničavog voća najčešće se suše šljiva i marelica, a u ovom su radu, osim navedenih, sušene i breskva, nektarina, višnja, trešnja, drenjina, ringlov i japanska trešnja.

Kako bi se voće dobro osušilo, potrebno ga je prvo pripremiti. Najprije, plodovi se moraju ubrati potpuno zreli te se treba paziti da se pri branju ne uništi kožica. Zatim slijedi pranje voća kako bi se uklonile sve nečistoće. Neke vrste voća kao što su šljive, trešnje i višnje se tretiraju vrućom otopinom NaOH (0,25-0,50 %). Zatim slijedi raspolovljavanje ploda i vađenje koštice te ukoliko je potrebno može se oguliti kožica. Normalnim postupcima sušenja voća dobiva se voće čiji je postotak vode oko 20 % ili više. Ukoliko se postotak želi smanjiti na 10 % provodi se poseban protokol i voće se mora sušiti u posebnim vakuum sušionicima [31].

Šljivu u sušioniku sušimo na 100-110 °C i taj postupak nazivamo evitiranjem, a sam postupak traje od 10 do 12 sati. Ukoliko ju sušimo klasično na Suncu potrebno je plod prvo premazati vrućom otopinom NaOH i takav postupak traje puno duže [31]. Suhe šljive, kao i svježe, imaju bogat kemijski sastav. Sadrže vitamine A i C, riboflavin te minerale kao što su kalcij i magnezij. Zanimljiva je činjenica da na 100 g suhe šljive ima čak 38,13 g šećera [31].

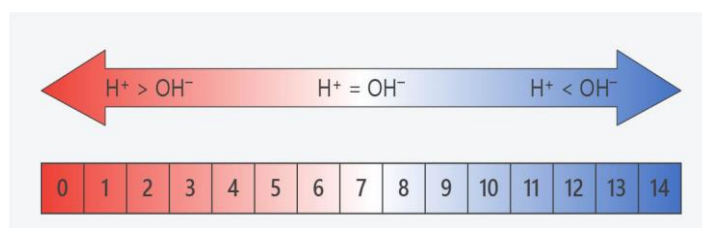
Sušenje marelice zahtjeva dodatan korak, a to je sumporenje. Sumporenje je proces u kojem se plod izlaže plinovitom SO<sub>2</sub> (koji se može dobiti spaljivanjem sumpora), proces traje najmanje 3 sata. Taj postupak se koristi kako kožica ne poprimi smeđu boju nakon sušenja, nego kako bi bila tamno žute ili narančaste boje. Općenito, što je boja marelice

svjetlija to znači da ima više  $\text{SO}_2$ . Suhe marelice bogate su karotenidima i kalijem. Koriste se i kao prirodni laksativ zbog velike količine prirodnih vlakana. Kada ju uspoređujemo sa šljivom, u marelici ima puno više šećera. Na 100 g suhog proizvoda ima 53 g šećera [31].

### 2.3. Konvencionalni kiselo-bazni indikatori

Kiselo-bazni indikatori su tvari koje se koriste kako bi se odredio pH ispitivane otopine ili tvari. Kiselo-bazni indikatori najčešće su slabe organske kiseline ili baze koje sadrže izmjenične dvostruke ili jednostruke ugljik-ugljik veze. Oni mijenjaju boju u ovisnosti nalaze li se u kiseloj, bazičnoj ili neutralnoj sredini. Do promjene boje dolazi zbog promjene u strukturi samog indikatora kada prime ili otpuste vodikov ion (Slika 11.) [32].

Ljestvica pH kreće se od 0 do 14, gdje 7 označava neutralnost. Kada je pH manji od 7 to znači da se radi o kiseloj otopini, a ukoliko je veći od 7 to znači da se radi o bazičnoj otopini [33].



Slika 11. Skala pH vrijednosti [34].

Pri radu s indikatorima, vrlo je važno odabrati pravi indikator. Mnoge vrste indikatora pokrivaju cijelu pH skalu. Najpoznatiji kiselo-bazni indikatori su univerzalni indikatorski papir, lakmus papir, metiloranž i fenoftalein. Takvi kiselo-bazni indikatori se nazivaju i konvencionalnim indikatorima. Iako se vrlo lako koriste, imaju svoje nedostatke, npr. zagađuju okoliš te su neki od njih skupi [28, 35].

Univerzalni indikator pokazuje promjenu boje u širokom pH području te tako daje vrlo točne rezultate. Može biti u obliku otopine ili u papirnih traka. Univerzalni indikator je zapravo mješavina nekoliko kiselo-baznih indikatora kao što su fenoftalein, bromotimol plavo i metil crveno. Univerzalni indikator u papirnatom obliku je vrlo osjetljiv te je potrebno paziti da tijekom ispitivanja pH stavimo vrlo malu količinu otopine koju ispitujemo, također treba paziti da papir ne bude onečišćen drugim tvarima jer bi moglo doći

do pogrešnih rezultata. Kada se univerzalni indikator nalazi u jako kiselj sredini (pH = 1-4) tada poprima žarko crvenu boju, u slabije kiselj sredini (pH = 4-6,9) poprima narančastu boju. Kada se nalazi u neutralnoj sredini tada je žuto-zelene boje. U slabo bazičnim otopinama (pH = 7,1-11) poprima svijetlo plavu boju, a u jako bazičnim otopinama boja postaje intenzivno ljubičasta [33, 35].

Lakmus papir je jedan od najčešće korištenih kiselj-baznih indikatora. No, iako je najpoznatiji, nije i najučinkovitiji. Pomoću lakmus papira ne možemo odrediti točan pH, već možemo odrediti je li neka otopina kiselj ili bazična. Nastaje kada se filter papir tretira bojom koja je dobivena od lišajeva, najčešće vrste *Roccella tinctoria* DC. Razlikujemo tri vrste lakmus papira, to su crveni lakmus papir, plavi lakmus papir i neutralni (ljubičasti) lakmus papir [36].

Crveni lakmus papir koristi se za utvrđivanje bazičnog pH i kada baza dođe u doticaj s crvenim lakmus papirom on mijenja boju u plavu. U dodiru s kiselom ili neutralnom otopinom crveni lakmus papir neće promijeniti boju [35, 36].

Plavi lakmus papir koristi se za utvrđivanje kiselog pH i kada kiselina dođe u doticaj s plavim lakmus papirom on mijenja boju u crvenu. U dodiru s bazičnom ili neutralnom otopinom neće promijeniti svoju boju [35, 36].

Neutralni (ljubičasti) lakmus papir može ukazati na kiselj i bazičan pH. Kada dođe u doticaj s kiselinom on mijenja svoju boju iz ljubičaste u crvenu, a u doticaju s bazom mijenja boju iz ljubičaste u plavu. On sadrži čak deset do petnaest različitih boja, uključujući azolitmin, leukazolitmin i spaniolitmin, a zbog svoje praktičnosti sve češće zamjenjuje crveni i plavi lakmus papir [36].

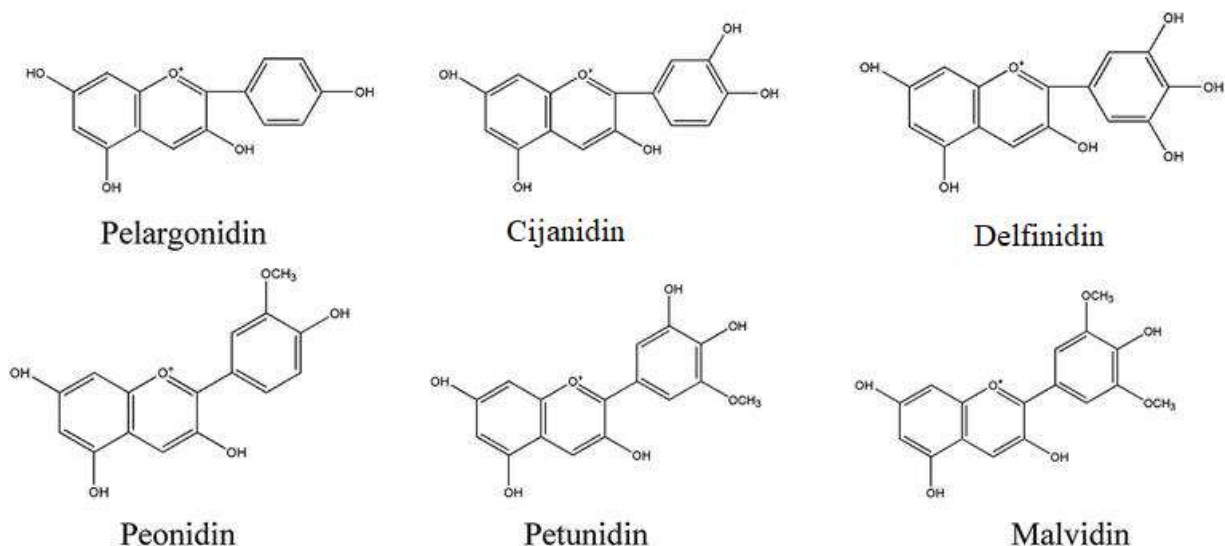
Metiloranž (4-[[4-(dimetilamino)fenil]diazetil]benzen-1-sulfonat) je narančasta azo-boja koja se koristi kao indikator zbog vrlo jasne promjene boje. Za razliku od ostalih indikatora metiloranž ne djeluje u širokom pH području. Područje djelovanja metiloranža je interval od pH = 3,2-4,2, zbog toga se često koristi u kiselj-baznim titracijama. U kiselj sredini mijenja boju u crvenu, a bazičnoj dolazi do promjene boje u žutu [33, 34].

Fenofalein (3,3-bis(4-hidroksifenil)-2-benzofuran-1-on) je slaba kiselina koja se može naći u dvije različite strukture ovisno o tome je li u kiselj ili bazičnoj sredini. Ovisno o strukturi može apsorbirati svjetlost različitih valnih duljina i na taj način mijenja boju otopine u koju je dodan. Područje djelovanja fenofaleina je od pH = 8,2-12. U bazičnom mediju mijenja boju u ljubičastu, a u kiselj sredini ostaje bezbojan. Kao i metiloranž, koristi se u reakcijama neutralizacije, tj. u kiselj-baznim titracijama [34, 35].

## 2.4. Prirodni indikatori

Osim konvencionalnih indikatora sintetiziranih u kemijskim laboratorijima, koriste se i alternativni prirodni indikatori koji su prirodnog porijekla i najčešće potječu od biljnih pigmentata. Od biljnih pigmentata, mogu se istaknuti klorofil *a* i *b* koji daju zelenu boju biljkama, ksantofil koji daje žutu boju, te karotenoid koji je odgovoran za narančastu boju [36].

Pigmenti antocijanini su najveća i najprisutnija skupina fenolnih pigmentata koji daju crvenu, plavu ili ljubičastu boju plodovima. To su spojevi bez mirisa i okusa, a njihova karakteristična boja i stabilnost proizlaze iz fizikalnih i kemijskih svojstava. Antocijanini su glikozilirani polihidroksi ili polimetoksi derivati 2-fenilbenzopirilijuma koji se sastoje od dva benzil prstena (A i B). Oni su vrlo osjetljivi na promjenu pH vrijednosti pa se zbog toga mogu koristiti kao pH indikatori kiselosti ili bazičnosti otopine. U kiseloj otopini su crvene boje, a u bazičnoj su plave boje. Oni ne moraju nužno mijenjati boju kao posljedicu promjene pH, nego to može biti posljedica prisutnosti određenih iona metala u tlu. U biljnom materijalu derivati antocijanina se najčešće pojavljuju u aciliranom obliku, a na vrstu i intenzitet boje utječe broj prisutnih hidroksilnih i metoksilnih skupina. Veća prisutnost hidroksilnih skupina izaziva plavu nijansu ploda, dok prisutnost većeg broja metoksilnih skupina izaziva crvenu boju ploda. Na Slici 12. vidimo strukture nekih antocijanina [36-38].



Slika 12. Strukture antocijanina [39].



Poznati biljni indikatori su crveni kupus, kurkuma, cikla, luk, sok od grožđa, itd. Također, neki cvjetovi mogu biti pokazatelji je li tlo kiselo ili bazično. Primjer je velelisna hortenzija (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.), ukrasna biljka koja pripada skupini kritosjemenjača. Zbog prisutnosti pigmenta antocijanina njezin cvijet mijenja boju u ovisnosti o pH tla. Optimalan pH tla za rast hortenzije je 5,5-6 te je tada cvijet plave boje, kako se pH tla mijenja tako se boja cvijeta mijenja, što možemo vidjeti na Slici 13. [40].



Slika 13. Promjena boje cvijeta hortenzije u ovisnosti o pH tla [41].

Osim što se pH vrijednost pomoću biljnog materijala može odrediti vizualno (promjena boje), neke biljke mijenjaju svoj miris u ovisnosti o pH, npr. bijeli i crveni luk, vanilija, klinčić i sl. [38]. Za razliku od konvencionalnih indikatora, prirodni indikatori su jeftiniji, dostupniji te ne zagađuju okoliš. Stoga je u ovom radu provedeno ispitivanje kojem je cilj bilo utvrditi može li se odabrano suho koštuničavo voće koristiti kao prirodni kiselo-bazni indikator te utvrditi koje je od korištenih otapala (acetona, metanol, etanol) pogodno koristiti u pripremi ovih indikatora.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Korišteni biljni materijal

Za potrebe ovog rada korišten je suhi biljni materijal i to odabrane vrste koštuničavog voća. Korištena je breskva (*Prunus persica* L.), višnja (*Prunus cerasus* L.), trešnja (*Prunus avium* L.), šljiva (*Prunus domestica* L.), nektarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* L.), marelica (*Prunus armeniaca* L.), drenjina (*Cornus mas* L.), ringlov (*Prunus cerasifera* Ehrh.) i japanska trešnja (*Prunus serrulata* Lindl.).

#### 3.2. Korištene kemikalije i pribor

Sve su korištene kemikalije analitičke čistoće:

Klorovodična kiselina, HCl ( $M=36,46$  g/mol, Kemika)

Natrijev hidroksid, NaOH ( $M=39,99$  g/mol, Kemika)

Ultračista voda

Aceton, C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O ( $M=58,08$  g/mol, Kemika)

Etanol, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH ( $M=46,07$  g/mol, Kemika)

Metanol, CH<sub>3</sub>OH ( $M=32,04$  g/mol, Kemika)

Od pribora korištene su: jažice, keramički tarionik s tučkom, odmjerne tikvice, staklene boce s čepom, epruvete, stalak za epruvete, satno staklo, stakleni štapić, kapalice, automatska pipeta.

Uređaji koji su korišteni pri izvedbi eksperimenta su: analitička vaga, pH metar (808 Titrand, Metrohm), vortex mješalica i uređaj za ultračistu vodu (TKA, WASSERAUFBEREITUNGSSYSTEME).

#### 3.3. Preliminarno ispitivanje

Na uzorku suhe višnje ispitan je optimalan omjer mase biljnog uzorka i volumena otapala (aceton, etanol, metanol), kako bi se utvrdilo pri kojem se omjeru dobiju što bolje i

jasnije promjene boje. Ispitani su omjeri:  $m$  (uzorak) :  $V$  (otapalo) = 1 g : 10 mL, 1 g : 15 mL, 1 g : 20 mL.

Uzorak suhe višnje zgnječen je s čistim acetonom, etanolom ili metanolom. Otopine su prvo stajale 24 h na sobnoj temperaturi, a zatim je za svih 9 ovako pripremljenih indikatora ispitano dolazi li do promijene boje otopina u kontaktu s otopinama  $\text{pH} = 1-14$ . Odmah po pripremi, u nekoliko navrata tijekom 24 h i neposredno prije ispitivanja indikatorskog potencijala, uzorci su kratko vorteksirani.

### 3.4. Priprema otopina

Za pripremu otopina točno određenih  $\text{pH}$  vrijednosti koriste se ultračista voda i klorovodičnu kiselinu ( $\text{HCl}$ ) za kisele, odnosno natrijev hidroksid ( $\text{NaOH}$ ) za bazične vrijednosti. Za otopinu  $\text{pH} = 7$  koristila se ultračista voda. Sve  $\text{pH}$  vrijednosti otopina određene su pomoću  $\text{pH}$ -metra.

Za kisele otopine,  $\text{pH} = 1$  i  $\text{pH} = 2$ , izračunati su potrebni volumeni koncentrirane  $\text{HCl}$  prema pravilima i formulama priređivanja otopina. Otopina se priredi tako da se prvo izračunati volumen kiseline pipetom prenese u odmjernu tikvicu, a zatim se ona nadopuni ultračistom vodom do oznake. Preostale kisele otopine ( $\text{pH} = 3-6$ ) priređene su razrjeđivanjem prema relaciji  $c_1V_1=c_2V_2$ . Nakon pripreme,  $\text{pH}$  otopina određen je pomoću  $\text{pH}$  metra te je po potrebi  $\text{pH}$  korigiran.

Za pripremu bazičnih otopina korišten je kruti  $\text{NaOH}$  i ultračista voda. Za pripremu otopine  $\text{pH} = 14$  prvo je potrebna masa  $\text{NaOH}$  izvagana na analitičkoj vagi, ona se zatim prenese u odmjernu tikvicu i nadopuni vodom do oznake na grlu tikvice. Na isti način su pripremljene otopine  $\text{pH} = 11-13$ . Preostale otopine ( $\text{pH} = 8-10$ ) pripremljene su razrjeđivanjem prema relaciji  $c_1V_1=c_2V_2$ . Nakon pripreme,  $\text{pH}$  otopina određen je pomoću  $\text{pH}$  metra te je po potrebi  $\text{pH}$  korigiran.

### 3.5. Plan rada i postupak

Korišteni biljni materijal nabavljen je svjež, zreo, neoštećene kožice te je zatim sušen. Voće je sušeno tijekom 48 h na temperaturi 60 °C, odnosno sve dok vaganjem nije utvrđeno da se masa voća ne smanjuje. Plan rada prikazan je u Tablici 10., a odnosi se na rad nakon preliminarnog ispitivanja.

Tablica 10. Plan rada.

Plan rada						
višnja	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
trešnja	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
šljiva	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
breskva	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
nektarina	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
marelica	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
drenjina	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
ringlov	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol
japanska trešnja	50 % aceton	75 % aceton	50 % etanol	75 % etanol	25 % metanol	50 % metanol

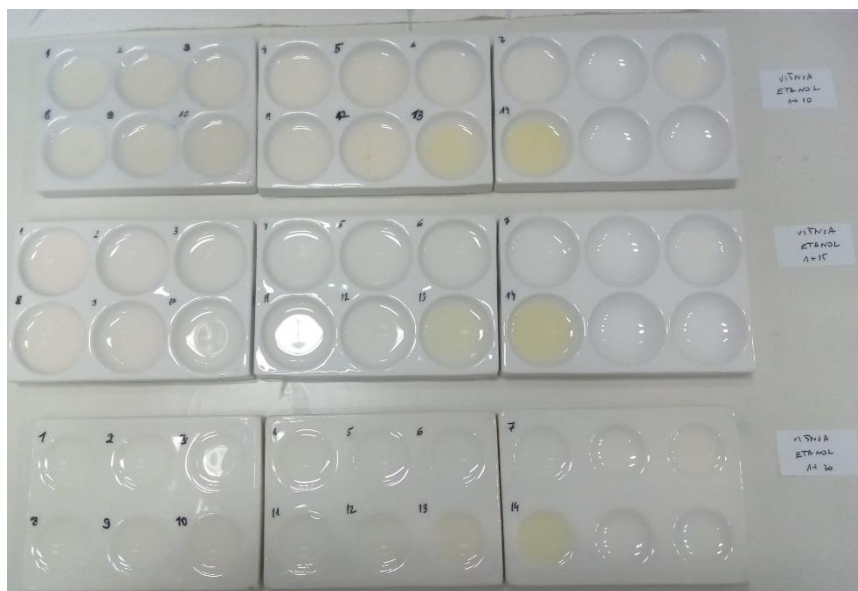
Ispitivani biljni materijal nije sadržavao košticu te je ispitivano voćno „meso“ zajedno s kožicom, tj. voće nije bilo oguljeno. Biljni materijal je nakon sušenja pomiješan s otapalima navedenima u Tablici 10. te je stajao 24 h na sobnoj temperaturi. Za vrijeme stajanja, odnosno tijekom 24 h, i neposredno prije daljnjeg dijela ispitivanja, epruvete su kratko vorteksirane. Nakon 24 h provodi se ispitivanje mogućnosti primjene odabranog voća i otapala kao prirodnih kiselobaznih indikatora.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Preliminarno ispitivanje – višnja

Rezultati preliminarnog istraživanja prikazani na Slikama 14. i 15. odnose se na ispitivanje mogućnosti primjene suhe višnje kao kiselo-baznog indikatora. U pripremi indikatora korištena su čista otapala, a ispitani omjeri su bili 1 : 10, 1 : 15, 1 : 20.

Indikator pripremljen od suhe višnje i čistog acetona u omjeru 1 : 10 nije znatno promijenio boju. U slučaju indikatora pripremljenog u omjeru 1 : 15 došlo je do najintenzivnije promjene boje, a u slučaju omjera 1:20 promjene boje u jažicama gotovo da nema.

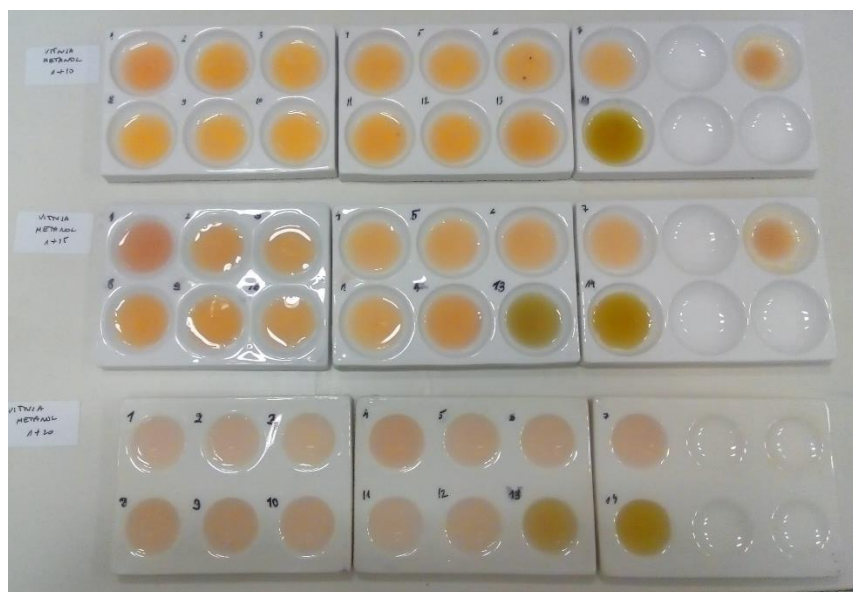


Slika 14. Indikator pripremljen od suhe višnje i etanola.

Indikator pripremljen od suhe višnje i čistog etanola (Slika 14., gore) u omjeru 1 : 10 mijenja boju u intenzivno žutu pri pH = 13 i pH = 14. Pri ostalim pH, boja otopine je blijedo žuta, gotovo bezbojna.

U slučaju indikatora od suhe višnje i čistog etanola pri omjeru 1 : 15 (Slika 15., sredina) dobiju se gotovo identični rezultati. Razlika je što pri pH = 7 izbija crvenkasta boja.

Za indikator od suhe višnje i čistog etanola u omjeru 1 : 20 dobiveni su jednaki rezultati kao pri omjeru 1 : 10 ali slabijeg intenziteta. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 14., donji dio slike.



Slika 15. Indikator pripremljen od suhe višnje i metanola.

Boja indikatora od suhe višnje i čistog metanola u omjeru 1 : 10 promijenila se u zelenu jedino u izrazito bazičnom mediju, pri  $\text{pH} = 14$  (Slika 16., gore).

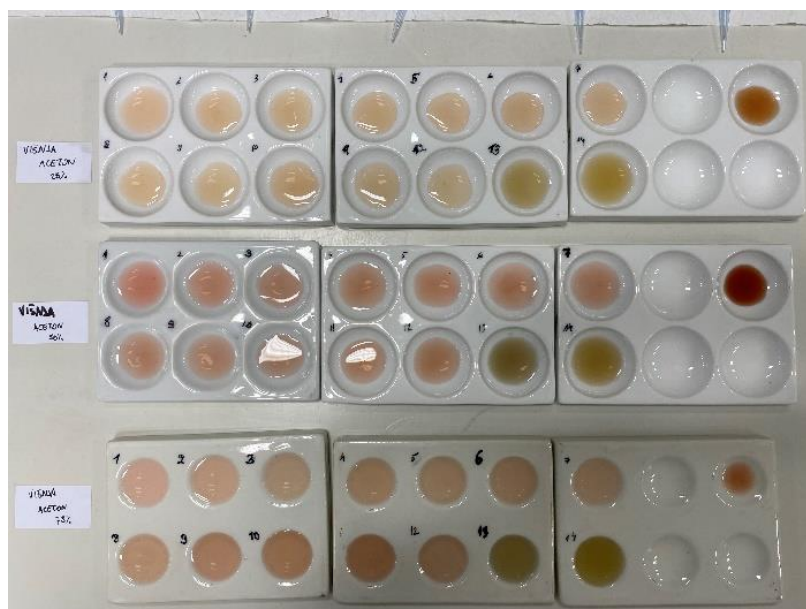
Indikator pripremljen od suhe višnje i čistog metanola u omjeru 1 : 15 (Slika 16., sredina) pri  $\text{pH} = 1$  poprima crvenkastu boju, a pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja se mijenja u zelenu. Stajanjem boje postaju intenzivnije.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe višnje i čistog metanola u omjeru 1 : 20 boja se promijenila u zelenu jedino pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$ . Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 15, dolje.

Dobiveni rezultati su pokazali da su najbolji omjeri 1 g : 10 ml i 1 g : 15 ml, a budući da su rezultati u slučaju omjera 1 g : 15 mL za nijansu intenzivniji taj je omjer korišten u daljnjem ispitivanju.

## 4.2. Višnja

Rezultati istraživanja prikazani na Slikama 16.-18. odnose se na ispitivanje mogućnosti primjene suhe višnje kao kiselo-baznog indikatora.



Slika 16. Indikator pripremljen od suhe višnje i acetona.

Indikator pripremljen od suhe višnje i 25 %-tnog acetona (Slika 16., gore) u otopinama pH = 1-12 poprima blijedo narančastu boju, dok se pri pH = 13 i pH = 14 boja mijenja u zelenu.

Indikator od suhe višnje i 50 %-tnog acetona (Slika 16., sredina) pri pH = 1-12 daje crvenkastu boju, dok pri pH = 13 i pH = 14 daje zeleno-smeđu boju. Uočene boje su malo tamnije i intenzivnije nego u prethodnom slučaju.

Indikator od suhe višnje i 75 %-tnog acetona pri pH = 1-12 mijenja boju kao i u prethodnom slučaju, samo su boje puno intenzivnije. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 16., donji dio slike.



Slika 17. Indikator pripremljen od suhe višnje i etanola.

Indikator pripremljen od suhe višnje i 25 %-tnog etanola (Slika 17., gore) pri pH = 1-12 poprima narančastu boju no vrlo slabog intenziteta, dok se pri pH = 13 i pH = 14 boja mijenja u zelenkastu, koja stajanjem prelazi u žutu.

U slučaju indikatora od suhe višnje i 50 %-tnog etanola (Slika 17., sredina) dobiju se gotovo identični rezultati samo se promjena vidi intenzivnije. Za otopinu suhe višnje i 75 %-tnog etanola dobiveni su drugačiji rezultati, za pH = 1-12 boja je blijedo narančasta, dok je na pH = 13 i pH = 14 blijedo žućkaste boje. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 17., donji dio slike.





Slika 18. Indikator pripremljen od suhe višnje i metanola.

Boja indikatora od suhe višnje i 25 %-tnog metanola pri pH = 1-12 mijenja se u svijetlo smeđu, dok pri pH = 13 i pH = 14 postaje zelenkasta. Sve boje su vrlo slabog intenziteta (Slika 18., gore).

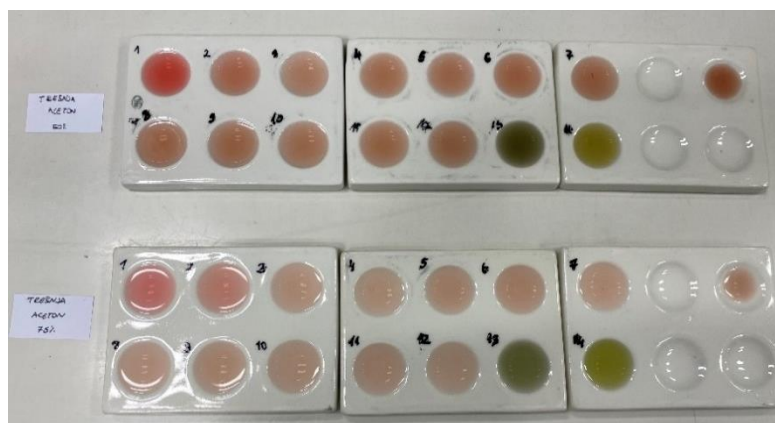
Indikator od suhe višnje i 50 %-tnog metanola (Slika 18., sredina) pri pH = 1-12 mijenja boju u tamno smeđu, dok pri pH = 13 i pH = 14 uz smeđu lagano probija zelena boja.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe višnje i 75 %-tnog metanola dobiveni su gotovo jednaki rezultati kao i u prethodnom slučaju. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 18., dolje.

Prema podacima u Tablici 2. proizlazi da su za uočene promjene boje indikatora od višnje najodgovorniji antocijanini (cijanidin i peonidin), za koje je utvrđeno da su količinski najzastupljeniji antocijanini u svežem plodu višnje [10].

### 4.3. Trešnja

Rezultati istraživanja prikazani na Slikama 19.-21. odnose se na ispitivanje suhe trešnje kao mogućeg kiselo-baznog indikatora.



Slika 19. Indikator pripremljen od suhe trešnje i acetona.

Indikator pripremljen od suhe trešnje i 50 %-tnog acetona pri pH = 1 poprima žarko crvenu boju, a pri pH = 1-12 boja je blijedo crvena. Pri pH = 13 boja je tamno zelena, dok pri pH = 14 s vremenom iz zelene prelazi u žutu (Slika 19. gore).

U slučaju indikatora od suhe trešnje i 75 %-tnog acetona boje su puno manjeg intenziteta. Otopine pri pH = 1-12 su blijedo roza boje, no pri pH = 1 probija crvenkasta boja. Pri pH = 13 i pH = 14 otopina poprima zelenkasto-žutu boju (slika 19. dolje).

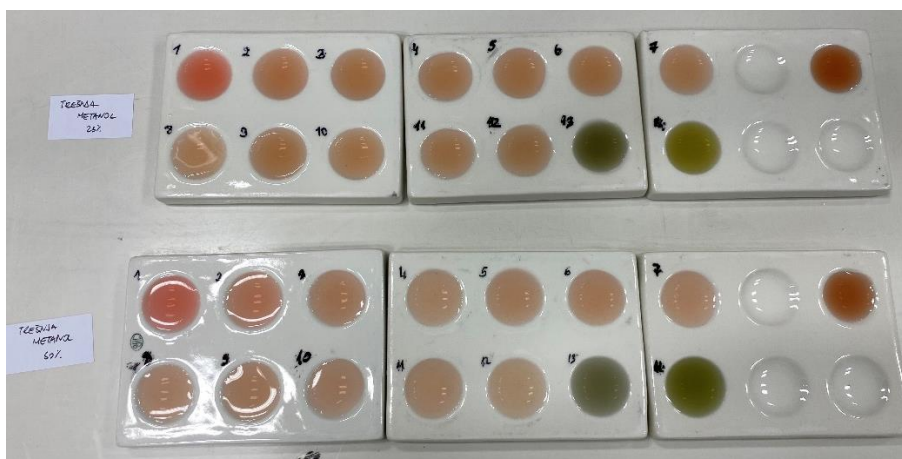


Slika 20. Indikator pripremljen od suhe trešnje i etanola.

Kod indikatora pripremljenog od suhe trešnje i 50 %-tnog etanola, pri pH = 1-12 dolazi do promjene boje u narančastu (boja breskve), no pri pH = 1 boja je za nijansu

intenzivnija. Pri pH = 13 i pH =14 indikator mijenja boju u zelenu, a nakon nekog vremena prelazi u žućkastu boju. Promjene su prikazane na Slici 20. (gore).

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe trešnje i 75 %-tnog etanola, pri pH = 1-12 dolazi do promjene boje u roza, no kao i u prošlom slučaju, pri pH = 1 boja je intenzivnija. Pri pH = 13 boja je zelenkasta, a pri pH = 14 boja prelazi u žuto-zelenu (Slika 20., dolje).



Slika 21. Indikator pripremljen od suhe trešnje i metanola.

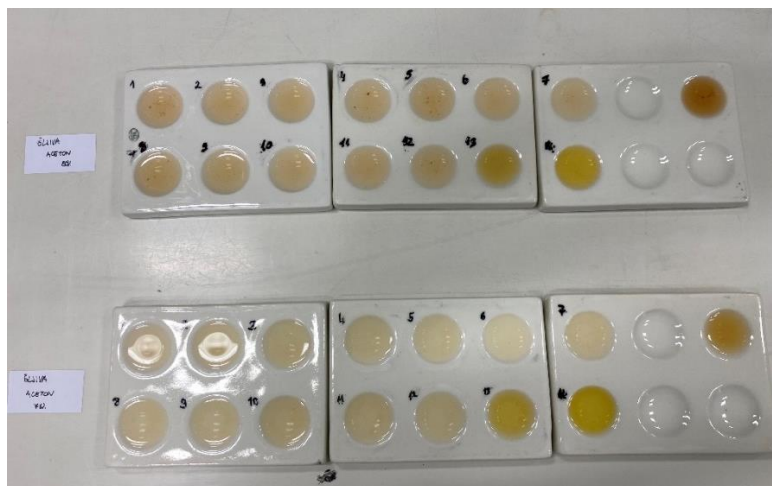
Boja indikatora pripremljenog od suhe trešnje i 25 %-tnog metanola pri pH = 1 je crvenkasta, a pri pH 2-12 došlo je do promjene u svijetlo narančastu boju (boja breskve). Pri pH = 13 boja je tamno zelena, a pri pH = 14 došlo je do promjene u zeleno-žutu boju (Slika 21., gore).

Kod indikatora pripremljenog od suhe trešnje i 50 %-tnog indikatora, pri pH = 1-2 boja je crvenkasta, dok pri pH = 3-12 boja je blijedo roza. Pri pH = 13 došlo je do promjene u sivo-zelenu boju, a pri pH = 14 boja je tamno zelena (Slika 21., dolje).

Slične, gotovo jednake, rezultate dobila je Caha (2021), koja je u radu koristila svježe voće i vodu [42]. Pregledom Tablice 4., ističu se spojevi cijanidina, pelargonidina i peonidina, odnosno ističu se antocijanini kao najviše doprinoseći uočenim promjenama boja ovako pripremljenog indikatora. Moguće je da sušenje nije značajno utjecalo na sastav a time i na indikatorski potencijal ovog ploda.

#### 4.4. Šljiva

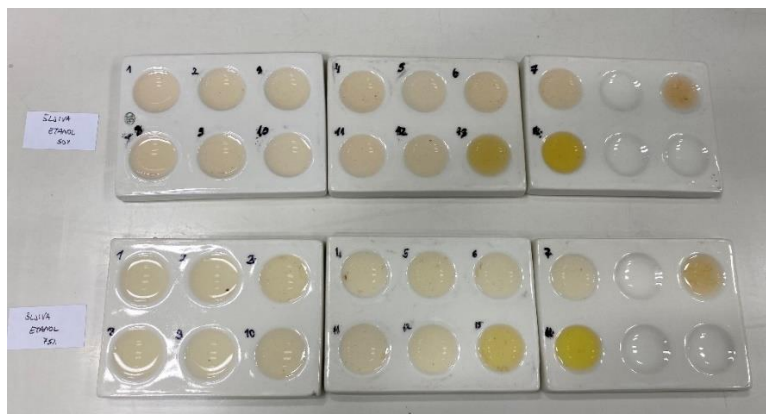
Rezultati istraživanja prikazani na Slikama 22.-24. odnose se na ispitivanje suhe šljive kao kiselobaznog indikatora.



Slika 22. Indikator pripremljen od suhe šljive i acetona.

Boja indikatora pripremljena od suhe šljive i 50 %-tnog acetona, pri pH = 1-12 promijenila se u blijedo narančastu boju. Pri pH = 13 i pH = 14 boja je intenzivnija i promijenila se u žutu boju. Promjene su prikazane na Slici 22., gore.

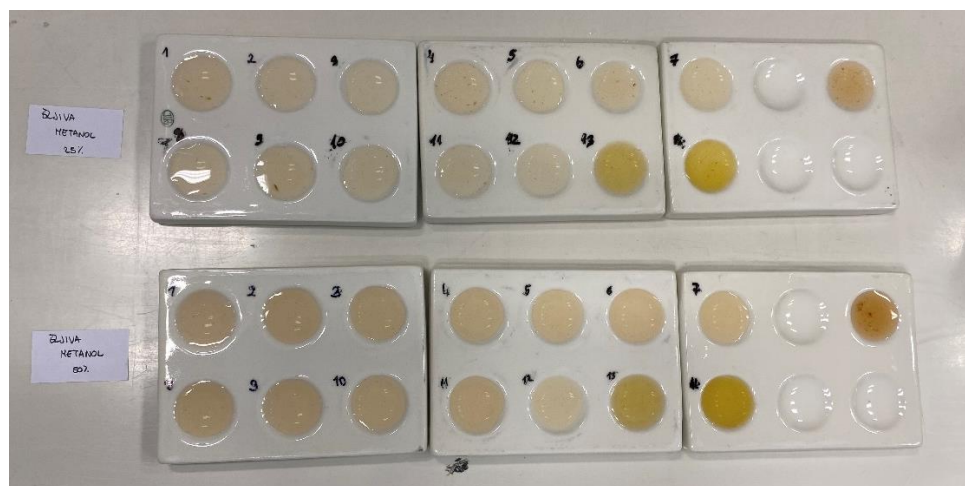
U slučaju indikatora pripremljenog od suhe šljive i 75 %-tnog acetona rezultati su vrlo slabog intenziteta. Pri pH = 1-12 otopina je blijedo žute boje, gotovo prozirna. Pri pH = 13 i pH = 14 boja je žute boje i tamnija je (Slika 22., dolje).



Slika 23. Indikator pripremljen od suhe šljive i etanola.

Indikator pripremljen od suhe šljive i 50 %-tnog etanola pri pH = 1-12 mijenja boju u blijedo narančastu, boja je slabog intenziteta. Pri pH = 13 i pH = 14 došlo je do promjene u žutu boju te je boja puno tamnija, s obzirom na ostale. Promjene su prikazane na Slici 23., gore.

Indikator pripremljen od suhe šljive i 75 %-tnog etanola pri pH = 1-12 mijenja boju u iznimno svijetlo žutu. Pri pH = 13 i pH = 14 boja otopine je tamnije žuta (Slika 23., dolje).



Slika 24. Indikator pripremljen od suhe šljive i metanola.

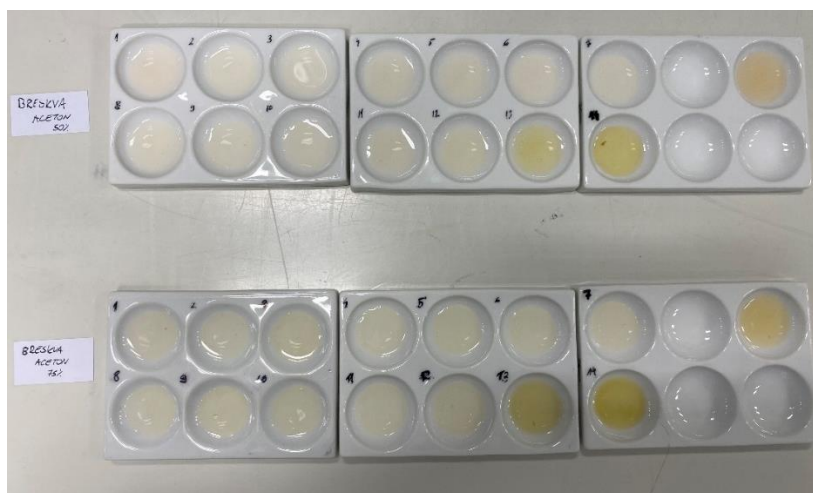
Otopina suhe šljive i 25 %-tnog metanola pri pH = 1-12 pokazuje iste promjene kao i kod acetona i etanola. Boja je blijedo žuta, vrlo slabog intenziteta. Pri pH = 13 i pH = 14 boja se promijenila u tamnije žutu. Bitno je spomenuti da je boja pri pH = 14 za nijansu tamnija nego pri pH = 13. Promjene su prikazane na Slici 24., gore.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe šljive i 50 %-tnog metanola pri pH = 1-11 boja je blijedo žuta, a pri pH = 12 boja je još svjetlija u odnosu na prethodne. Pri pH = 13 i pH = 14 dolazi do promjene boje u tamno žutu (Slika 24., dolje).

U usporedbi s ostalim ispitanim voćem, indikator pripremljen sa suhom šljivom daje promjene slabijeg intenziteta te su boje puno svjetlije, ponajviše u slučaju indikatora pripremljenog s etanolom. U Tablici 5. vidimo da u suhoj šljivi nisu detektirani antocijanini iako u svježoj šljivi jesu [10]. Moguće da su dobiveni rezultati posljedica promjene (poli)fenolnog sastava šljive nakon provedenog sušenja.

## 4.5. Breskva

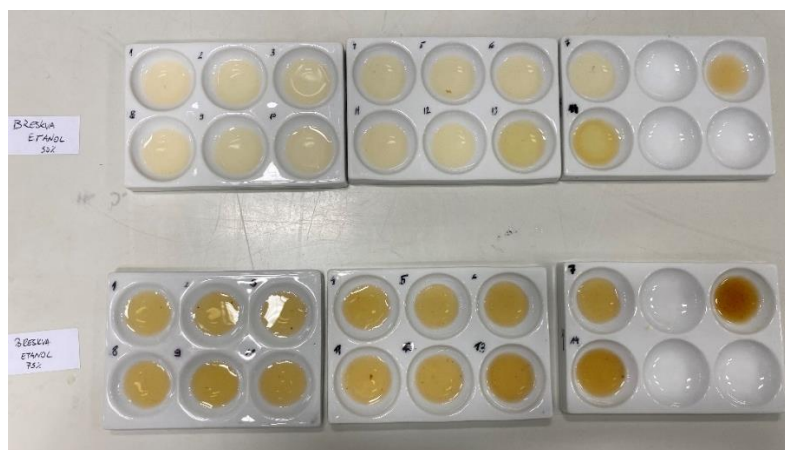
Rezultati istraživanja prikazani na Slikama 25.-27. prikazuju ispitivanje suhe breskve kao potencijalnog kiselo-baznog indikatora.



Slika 25. Indikator pripremljen od suhe breskve i acetona.

Otopina suhe breskve i 50 %-tnog acetona daje rezultate slabog intenziteta. Pri  $\text{pH} = 1$  probija roza boja, pri  $\text{pH} = 2-12$  boja je gotovo prozirna, a tek se malo nazire žuta boja. Pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  došlo je do promjene boje u žutu (Slika 25., gore).

U slučaju suhe breskve i 75 %-tnog acetona dobiveni su gotovo isti rezultati, pri  $\text{pH} = 1-12$  boje su svijetlo žute, gotovo prozirne, a pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja je žuta (Slika 25., dolje).

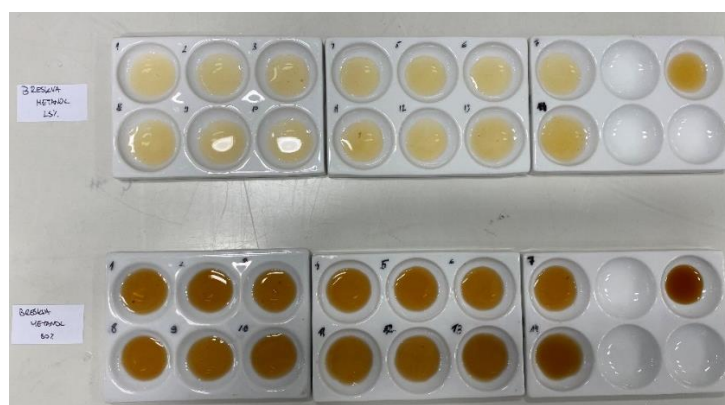


Slika 26. Indikator pripremljen od suhe breskve i etanola.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe breskve i etanola, dobiveni su puno bolji rezultati nego u prethodnom slučaju. Boje su puno tamnije i izraženije.

Indikator od suhe breskve i 50 %-tnog etanola pri pH = 1-12 mijenja boju u svjetlo narančastu, a pri pH = 13 i pH = 14 boja je narančasta. Promjene su prikazane na Slici 26., gore.

Indikator pripremljen od suhe breskve i 75 %-tnog etanola pri pH = 1-12 mijenja boju u narančastu, dok je boja pri pH = 13 i pH = 14 za nijansu tamnija (Slika 26., dolje).



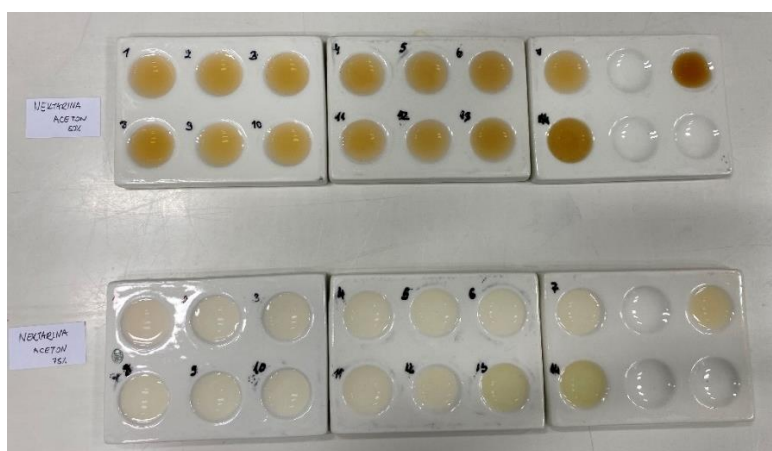
Slika 27. Indikator pripremljen od suhe breskve i metanola.

U slučaju indikatora od suhe breskve i 25 %-tnog metanola boje su blage, ali ipak tamnije nego u slučaju suhe breskve i etanola. Pri pH = 1-13 otopina mijenja boju u svjetlo žutu. Dok je pri pH = 14 boja i dalje žuta, ali je za nijansu tamnija. Rezultati su prikazani na Slici 27., gore.

Za indikator pripremljen od suhe breskve s 50 %-tnim metanolom dobiveni su potpuno drugačiji rezultati. Pri pH = 1-13 boja je tamno smeđa, a pri pH = 14 boja je smeđa, ali za nijansu tamnija (Slika 27., dolje). Svježa breskva sadrži vrlo nisku koncentraciju antocijanina (Tablica 6.), što je moglo dovesti do ovdje uočenih boja.

#### 4.6. Nektarina

Rezultati ispitivanja prikazani na Slikama 28.-30. odnose se na ispitivanje suhe nektarine kao kiselo-baznog indikatora.

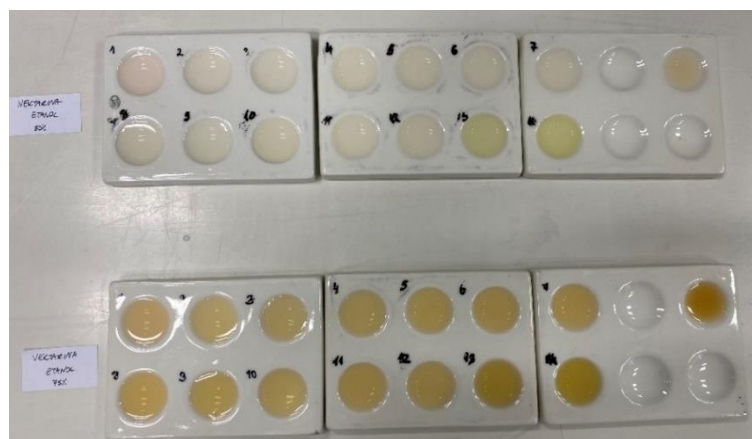


Slika 28. Indikator pripremljen od suhe nektarine i acetona.

Otopina indikatora pripremljenog od suhe nektarine i 50 %-tnog acetona pri pH = 1-13 poprima narančastu boju, a pri pH = 14 boja je narančasta, ali za nijansu tamnija od ostalih. Promjene su prikazane na Slici 28., gore.

U slučaju suhe nektarine i 75 %-tnog acetona nema velikih promjena. Pri pH = 1-12 otopina je gotovo bezbojna s blagim probijanjem žute boje. No, pri pH = 13 i pH = 14 vidimo blagu promjenu, boja otopine je svjetlo žuta (Slika 28., dolje).

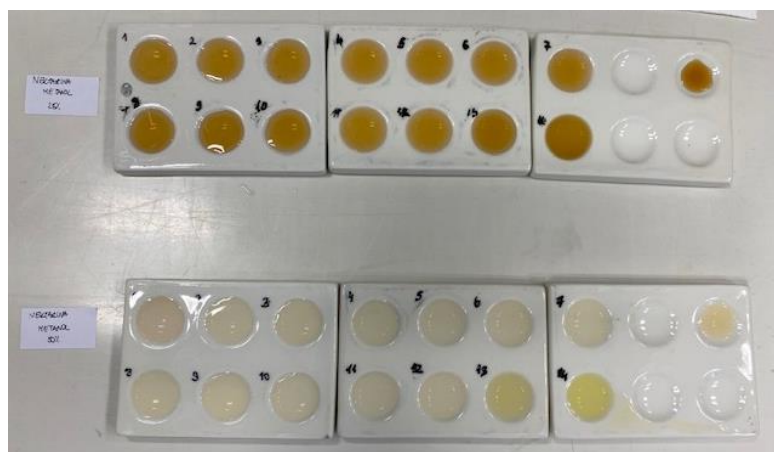




Slika 29. Indikator pripremljen od suhe nektarine i etanola.

Indikator pripremljen od suhe nektarine i 50 %-tnog etanola ne pokazuje velike promjene boje kao i u prethodnom slučaju. Pri pH = 1 lagano probija crvenkasta boja, a pri pH = 1-12 otopina je gotovo bezbojna. Pri pH = 13 i pH = 14 promjene boje su izraženije te je otopina blijedo žute boje. Promjene su prikazane na Slici 29., gore.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe nektarine i 75 %-tnog etanola boje su puno intenzivnije. Pri pH = 1-12 boja otopine promijenila se u svjetlo narančastu, dok je pri pH = 13 i pH = 14 boja za nijansu tamnija (Slika 29., dolje).



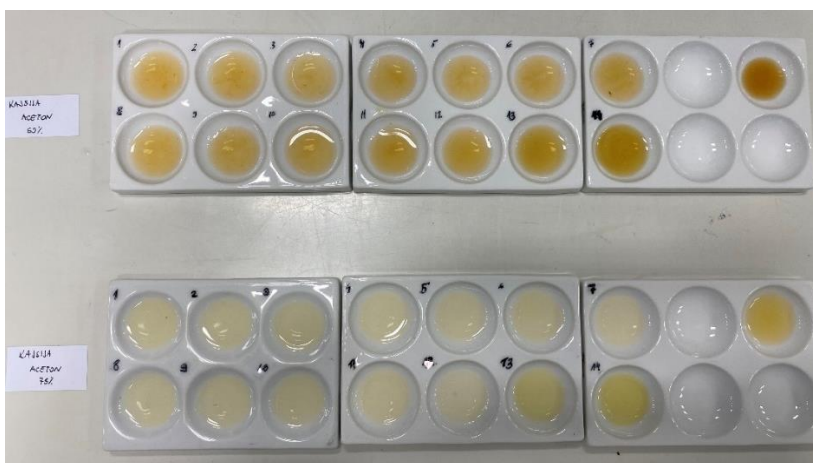
Slika 30. Indikator pripremljen od suhe nektarine i metanola.

Indikator od suhe nektarine i 25 %-tnog metanola nije pokazao velike promjene. Pri pH= 1-13 otopina je smeđe boje, a pri pH = 14 otopina je za nijansu tamnije boje. Promjene su prikazane na Slici 30., gore.

Indikator pripremljen od suhe nektarine i 50 %-tnog etanola u bazičnom mediju pokazuje bolje promjene. Pri pH = 1 nazire se crkvenkasta boja, dok je pri pH = 2-12 boja blijedo žuta. Pri pH = 13 i pH = 14 boja je tamnija i žuta (Slika 30., dolje). Kao i breskva, nektarina sadrži vrlo nisku koncentraciju antocijanina (Tablica 8.), što može biti uzrok ovakvih rezultata.

#### 4.7. Marelica

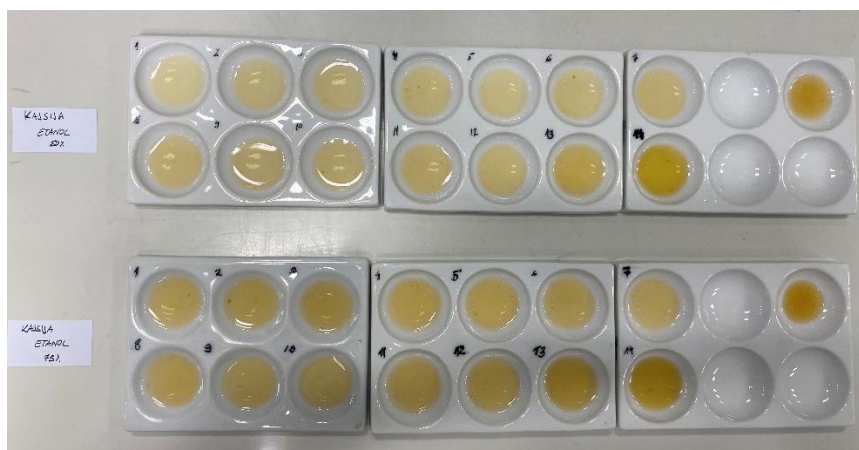
Rezultati ispitivanja prikazani na Slikama 31.-33. odnose se na ispitivanje suhe marelice kao potencijalnog kiselo-baznog indikatora.



Slika 31. Indikator pripremljen od suhe marelice i acetona.

Indikator od suhe marelice i 50 %-tnog acetona nije značajno promjenio boju ni u jednom području pH. Pri pH = 1-13 otopina je narančaste boje, a pri pH = 14 boja je za nijansu tamnija, što se može vidjeti na Slici 31., gore.

U slučaju suhe marelice i 75 %-tnog acetona rezultati su nešto bolji u jako bazičnom mediju. Pri pH = 1-12 boja je svijetlo žuta, dok je pri pH = 13 i pH = 14 boja žuta i tamnija od ostalih (Slika 31., dolje).

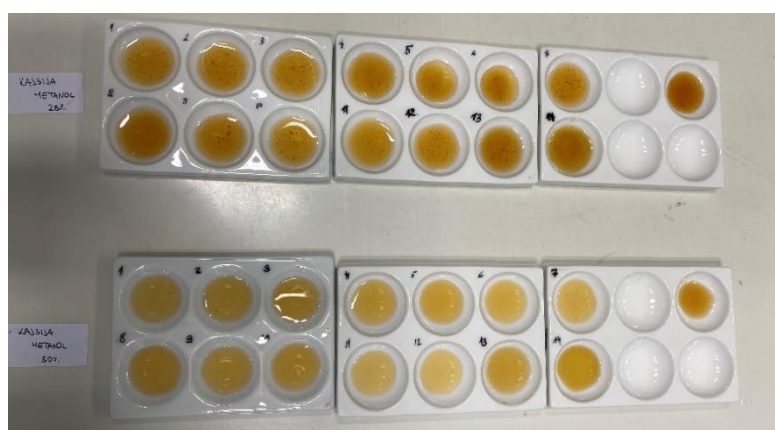


Slika 32. Indikator pripremljen od suhe marelice i etanola.

Kao i u prethodnom slučaju, ni indikator pripremljen od suhe marelice i 50 i 75 %-tnog etanola ne pokazuje velike promjene.

Kod indikatora pripremljenog od suhe marelice i 50 %-tnog etanola vidljive su male promjene u jako bazičnom području. Pri  $\text{pH} = 1$  boja je blijedo žuta i za nijansu je svjetlija od boja pri  $\text{pH} = 1-12$ . Pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja je tamnije žuta. Promjene su prikazane na Slici 32., gore.

Indikator od suhe marelice i 75 %-tnog etanola ne pokazuje promjene ni u jednom području pH vrijednosti. Boja otopine je žuta pri svim pH vrijednostima (Slika 32., dolje).



Slika 33. Indikator pripremljen od suhe marelice i metanola.

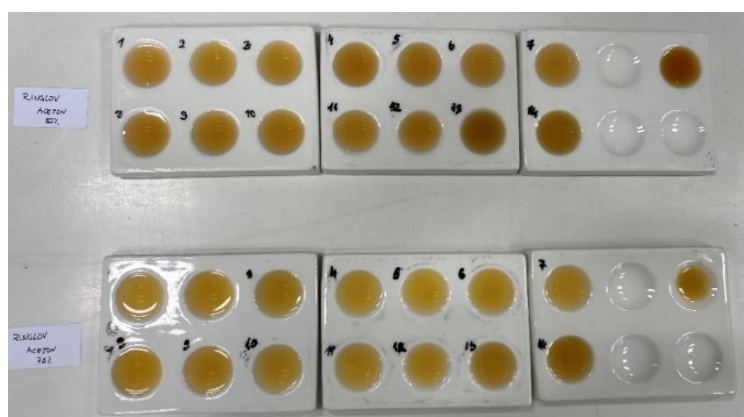
Indikator od suhe marelice i metanola također nije pokazao značajne promjene boje. U slučaju suhe marelice i 25 %-tnog metanola, boja otopine je smeđa pri svim pH

vrijednostima, pri pH = 14 boja je za nijansu tamnija (Slika 33., gore). Indikator pripremljen od suhe marelice i 50 %-tnog etanola pokazuje male promjene u jako bazičnom mediju. Pri pH = 1-12 otopina je narančaste boje, dok je pri pH = 13 i pH = 14 boja tamnije narančasta (Slika 33., dolje).

Uzrok malih, odnosno slabih, promjena boje u slučaju ovih indikatora je niska koncentracija flavonoida u uzorku suhe marelice, što je prikazano u Tablici 9. Caha (2021) je za svježiju marelicu dobila jednaki rezultat [42].

#### 4.8. Ringlov

Rezultati ispitivanja prikazani na Slikama 34.-36. odnose se na ispitivanje suhog ringlova kao potencijalnog kiselo-baznog indikatora.

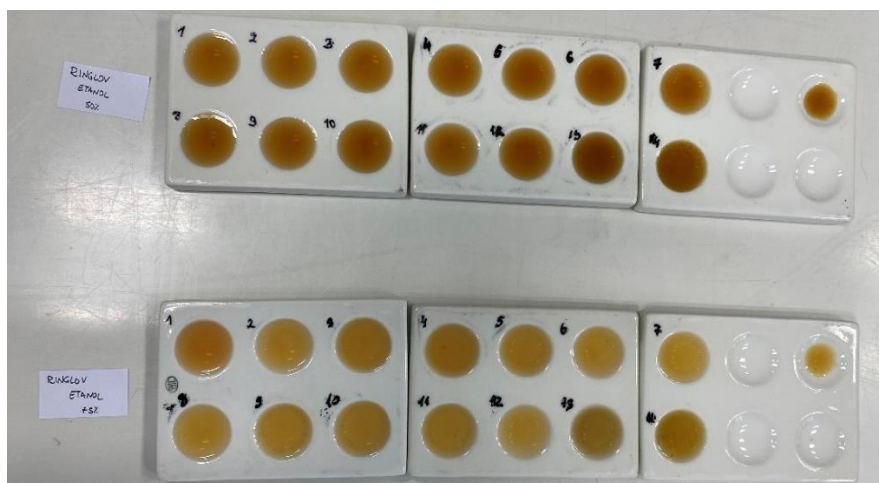


Slika 34. Indikator pripremljen od suhog ringlova i acetona.

Indikator pripremljen od suhog ringlova i acetona ne pokazuje velike promjene boje u ovisnosti o pH medija. Jedine vidljive promjene (koje su iznimno male) su u jako bazičnom mediju.

Indikator od suhog ringlova i 50 %-tnog acetona pri pH = 1-14 ima narančasto-smeđu boju. Boje su prikazane na Slici 34., gore.

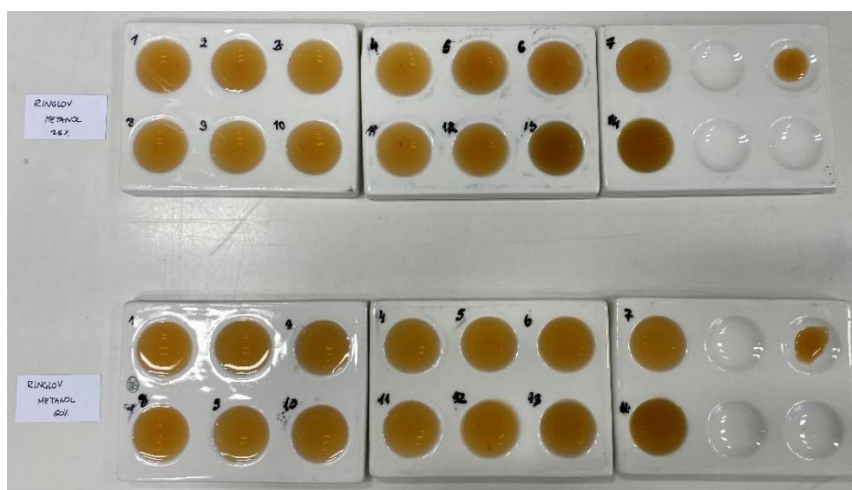
Kod indikatora suhog ringlova i acetona, jedina vidljiva promjena je pri pH = 14 kada je otopina tamnije narančasta. U području pH = 1-13 otopina je narančasto-žute boje (Slika 34., dolje).



Slika 35. Indikator pripremljen od suhog ringlova i etanola.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhog ringlova i 50 %-tnog etanola, nema nikakvih promjena boje. U cijelom pH području boja otopine je tamnosmeđa. Prikazano na Slici 35., gore.

Kod indikatora od suhog ringlova i 75 %-tnog etanola boja pri  $\text{pH} = 1-12$  je narančasta i ne mijenja se. Pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja je narančasta uz probijanje zelene boje (Slika 35., dolje).



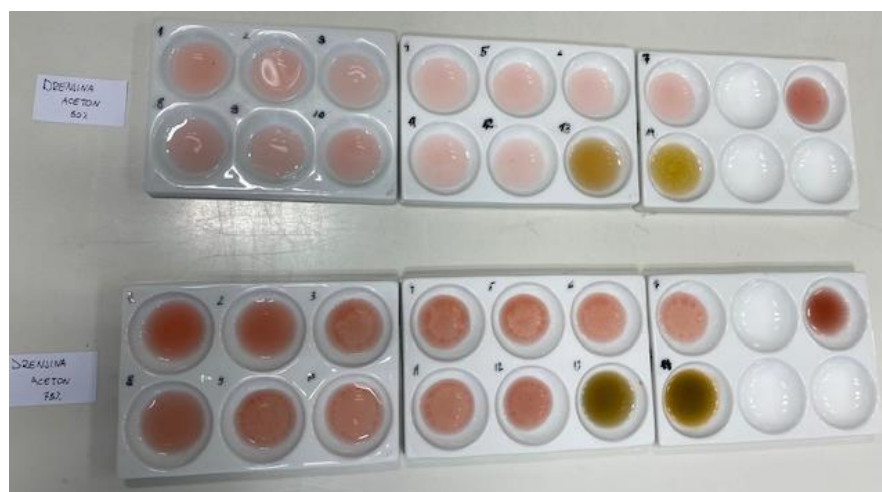
Slika 36. Indikator pripremljen od suhog ringlova i metanola.

Otopina suhog ringlova i metanola nije pokazala nikakve promjene u cijelom pH području. Indikator pripremljen od suhog ringlova i 25 %-tnog metanola je tamno smeđe

boje. Dok je otopina suhog ringlova i 50 %-tnog metanola svijetlo smeđe boje. Boje su prikazane na Slici 36.

#### 4.9. Drenjina

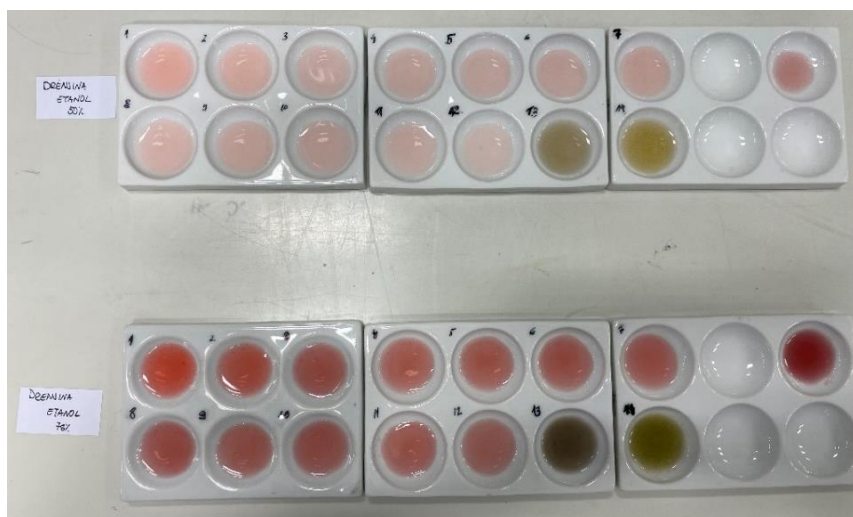
Rezultati ispitivanja prikazani na Slikama 37.-39. odnose se na ispitivanje suhe drenjine kao mogućeg kiselo-baznog indikatora.



Slika 37. Indikator pripremljen od suhe drenjine i acetona.

Indikator pripremljen od suhe drenjine i 50 %-tnog acetona pri  $\text{pH} = 1$  poprima crvenkasto-roza boju. Pri  $\text{pH} = 2-12$  boja otopine je svijetlo roza, a pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja se promijenila u žutu. Promjene su prikazane na Slici 37., gore.

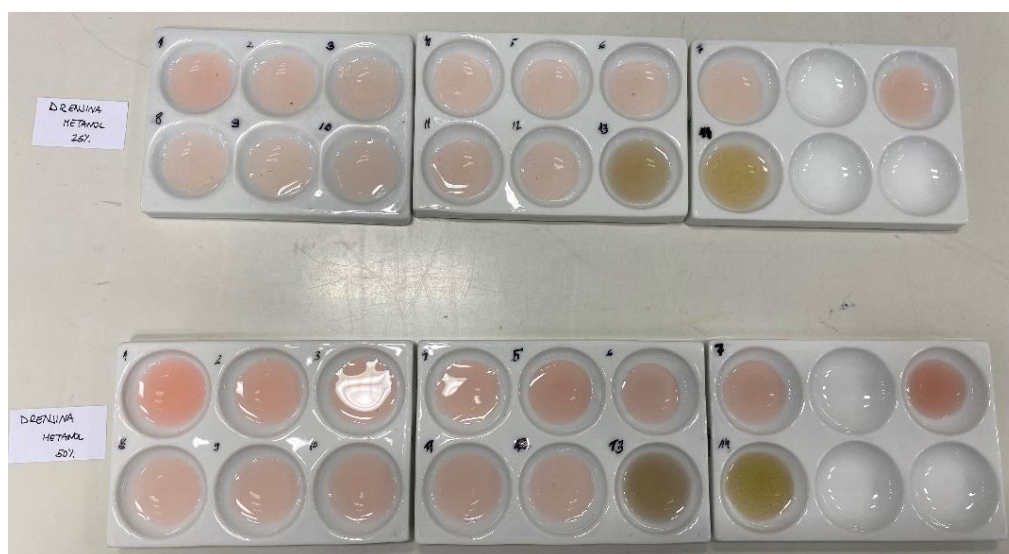
U slučaju suhe drenjine i 75 %-tnog acetona boja otopine pri  $\text{pH} = 1$  je crvena. Pri  $\text{pH} = 2-12$  boja se promijenila u roza, a pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$  boja je postala zelena (Slika 37., dolje).



Slika 38. Indikator pripremljen od suhe drenjine i etanola.

Indikator pripremljen od suhe drenjine i 50 %-tnog etanola najbolje reagira u izrazito bazičnom mediju. Pri pH = 1-12 boja otopine je blijedo roza, no pri pH = 1 lagano probija crvena boja. U otopinama pH = 13 i pH = 14 boja se mijenja u zeleno-žutu. Promjene su prikazane na Slici 38., gore.

U slučaju indikatora pripremljenog od suhe drenjine i 75 %-tnog etanola boje su puno intenzivnije. U otopini pH = 1 indikator mijenja boju u žarko crvenu, a pri pH = 2-12 boja je crvenkasta. Pri pH = 13 boja je tamno zelena, a pri pH = 14 boja otopine je zeleno-žuta (Slika 38., dolje).



Slika 39. Indikator pripremljen od suhe drenjine i metanola.

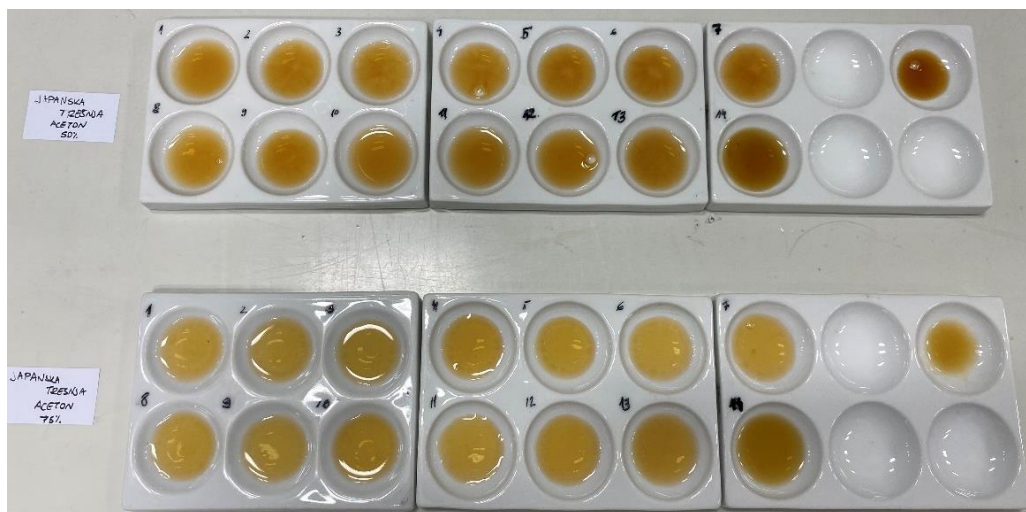
Indikator pripremljen od suhe drenjine i metanola daje izrazito svijetle boje u cijelom pH području.

Indikator od suhe drenjine i 25 %-tnog metanola pri pH = 1-12 poprima blijedo roza boju, no pri pH = 1 nakon kraćeg vremena (nekoliko minuta) probija crvena boja. U izrazito bazičnom mediju dolazi do najveće promjene, pri pH = 13 i pH = 14 otopina poprima zeleno-žutu boju (Slika 39., gore).

Indikator pripremljen od suhe drenjine i 50 %-tnog metanola pri pH = 1 poprima crvenkastu boju, dok pri pH = 2-12 poprima svijetlo roza boju. U izrazito bazičnom mediju pri pH = 13 i pH = 14 boja se promijenila u žuto-zelenu (Slika 39., dolje).

#### 4.10. Japanska trešnja

Rezultati prikazani na Slikama 40.-42. odnose se na ispitivanje japanske trešnje kao mogućeg kiselo-baznog indikatora.

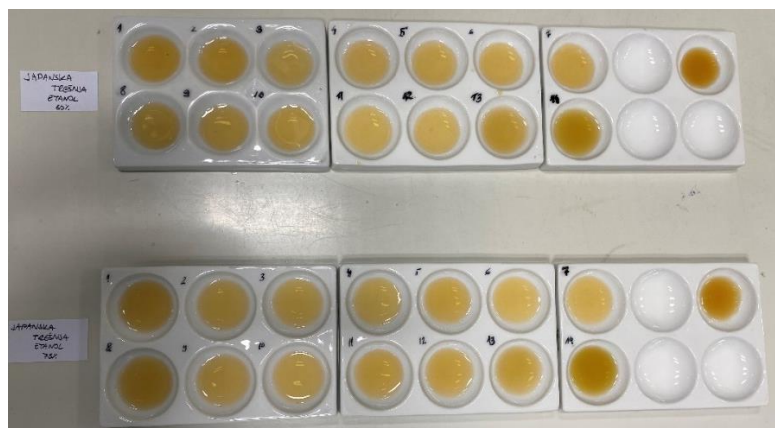


Slika 40. Indikator pripremljen od suhe japanske trešnje i acetona.

Indikator pripremljen od suhe japanske trešnje i 50 %-tnog acetona ne pokazuje značajnije promjene boje pri pH = 1-13 gdje je boja žuto-smeđa, dok je pri pH = 14 boja smeđa. Promjene su prikazane na Slici 40., gore.



Kod indikatora pripremljenog od suhe japanske trešnje i 75 %-tnog acetona boje su svjetlije nego u prethodnom slučaju. Ponovno nema značajnijih promjena u pH = 1-13 gdje je boja žuta. Tek pri pH = 14 boja se promijenila u svijetlo smeđu (Slika 40., dolje).



Slika 41. Indikator pripremljen od suhe japanske trešnje i etanola.

U slučaju suhe japanske trešnje i etanola dobiveni su gotovo jednaki rezultati kao u prethodnom slučaju s acetonom.

Indikator od suhe japanske trešnje i 50 %-tnog etanola ne pokazuje značajne promjene u pH = 1-13 gdje je boja žuta, jedino pri pH = 14 boja je tamno narančasta. Promjene su prikazane na Slici 41., gore.

Indikator suhe japanske trešnje i 75 %-tnog etanola također ne pokazuje promjene u području pH = 1-13 gdje je boja svijetlo žuta, samo se pri pH = 14 boja promijenila u tamno žutu, skoro smeđu (Slika 41., dolje).



Slika 42. Indikator pripremljen od suhe japanske trešnje i metanola.

Suha japanska trešnja i metanol daju boje jakog intenziteta, no bez velikih promjena. Indikator pripremljen od suhe japanske trešnje i 25 %-tnog metanola je smeđe boje pri pH = 1-13, a tek pri pH = 14 pokazuje vrlo malu promjenu te je boja tamno smeđa. Promjene su prikazane na Slici 42., gore.

U slučaju indikatora od suhe japanske trešnje i 50 %-tnog metanola boje su manjeg intenziteta nego kod 25 %-tnog metanola. Također, jedinu promjenu pokazuje pri pH = 14 kada je otopina tamno smeđa. U području pH = 1-13 otopina je žuto-narančaste boje (Slika 42., dolje).

## 5. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitana je učinkovitost odabranog suhog koštuničavog voća kao alternativnog kiselo-baznog indikatora. Koštuničavo voće je osušeno prije ispitivanja, a uzorci su se sastojali od čistog voća bez ikakvih primjesa i dodanih spojeva. Ispitano je 9 vrsta koštuničavog voća: višnja, trešnja, šljiva, breskva, nektarina, marelica, ringlov, drenjina i japanska trešnja. U radu je ispitan i značaj primjene odabranih otapala u pripremi prirodnih indikatora. Ispitani su etanol, aceton i metanol.

Istraživanje provedeno sa suhom višnjom, trešnjom i šljivom dalo je intenzivne i dobro uočljive rezultate. Sva tri uzorka pokazala su se kao odlični kiselo-bazni indikatori ponajviše zbog prisutnih antocijanina u kemijskom sastavu ploda. S obzirom da je do najvećih promjena došlo u području  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$ , zaključujemo da su dobri indikatori za bazični medij. Promjene manjeg intenziteta su se pojavile u kiselom mediju, no i dalje su vidljive. To znači da su ove 3 voćke dobri indikatori u cijelom  $\text{pH}$  području.

U slučaju uzoraka suhe breskve, nektarine i marelice došlo je do malih, gotovo nikakvih promjena. To pokazuje kako se ti uzorci nisu pokazali kao najbolji alternativni kiselo-bazni indikatori, no imaju određeni potencijal. Kod ovih uzoraka jedina promjena boje je pri  $\text{pH} = 13$  i  $\text{pH} = 14$ , što ukazuje na to da su oni potencijalni indikatori izrazito bazičnog medija. Prema Čaha (2021) za marelicu su dobiveni isti rezultati, no svježja nektarina i breskva su se pokazale kao dobri indikatori i u kiselom mediju. Mogući uzrok takvih rezultata je taj da sušenjem voća dolazi do raspada dijela prisutnih spojeva te se na taj način gube antocijanini, kojih je i u svježem voću bilo izrazito malo (Tablice 6., 8. i 9.).

Boja ploda ringlova ukazuje na visoku koncentraciju pigmenata, što sugerira da bi ringlov mogao biti dobar kiselo-bazni indikator. No, kod suhog ringlova to nije slučaj. Moguće da se pri sušenju dio spojeva raspadne što onda dovede do ovdje opisanih rezultata. Osim toga, moguće da bi neka druga otapala ili složeniji postupak ekstrakcije pigmenata dao bolje rezultate.

Istraživanje provedeno na suhoj drenjini i suhoj japanskoj trešnji ukazuje na dobar potencijal ovog voća kao kiselo-baznog indikatora. Kao i u dosadašnjim istraživanjima [42], najveće promjene su u iznimno bazičnom mediju, pa zaključujemo kako bi drenjina i japanska trešnja mogle poslužiti u pripremi indikatora jako bazičnog medija.

Istraživanje je pokazalo kako odabrano suho koštuničavo voće, osim par iznimki, može poslužiti kao kiselo-bazni indikator. Dobiveni rezultati su nam vrlo bitni s obzirom da upotreba alternativnih biljnih indikatora ima više prednosti od uporabe klasičnih sintetskih

indikatora. Biljni materijal može se lako pronaći u prirodi, a cijena je vrlo pristupačna. Također, otpad nastao nakon pripreme indikatora nije štetan za zdravlje i okoliš, a time odlaganje i skladištenje nastalog otpada ne predstavlja ekološki problem. Sam biljni materijal nije toksičan i puno je lakši za korištenje, samim time pogodniji je za izvođenje eksperimenata u osnovnim i srednjim školama, odnosno publici koja nema dovoljno znanja kako bi pravilno koristila opasnije kemikalije. U slučaju biljnog materijala koji se nije pokazao kao dobar indikator, razlog može biti raspad fitoaktivnih tvari uslijed sušenja, niska koncentracija pripremljenih indikatora ili sam odabir otapala. Još jedan faktor koji bi mogao utjecati na dobivene rezultate je vrijeme ekstrakcije, kao i temperatura.

## 6. LITERATURNI VRELA

- [1] <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/opca-svojtva-i-podjela-voce-i-povrca> (20. 7. 2022.)
- [2] <https://definicijahrane.hr/definicija/hrana/voce/> (20. 7. 2022.)
- [3] <https://mojezdravenavike.wordpress.com/2020/12/18/kostunicavo-voce/> (20. 7. 2022.)
- [4] M. Lendler, Mogućnosti korištenja industrijskih ostataka važnijeg koštuničavog voća procesom pirolize u svrhu dobivanja energije, diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb, 2018.
- [5] [https://howwikihr.com/wiki/Stenfrukt\\_5](https://howwikihr.com/wiki/Stenfrukt_5) (20. 7. 2022.)
- [6] <https://www.kaufland.hr/asortiman/leksikon-namirnica/voce/kostunicavo-voce.html> 6 (21. 7. 2022.)
- [7] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/visnja-34/> (21. 7. 2022.)
- [8] <https://www.plantea.com.hr/visnja/> (21. 7. 2022.)
- [9] <https://hr.wikipedia.org/wiki/Vi%C5%A1nja> (21. 7. 2022.)
- [10] H. V. Gorsel, C. Li, E. L. Kerbel, M. Smits, A. A. Kader, *J. Agric. Food Chem.* **40** (1992), 784-789.
- [11] <https://www.plantea.com.hr/tresnja/> (21. 7. 2022.)
- [12] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/tresnja-33/> (21. 7. 2022.)
- [13] <https://hr.wikipedia.org/wiki/Tre%C5%A1nja> (21. 7. 2022.)
- [14] <https://vrtnicentariva.hr/proizvod/tresnja-van/> (21. 7. 2022.)
- [15] <https://www.kaufland.hr/asortiman/leksikon-namirnica/voce/kostunicavo-voce/tresnje.html> (21. 7. 2022.)
- [16] <https://www.plantea.com.hr/sljiva/> (22. 7. 2022.)
- [17] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/sljiva-31/> (22. 7. 2022.)
- [18] <https://www.kaufland.hr/asortiman/leksikon-namirnica/voce/kostunicavo-voce/sljive.html> (22. 7. 2022.)
- [19] <https://www.plantea.com.hr/breskva/> (22. 7. 2022.)
- [20] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/breskva-3/> (22. 7. 2022.)
- [21] I. C. W. Arts, B. van de Putte, P. C. H. Hollman, *J. Agric. Food Chem.* **48** (2000), 1746-1751.
- [22] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/nektarina-21/> (23. 7. 2022.)
- [23] <https://www.kaufland.hr/asortiman/leksikon-namirnica/voce/kostunicavo-voce/nektarine.html> (23. 7. 2022.)

- [24] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/marelica-17/> (23. 7. 2022.)
- [25] <https://www.plantea.com.hr/marelica/> (23. 7. 2022.)
- [26] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/54> (23. 7. 2022.)
- [27] <https://www.plantea.com.hr/drijen/> (23. 7. 2022.)
- [28] K. Bilić, Istraživanje biljnog materijala kao potencijalnog kiselo–baznog indikatora, diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Osijek, 2020.
- [29] <https://www.plantea.com.hr/zerdelija/> (23. 7. 2022.)
- [30] <https://www.plantea.com.hr/japanska-tresnja/> (23. 7. 2022.)
- [31] T. Pinkle, Dehidratirano voće, završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2014.
- [32] <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-susenja-sljive> (24. 7. 2022.)
- [33] <https://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=kiselo-bazni+indikator> (24. 7. 2022.)
- [34] <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/15cf791a-4c97-4f29-84d9-17c1b47ceccc/kemija-2/m04/j03/index.html> (24. 7. 2022.)
- [35] <https://sciencing.com/common-acid-base-indicators-8375206.html> (25. 7. 2022.)
- [36] <https://hr.science19.com/litmus-paper-types-8609> (25. 7. 2022.)
- [37] <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/15cf791a-4c97-4f29-84d9-17c1b47ceccc/kemija-2/m04/j03/index.html> (25. 7. 2022.)
- [38] [https://www.profil-klett.hr/system/files/repozitorij/pdf/biljke\\_kao\\_kiselo\\_bazni\\_indikatori.pdf](https://www.profil-klett.hr/system/files/repozitorij/pdf/biljke_kao_kiselo_bazni_indikatori.pdf) (26. 7. 2022.)
- [39] <https://agroekonomija.wordpress.com/2011/01/13/antocijani-2/> (26. 7. 2022.)
- [40] L. Bertić, Reakcija biljaka na pH vrijednost tla, završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek, 2017.
- [41] <https://hr.imadeself.com/uhod/kislotnost-pochvy-dlya-gortenzii.html> (26. 7. 2022.)
- [42] V. Čaha, Istraživanje primjene odabranih biljaka iz porodice Rosaceae kao alternativnih pH indikatora, diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Osijek, 2021.