

Ispitivanje primjene svježeg koštičavog voća kao alternativnog pH indikatora

Knežević, Antonela

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:182:931574>

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

Antonela Knežević

**Ispitivanje primjene svježeg koštičavog voća kao
alternativnog pH indikatora**

Završni rad

Mentor: doc.dr.sc. Ana Amić

Osijek, 2023. godina

Sažetak

Opće prihvaćen pojam „koštičavo voće“ obuhvaća širok raspon voća koje se uzgaja diljem svijeta. Ovaj naziv se odnosi na voće čiji plod ima tvrdi koštice u sredini. Najpoznatiji primjerci uključuju šljive, breskve, trešnje, višnje, i tako dalje. Mnoge vrste koštičavog voća sadrže pigmente koji mijenjaju boju otopine ovisno o pH vrijednosti. Stoga se takav biljni materijal može koristiti kao alternativni prirodni kiselo-bazni indikator. Cilj ovog rada bio je ispitati mogu li svježi plodovi koštičavog voća poslužiti kao prirodni kiselo-bazni indikator. Korišteno je nekoliko vrsta svježeg voća, konkretno višnje, trešnje, šljive, breskve, marelice, nektarine, ringlov, japanske trešnje i drenjine. Za pripremu indikatora korištena su otapala voda, aceton, etanol i metanol. Preliminarna ispitivanja provedena su na višnjama i drenjinama kako bi se odabrala otapala i odredio optimalni omjer biljnog materijala i otapala. Rezultati su pokazali da se svježe koštičavo voće, posebno šljive, višnje i trešnje, može uspješno koristiti kao prirodni kiselo-bazni indikator.

Ključne riječi: alternativni indikatori, koštičavo voće, pH, (poli)fenoli

Abstract

The generally accepted term "stone fruit" covers a wide range of fruit grown around the world. This name refers to a fruit that has a hard stone in the middle. The most common examples include plums, peach, cherries, sour cherries, etc. Many types of stone fruit contain pigments that change the colour of the solution depending on the pH value. Therefore, such plant material can be used as an alternative natural acid-base indicator. The aim of this work was to examine whether selected fresh stone fruit can serve as a natural acid-base indicator. Several types of fresh fruit were used, e.g. sour and sweet cherries, plums, peach, apricots, nectarines, cherry plums, Japanese cherries and Cornelian cherries. Water, acetone, ethanol and methanol were used to prepare the indicator. Preliminary tests were carried out on sour cherries and Cornelian cherries in order to select solvents and to determine the optimal plant material / solvent ratio. The results showed that fresh stone fruit, especially plums, sour cherries and sweet cherries, can be successfully used as a natural acid-base indicator.

Keywords: alternative indicators, stone fruit, pH, (poly)phenols

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. ALTERNATIVNI pH INDIKATORI	2
3. KOŠTIČAVO VOĆE	3
3.1. Višnja, <i>Prunus cerasus</i> L.	4
3.2. Trešnja, <i>Prunus avium</i> L.	5
3.3. Šljiva, <i>Prunus domestica</i> L.	7
3.4. Breskva, <i>Prunus persica</i> L.	9
3.5. Nektarina, <i>Prunus persica</i> var. <i>nucipersica</i> L.	10
3.6. Marelica, <i>Prunus armeniaca</i> L.	11
3.7. Drenjina, <i>Cornus mas</i> L.	12
3.8. Ringlov, <i>Prunus cerasifera</i> Ehrh.	13
3.9. Japanska trešnja, <i>Prunus serrulata</i> Lindl.	14
4. MATERIJAL I METODE	15
4.1. Korišteni biljni materijal, kemikalije i pribor	15
4.2. Priprema otopina i preliminarno ispitivanje	15
4.3. Plan rada i postupak	16
5. REZULTATI I RASPRAVA	18
5.1. Preliminarno ispitivanje	18
5.1.1. Višnja	18
5.1.2. Drenjina	25
5.2. Trešnja	31
5.3. Šljiva	33
5.4. Breskva	36
5.5. Nektarina	38
5.6. Marelica	40
5.7. Ringlov	42
5.8. Japanska trešnja	44
6. ZAKLJUČAK	47
7. LITERATurna VRELA	49

1. UVOD

U modernoj kemiji, sintetski kiselo-bazni indikatori su često skupi i nedostupni, što može dovesti do izostavljanja praktičnog rada u nekim školama. Zbog toga su u ovom radu ispitani alternativni kiselo-bazni indikatori kako bi se olakšalo i poboljšalo izvođenje eksperimenata u nastavi kemije. Kao potencijalni kandidati za takve indikatore ispitano je svježe koštičavo voće s dodatkom raznih otapala (acetona, etanola, metanola), uključujući višnju, trešnju, breskvu, marelicu, nektarinu, drenjinu, japansku trešnju, ringlov i šljivu.

U radu su iznesene osnovne informacije o alternativnim kiselo-baznim indikatorima te su detaljno opisani sastav i svojstva korištenog voća. U drugom dijelu rada, nakon popisa korištenih materijala i metoda, prikazani su i objašnjeni rezultati ispitivanja. Analiza je pokazala da svježe koštičavo voće, posebno šljiva, višnja i trešnja, može poslužiti kao alternativni kiselo-bazni indikator zbog prisutnosti polifenola tj. antocijanina koji uzrokuju promjenu boje u ovisnosti o pH vrijednosti medija. Rezultati su prikazani slikama, a vizualno najupečatljiviji pokazatelji su pripremljeni od navedenog voća uz korištenje etanola kao otapala. Ovako pripremljeni indikatori mogli bi naći primjenu u nastavi kemije, budući da se radi o jednostavno pripremljenim indikatorima, koji nisu skupi ni opasni za ljude i okoliš.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Alternativni pH indikatori

Alternativni pH indikatori predstavljaju prirodne tvari koje se mogu koristiti za određivanje pH vrijednosti otopine. Za razliku od sintetskih indikatora, alternativni indikatori se dobivaju iz biljnih i životinjskih izvora te su često ekonomičniji i lakše dostupni. Postoji velik broj biljaka koje se mogu koristiti kao alternativni indikatori, a neke od najpoznatijih su crveni kupus, borovnica, cikla, kurkuma, hibiskus i ruža. [1]

Biljke sadrže raznolike bioaktivne tvari, na primjer pigmente koji mijenjaju boju u ovisnosti o pH. Bioaktivni spojevi pokazuju različite tipove biološke aktivnosti, a u njih se ubrajaju flavonoidi, karotenoidi, polifenoli i fenolne kiseline. Voće se može koristiti kao prirodni indikator ukoliko sadrži bioaktivne spojeve koji uzrokuju promjenu boje u različitim pH medijima. Na primjer, voće bogato antocijaninima, poput borovnica, crvenog kupusa ili višanja, promijenit će boju iz crvene u zelenu pri većim pH vrijednostima, dok će pri manjim pH vrijednostima promijeniti boju u svijetlo crvenu. S druge strane, voće bogato polifenolima, poput grožđa ili šipka, također će pokazati specifičnu promjenu boje u različitim pH uvjetima [1].

Alternativni pH indikatori imaju niz prednosti u odnosu na sintetske indikatore. Prije svega, alternativni indikatori su ekološki prihvatljiviji jer se dobivaju iz prirodnih izvora. Pored toga, alternativni indikatori mogu se koristiti i u svakodnevnom životu, primjerice u školi. Iako se alternativni indikatori pokazuju kao zanimljiva alternativa sintetskim indikatorima, postoje i nedostaci. Neki od nedostataka su manja osjetljivost u odnosu na sintetske indikatore, varijabilnost u boji koja može otežati precizno određivanje pH vrijednosti otopine te ograničenje u rasponu pH vrijednosti koje mogu detektirati [1].

3. KOŠTIČAVO VOĆE

Voće se dijeli u određene kategorije prema obliku ploda, od kojih je jedna kategorija koštičavo voće korišteno u ovom radu. Koštičavo voće poznato je po svom sočnom, slatkom mesu (pulpi) koje obavija istaknutu, otvrdnulu košticu [2]. Uz naziv koštičavo voće, koriste se i nazivi koštunice ili koštuničavo voće. Ono pokazuje posebnu raznolikost u veličini i boji ploda, a neki od predstavnika su breskve, nektarine, marelice, šljive, višnje, trešnje, drenjine. Osim što je primamljivo okusom, ovo voće ima i značajne nutritivne vrijednosti i predstavlja izvor vitamina i minerala te dijetalnih vlakana. Uz to, prisutni su i antioksidansi koji imaju glavnu ulogu u ublažavanju oksidativnog stresa i hvatanju slobodnih radikala. Najrašireniji antioksidansi su antocijanini, kvercetin i karotenoidi. Koštičavo voće odabrano u ovom radu taksonomski je klasificirano u carstvo biljaka, pripada koljenu sjemenjača (Spermatophyta) i podkoljenu kritosjemenjača (Magnoliophyta), razredu dvosupnica (Magnoliopsida). Većina ovdje korištenih vrsta svrstana je u red Rosales, pripada porodici Rosaceae ili ruže te rodu *Prunus*. Drenjina je taksonomski klasificirana u red Cornales, pripada porodici Cornaceae ili drjenovke te rodu *Cornus* [3].

Ono što je različito kod svake vrste voća, između ostalog, je boja ploda. Kakve će boje biti plod uvelike ovisi o genima biljke. Svaka vrsta i sorta ima specifične gene koji određuju i kontroliraju proizvodnju pigmenata koji u konačnici plodu daju boju. Pigmenti koji su za to odgovorni su antocijanini (odgovorni za ljubičastu, crvenu i plavu boju), zatim karotenoidi (odgovorni za žutu i narančastu boju) te najpoznatiji klorofil (koji biljkama daje zelenu boju). Vrsta i količina pigmenata se razlikuje od jedne do druge vrste voća i, kao što je već rečeno, ovisi o ekspresiji specifičnih gena [4].

Zrelost ploda također ima ulogu u boji ploda, koja je najčešće i pokazatelj same zrelosti ploda. Na primjer, na početku sazrijevanja svi plodovi su zelene boje no sazrijevanjem tip i koncentracija pigmenata se mijenja pa više dolaze do izražaja druge boje. Plodovi izloženi Sunčevu svjetlu najčešće imaju bolju i jaču pigmentaciju jer svjetlo potiče proizvodnju pigmenata, što je vidljivo na plodovima izloženim zasjenjenim uvjetima koji su blijedi i nejednako pigmentirani. I hranjivost tla ima ulogu u razvoju pigmenata, primjerice sadržaj kalija, ali i drugi čimbenici poput pH vrijednosti tla. Danas se često poseže za raznim kemijskim tretmanima koji poboljšavaju ili čak mijenjaju boju ploda, a uključuju sredstva za brže sazrijevanje i umjetne boje [5].

3.1. Višnja, *Prunus cerasus* L.

Prva predstavnik skupine koštičavog voća je višnja, *Prunus cerasus* L. Ovo listopadno stablo doseže visinu do 6 m, sklonije je hladnijoj klimi što objašnjava i kiseliji okus ploda. Potiče iz Male Azije. Plod je okrugla crvena koštunica [2]. Vanjski dio čini pokožica koja štiti sočnog meso koje okružuje košticu zatvorenu endokarpom što prikriva sjeme (Slika 1.). Kiselijem okusu ploda pridonosi i povećan sadržaj organskih kiselina, poput limunske i jabučne kiseline. Približna pH vrijednost svježe višnje je 4,01-4,54 [6].

Plodovi se jedu svježi, međutim veća je uporaba u sokovima, kompotima, džemovima te likerima. Zbog potrebe prehrambene industrije nastale su sorte višnje poput Maraske dobivene cijepljenjem i korijenovim izdancima. Maraskini plodovi su puno sočniji i mesnatiji te time i pogodniji za daljnju preradu [7].

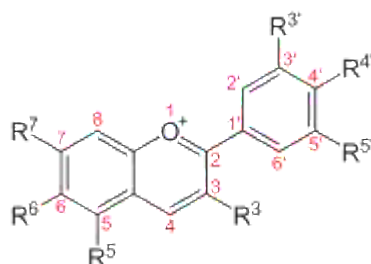
Povijesno se ovo voće koristilo u ljekovite svrhe za liječenje raznih bolesti, uključujući želučane tegobe. Nedavno su istraživanja počela otkrivati značaj višnje kao superhrane, budući da je bogata antioksidansima, vitaminima, mineralima i melatoninom. Zbog visokog sadržaja melatonina, višnja se smatra korisnom za ublažavanje problema sa spavanjem. Sjemenke sadrže tvari koje se u vodi razgrađuju i stvaraju cijanovodičnu kiselinu koja, iako vrlo otrovna, može u malim dozama potaknuti disanje i poboljšati probavu [8].



Slika 1. Plod višnje [9].

Sastav ploda višnje (makronutrijenti) je 84-88 g vode, 1 g proteina, 0,5 g masti, 11 g ugljikohidrata i 1-2 g sirovih vlakana [6]. Udio bioaktivnih tvari vrlo je važan a može se naći u bazi *Phenol-Explorer* 3.6, koja sadrži podatke o sadržaju (poli)fenola u hrani [10]. Pretragom baze utvrđeni rezultati za svježju višnju su sljedeći: antocijanini (Slika 2.) prisutni su obliku cijanidin-3-*O*-glukozida (srednja vrijednost 1,12 mg/100g), cijanidin-3-*O*-

-glukozil-rutinozida (srednja vrijednost 43,63 mg/100g), cijanidin-3-*O*-rutinozida (srednja vrijednost 6,98 mg/100g) i peonidin-3-*O*-rutinozida (srednja vrijednost 2,70 mg/100g) [11].



Slika 2. Opća strukturna formula antocijanina [12].

Zatim su prisutne hidoksicimетne kiseline u obliku 3-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 19,10 mg/100g), 3-feruloil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,13 mg/100g), 3-*p*-kumaroil kininske kiseline (srednja vrijednost 13,97 mg/100g), 4-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,27 mg/100g), 4-feruloil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,07 mg/100g), 4-*p*-kumaroil kininske kiseline (srednja vrijednost 1,47 mg/100g), 5-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 7,20 mg/100g), 5-feruloil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,07 mg/100g) i 5-*p*-kumaroil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,10 mg/100g) [11]. Iz navedenih podataka vidljiv je visoki sadržaj antocijanina, točnije cijanidin-3-*O*-glukozil-rutinozida, što upućuje da je višnja potencijalno dobar alternativni pH indikator.

3.2. Trešnja, *Prunus avium* L.

Trešnja (*Prunus avium* L.) je listopadno stablo iz porodice ruža (Rosaceae). Stablo naraste i do 30 m tvoreći vrlo jaku, raširenu krošnjju. Plod je okrugla, mesnata koštunica sjajne tamno crvenkaste boje, promjera oko 1 cm, a usred ploda je svijetlo smeđa, glatka koštica koja (kao i peteljka) miriše na badem (Slika 3.). Dozrijeva u lipnju. Rasprostranjena je na području Europe, zapadne Azije i sjeverne Afrike [13].

Plod trešnje slađi je od višnje, također je vrlo privlačna hrana pticama koje onda raznose sjeme. Trešnja preko zime može podnijeti temperature čak i do -30 °C. Plodovi se mogu jesti svježi, što je nekako najčešći slučaj no koristi se i u kulinarstvu, za pripremu kompota. Također nije strana u čajevima koji imaju poseban miris i okus zahvaljujući

kiselkasto-slatkom okusu trešnje. Njene prerađevine važne su i za kozmetičku industriju pa se tako često nalaze na tržištu proizvodi s mirisom cvijeta trešnje [13].

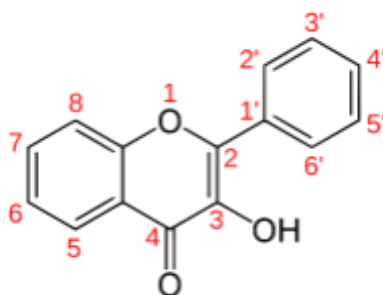
Trešnja je, kao i višnja, bogata nutrijentima poput antioksidansa i vitamina C, ali sadrži i spomenuti melantoin. Kelley i sur. (2018) istražili su zdravstvene prednosti trešnje te uvidjeli njena antioksidacijska i protuupalna svojstva, koja su rezultat dostatnih udjela antocijanina i ostalih polifenola, poput krizantemina (cijanidin-3-glukozid), hidroksi-cimetnih kiselina i flavanola [14].



Slika 3. Plod trešnje [15].

Sastav trešnje je 81-85 g vode, 1 g proteina, 0,3 g masti, 14 g ugljikohidrata i 1-2 g sirovih vlakna [6]. Uvidom u bazu *Phenol-Explorer* 3.6., u svježoj trešnji nalaze se: antocijanini u obliku cijanidin-3-*O*-glukozida (srednja vrijednost 18,73 mg/100g), cijanidin--3-*O*-rutinozida (srednja vrijednost 143,27 mg/100g), pelargonidin-3-*O*-rutinozida (srednja vrijednost 1,24 mg/100g), peonidin-3-*O*-glukozida (srednja vrijednost 0,76 mg/100g), peonidin-3-*O*-rutinozida (srednja vrijednost 7,42 mg/100g) [16].

Flavanoli (Slika 4.) u obliku (+)-katehina (srednja vrijednost 1,50 mg/100g), (-)-epikatehina (srednja vrijednost 7,78 mg/100g), (-)-epikatehin-3-*O*-galata (srednja vrijednost 0,09 mg/100g), (-)-epigalokatehina (srednja vrijednost 0,05 mg/100g), procijanidin dimer B1 (srednja vrijednost 0,23 mg/100g), procijanidin dimer B2 (srednja vrijednost 2,10 mg/100g), procijanidin dimer B3 (srednja vrijednost 0,08 mg/100g), procijanidin dimer B4 (srednja vrijednost 0,18 mg/100g), procijanidin dimer B5 (srednja vrijednost 0,20 mg/100g), procijanidin dimer B7 (srednja vrijednost 1,01 mg/100g), procijanidin trimer C1 (srednja vrijednost 1,85 mg/100g) [16].



Slika 4. Strukturna osnova flavonola [17].

Hidroksicimetne kiseline prisutne su u oblicima 3-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 44,71 mg/100g), 3-feruloil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,43 mg/100g), 3-*p*-kumaroil kininske kiseline (srednja vrijednost 38,43 mg/100g), 4-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 0,77 mg/100g), 4-*p*-kumaroil kininske kiseline (srednja vrijednost 1,27 mg/100g) [16]. Podaci nam ukazuju na znatno veću vrijednost cijanidin-3-*O*-rutinozida zbog čega se može pretpostaviti da trešnja ima itekako dovoljnu količinu polifenola tj. antocijanina kako bi bila dobar alternativni kiselo-bazni indikator.

3.3. Šljiva, *Prunus domestica* L.

Unutar roda *Prunus*, šljiva se ističe kao listopadno drvo koje obično dosegne visinu od 2-6 m. Morfologija ploda šljive vrlo je zanimljiva jer boja pokožice varira od ljubičaste, crvene i plave do žute i zelene boje koja ovisi o sorti. Plodovi su ovalnog oblika dugi 2-7,5 cm, meso im je zeleno-žute ili crvene boje, bogatog slatkastog okusa koje se lako odvaja od plosnate, tvrde koštice (Slika 5.) [18].

Potiču iz regije koja se proteže Kavkazom do Perzije, a njihov uzgoj seže u povijest tisuću godina unazad kada se krenuo širiti i u druge regije te tako ostavio neizbrisiv trag u raznim kulturama. Jedna od najpoznatijih sorti šljiva je Bistrica (poznata i kao Požegača, Mađarica, Debelica, itd.) koja daje plodove plave boje koji sazrijevaju u rujnu [18].

Primjena ploda šljive je već opće poznata u džemovima, a još poznatija u proizvodnji rakije. Šljive se i suše i takve često koriste u kulinarstvu, također su česte i u kompotima. Najpoznatija uporaba šljive u zdravstvene svrhe je za reguliranje probave, odnosno služi i djeluje kao laksativ [18].

Plava šljiva ima izrazito nisku pH vrijednost 2,80-3,40 [6]. U njenom nazivu, termin *domestica* znači udomaćena i opravdava svoj naziv jer može stoljećima preživjeti u dobrim uvjetima, prozračnim voćnjacima bez velike količine vlage [18].



Slika 5. Plod šljive [19].

Plod šljive sastoji se od 84-90 g vode, 0,3-0,5 g proteina, 0,1-0,3 g masti, 10-15 g ugljikohidrata i 2-4 g sirovih vlakana [6]. Obiluju mineralima što je zainteresiralo Igwe i Charlton (2016) da procijene studije o šljivama koje su koristile različiti dizajn istraživanja, uključujući *in vitro* metode, klinička ispitivanja i ispitivanja na životinjama. Procijenili su kvalitetu istraživanja koristeći relevantne kriterije i utvrdili razinu dokaza o blagotvornim učincima šljive na zdravlje. Posebno su se usredotočili na antioksidacijsko i protuupalno djelovanje šljiva, kao i na njihov učinak na zdravlje kostiju. Pregled je uključivao studije koje su istraživale svježe šljive, suhe šljive i sok od šljiva. Između ostalog, utvrdili su da je kooperativni efekt polifenola s kalijem i vitaminom K potreban kako bi se spriječio gubitak koštane mase [20].

U *Phenol-Explorer* 3.6. bazi podataka svježa šljiva ima opsežan popis polifenola pa su uočljivi oni koji količinski odskaku. Od antocijanina najviše se ističe cijanidin-3-*O*-rutinozid (srednja vrijednost 33,85 mg/100g), dok kod flavanola istaknutiji su procijanidin dimer B1 (srednja vrijednost 8,84 mg/100g) i procijanidin trimer C1 (srednja vrijednost 10,01 mg/100g). U svježoj šljivi prisutni su i flavonoli, a u najvećoj količini nalazi se kvercetin-3-*O*-rutinozid (srednja vrijednost 5,90 mg/100g). Od hidroksicimetnih kiselina u svježoj šljivi najviše odskakuje 3-kafeoil kininska kiselina (srednja vrijednost 75,88 mg/100g) [21]. Prema podacima iz baze polifenola, lako je uočljivo da šljiva ima pozamašne vrijednosti antocijanina što ju čini potencijalnim alternativnim pH indikatorom.

3.4. Breskva, *Prunus persica* L.

Breskva je malo drugačija od već spomenutih predstavnika koštičavog voća. Ovo listopadno stablo raste 5 do 10 m u visinu i tvori dobro razgranatu i rijetku krošnju s dugim granama. Njen plod je najveći u rodu *Prunus* i naraste do 8 cm promjera s do 2 cm velikom košticom koju skriva sočno meso žutonarančaste boje i baršunasta kožica (Slika 6.). Dozrijeva u srpnju i kolovozu pa je tako često oktrjepa u vrućim ljetnim danima. U sazrijevanju ploda traži puno sunčeve svjetlosti i vrlo je osjetljiva na promjene temperature i vremenskih prilika [22].

Prirodno stanište je na području sjeverozapadne Kine, a naziv *persica* dobila je zbog perzijskog podrijetla. Osim što se konzumira svježa, od nje se rade i sokovi, džemovi, kompoti i kašice. Vrlo specifičan je persipan, koji je verzija marcipana samo što nije od badema već od sjemenki breskve. Pravi se tako da se sjemenke breskve, koje su gorke, melju i dodaje im se šećer [22]. pH vrijednost ploda breskve kreće se oko 3,30-4,05 [6].



Slika 6. Plod breskve [23].

Jedna svježa breskva srednje veličine (147 grama) ima 50 kilokalorija, 0,5 g masti, 15 g ugljikohidrata, 2 g vlakana i 1 g proteina. Procjenjuje se da osigurava oko 6 % dnevnih potreba za vitaminom A i 15 % dnevnih potreba za vitaminom C, antioksidansa koji promiču zdravlje. Osim toga, izvor je i drugih mikronutrijenata poput vitamina E i K, niacina, folata, željeza, kalija, magnezija, fosfora, mangana, cinka i bakra [24].

Prema *Phenol-Explorer*-u, cijela, svježa i neoguljena breskva, kakva se koristila u istraživanju, sadrži flavanol u obliku (+)-katehina (srednja vrijednost 2,33 mg/100g) te hidroksicimetne kiseline od kojih su se svojom količinom istaknule 3-kafeoil kininska kiselina (srednja vrijednost 8,75 mg/100g) i 5-kafeoil kininska kiselina (srednja vrijednost

15,55 mg/100g) [25]. S obzirom da breskva nema specifičnu boju ploda koja ukazuje na prisutnost antocijanina, narančaste i žute boje ukazuju na karotenoide u njenom sastavu. Karotenoidi koji su otkriveni u breskvama uključuju lutein, zeaksantin, β -kriptoksantin, α -karoten i β -karoten. Ovi karotenoidi daju breskvama jarko žutu, narančastu i crvenu boju i poznati su po svojoj nutritivnoj vrijednosti. Koncentracije ovih karotenoida mogu varirati među različitim sortama breskvi sa žutim mesom [26]. Ostaje istražiti kako se breskva ponaša u različitim pH okruženjima.

3.5. Nektarina, *Prunus persica* var. *nucipersica* L.

Nektarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* L.) podvrsta je breskve. Razlikuje se od breskve po glatkim i sjajnim plodovima jer nektarine po kožici nemaju dlačice. Križanjem različitih sorti dobivena je nektarina veličine obične breskve, crvene boje ploda i još slađeg okusa. Unutar slatkog mesa ploda nalazi se velika čvrsta rebrasta koštica (Slika 7.). pH vrijednost ploda nektarine iznosi oko 3,92-4,18 [6]. Konzumira se svježa, ali koristi se i kao osvježavajući sastojak u salatama, sokovima i jelima [27].



Slika 7. Plod nektarine [28].

Voće je posebno bogato vitaminom C, niacinom, bakrom, kalijem i vlaknima. Također sadrži lutein, zeaksantin i druge fitokemikalije s antioksidacijskim i protuupalnim svojstvima. Osim toga, ima malo kalorija i masti. Naime, plod nektarine sadrži 1,5 g proteina, 15,1 g ugljikohidrata, 0,45 g masti i 2,4 g sirovih vlakana [29].

Pregledom baze polifenola sadržanih u cijeloj neoguljenoj nektarini, ističe se razlika od breskve. Nektarina ipak sadrži antocijanin u obliku malvidin-3,5-*O*-diglukozi (srednja vrijednost 0,30 mg/100g) dok u breskvi (prema podacima u *Phenol-Explorer-u*) nisu

utvrđeni antocijanini. Ističu se i flavanoli u obliku (+)-katehina (srednja vrijednost 4,72 mg/100g) i procijanidin dimer B1 (srednja vrijednost 9,95 mg/100g), dok flavonola ima u manjim vrijednostima. Hidroksicimetne kiseline ima u obliku 3-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 3,96 mg/100g) i 5-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 6,08 mg/100g) [30]. Iako mali, ali ipak postojani, udio antocijanina u nektarini predviđa bolji potencijal primjene kao alternativni pH indikator u odnosu na breskvu.

3.6. Marelica, *Prunus armeniaca* L.

Uz breskvu i nektarinu, marelica ili kajsija sljedeća je predstavница roda *Prunus*. Ovo stablo je srednjeg rasta, ali bujne i razvijene krošnje. Plod marelice narančaste je boje, promjera do 3 cm i na kožici ima vrlo sitne, jedva primjetne dlačice. Unutar slatkog narančastog mesa nalazi se lako odvojiva, tvrda, glatka i velika koštica smeđe boje (Slika 8.) [31].

Uvedena je u Europu iz srednjih ili istočnih dijelova Azije. Zbog ranog cvjetanja marelice, vrlo je osjetljiva na mraz i hladnoću. Zreli plodovi dozrijevaju od lipnja do kolovoza, ovisno o sorti. Marelica se jede svježa, ali je poznata prerada u marmelade, kompote, sokove, čajeve pa čak i rakije. Iskoristive su i sjemenke, čijim se hladnim prešanjem dobije kvalitetno ulje. Ovo ulje sadrži oleinsku (60-70 %) i linolnu kiselinu (20--25 %), lagane je teksture te se vrlo brzo upija zbog čega se koristi u kozmetici i farmaceutskoj industriji (omekšava i hrani kožu) [31].



Slika 8. Plod marelice [32].

Sastav ploda marelice je 84-88 g vode, 0,5-1,5 g proteina, 0,2-0,5g masti, 7-12 g ugljikohidrata i 1,5-3 g vlakana [6]. Mogu pružiti odličan izvor mnogih antioksidansa, uključujući vitamine A i C, kao i minerala poput kalija [33].

Pregledom podataka u bazi *Phenol-Explorer* 3.6 doznaje se da u svježoj marelici nisu dokazani antocijanini, već samo flavanoli, i to (+)-katehin (srednja vrijednost 2,96 mg/100g) i (-)-epikatehin (srednja vrijednost 3,47 mg/100g) koji se jedini ističu svojim većim udjelom. Od flavonola je utvrđen kvercetin-3-*O*-rutinozid (srednja vrijednost 0,12 mg/100g). Hidroksicimetne kiseline ima u obliku 3-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 5,38 mg/100g) i 5-kafeoil kininske kiseline (srednja vrijednost 3,58 mg/100g) i tako čini veći udio nego što čine flavonoidi [34]. Zhou i sur. (2020) kvalitativno i kvantitativno su analizom odredili prisutne karotenoide u marelici. Otkrili su da su α -karoten, β -karoten, (E/Z)-fitoen, β -kriptoksantin i lutein bili glavne komponente koje su se našli u svim ispitanim sortama marelice [35]. Ostaje vidjeti kako će se ponašati u različitim pH područjima i ima li karakteristike alternativnog pH indikatora.

3.7. Drenjina, *Cornus mas* L.

Drenjina, *Cornus mas* L., poznata i pod nazivom crveni drijen ili crveni drijenak, pripada porodici drenova, Cornaceae. U prirodi se nalazi u obliku stabla nižeg rasta ili većeg grma. Njeno uobičajeno stanište je na rubovima šuma i planinskih predjela. Plod drenjine prepoznatljiv je po tamno crvenoj (gotovo crnoj) boji bobica koje su jajolikog oblika, veličine oko 1,5 cm dok njihovo meso krije duguljastu glatku košticu dugu do 1 cm (Slika 9.) [36].



Slika 9. Plod drenjine [37].

Vrijeme dozrijevanja počinje u kolovozu, ali ih je najbolje brati kasnije u rujnu ili listopadu (pa čak i kasnije, što uvelike ovisi o podneblju) jer su na početku izraženo trpkog okusa koji se s vremenom ublaži. Daljnjim dozrijevanjem poprimaju tamniju crvenu boju te

su slađe okusom. Najčešće se prerađuju u sirup za sok, džemove i likere. Bogate su vitaminima i mineralima, a sadrže i raznolike bioaktivne spojeve (flavonoidi, karotenoidi, antocijanini, iridoidi, fenolne kiseline, pektini, tanini, itd.). Zbog adstringentnog djelovanja tanina, koristi se za liječenje proljeva [36]. Osim toga, koristi se u liječenju mnogih bolesti poput pretilosti, dijabetesa, raka, hiperkolesterolemije, bolesti probavnog sustava, poremećaji jetre i bubrega [38].

3.8. Ringlov, *Prunus cerasifera* Ehrh.

Ringlov, crvenolisna šljiva ili zerdelija, listopadno je drvo polugrmovitog oblika. Cvate u rano proljeće prije listanja. Uspijeva i na lošijim tlima jer je otporna i dobro podnosi lošije uvjete. Na prvu, plod ringlova izgleda kao kombinacija između trešnje i šljive. Plod je koštunica žute ili zagasito crvenkaste boje, promjera 2-3 cm. Sočno meso obavija košticu koja se teže odvaja od mesa (Slika 10.) [39].



Slika 10. Plod ringlova [40].

Plod sadrži niz fitokemikalija koje pridonose njihovom nutritivnom profilu. Iako sastav može varirati među različitim sortama, najviše sadrže vitamine, kao što je vitamin C, zatim minerale, poput kalija, te dijetalna vlakna i antioksidanse [41]. Pregled literature ukazuje na slabiju istraženost ovog voća, budući da radova o bioaktivnim spojevima u plodu ringlova prema našim saznanjima nema.

3.9. Japanska trešnja, *Prunus serrulata* Lindl.

Japanska trešnja poznato je ukrasno stablo koje je poznato kao prvi vjesnik proljeća u Japanu. Ima prepoznatljive ružičaste i nježne cvjetove (Slika 11.) [42].



Slika 11. Cvijet japanske trešnje [43].

Plod je tamna koštunica, okruglog oblika i veličine do 1,5 cm. Zbog raskošne krošnje u cvatu postala je česta u ukrasnim vrtovima. Iako se obično ne konzumira kao voće, cvjetovi i listovi sadrže različite fitokemikalije, uključujući flavonoide i fenolne spojeve [42]. I u slučaju japanske trešnje, kao i u slučaju ringlova, pretraživanje literature ukazuje na nedostatak kvalitativnih i kvantitativnih znanstvenih radova o bioaktivnim spojevima u plodu ovog voća.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Korišteni biljni materijal, kemikalije i pribor

Za potrebe ovog rada korišten je svježi biljni materijal i to odabrane vrste koštičavog voća. Korištena je breskva (*P. persica* L.), višnja (*P. cerasus* L.), trešnja (*P. avium* L.), šljiva (*P. domestica* L.), nektarina (*P. persica* var. *nucipersica* L.), marelica (*P. armeniaca* L.), drenjina (*C. mas* L.), ringlov (*P. cerasifera* Ehrh.) i japanska trešnja (*P. serrulata* Lindl.). Korišteni biljni materijal nabavljen je svjež i zreo, neoštećene kožice.

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, C₃H₆O ($M=58,08$ g/mol, Kemika)

Etanol, C₂H₅OH ($M=46,07$ g/mol, Kemika)

Metanol, CH₃OH ($M=32,04$ g/mol, Kemika)

Od laboratorijskog pribora u radu su korištene: 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 (Mettler Toledo, SevenEasy), vortex miješalica i uređaj za ultračistu vodu (TKA, WASSERAUFBEREITUNGSSYSTEME).

4.2. Priprema otopina i preliminarno ispitivanje

Otopine su pripravljene prema prethodno opisanom protokolu [1]. Za pripremu koriste se ultračista voda i klorovodična kiselina za kisele, odnosno natrijev hidroksid za bazične otopine. Za otopinu pH = 7 koristila se ultračista voda. Sve pH vrijednosti otopina određene su pomoću pH-metra.

Preliminarno ispitivanje provedeno je kako bi se utvrdio optimalni omjer mase biljnog materijala i volumena otapala te kako bi se utvrdila pogodna otapala i njihov

postotak. U tu svrhu korišteni su uzorci svježe višnje i svježe drenjine. Cilj je utvrditi otapalo i omjer kojim se dobiju izraženije i jasnije promjene boje. Ispitani su omjeri: m (uzorak) : V (otapalo) = 1 g : 10 mL, 1 g : 15 mL, 1 g : 20 mL. Odabrana otapala bila su prvo voda, aceton, etanol i metanol, a potom aceton, etanol i metanol u kombinaciji s vodom. Obzirom da je u međuvremenu voda kao otapalo ispitana u radu Čaha [44], u ovom radu nije bio naglasak na vodi kao otapalu. Dio preliminarnog ispitivanja koje je fokusirano na vodu dalo je rezultate koji su poslužili za usporedbu s rezultatima koji se odnose na ostala otapala. Obzirom da su korišteni biljni uzroci, a ne čisti kemijski spojevi, u daljnjem radu nisu korištena čista otapala (razne studije su pokazale kako se topljivost bioaktivnih tvari povećava ukoliko se koriste otapala razrijeđena vodom u odnosu na čista otapala). Stoga su u preliminarnom ispitivanju ispitana otapala bila 25 %, 50 % i 75 %-tni aceton, etanol i metanol.

Ispitivani biljni materijal (uzorak višnje odnosno drenjine) nije sadržavao košticu te je ispitivanje uključivalo pulpu zajedno s kožicom, odnosno voće nije bilo oguljeno. Biljni materijal je opran i osušen, nakon čega je izvagan i zgnječen u tarioniku uz dodatak određenog volumena jednog od otapala. Tako pripremljeni indikator 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 provedeno je ispitivanje mogućnosti primjene odabranog voća i otapala kao alternativnih indikatora pH vrijednosti.

4.3. Plan rada i postupak

Plan rada prikazan je u Tablici 1., a postupak je isti kao u slučaju preliminarnog ispitivanja. Omjer voća i otapala te otapala i vode temelje se na rezultatima dobivenima u preliminarnom ispitivanju. Obzirom da su rezultati preliminarnog ispitivanja ukazali na omjer mase biljnog materijala i volumena otapala 1 : 15 kao bolji u odnosu na preostala dva, u radu je korišten ovaj omjer. Nadalje, u preliminarnom ispitivanju su utvrđena i najbolja razrjeđenja otapala među ispitanim, pa su u radu dalje korištena 50 % i 75 %-tna otapala. Obzirom da su sva tri ispitana otapala dala zanimljive rezultate u preliminarnom ispitivanju, u radu su korištena sva tri otapala, odnosno eliminirano je jedno razrjeđenje (25 %) dok se broj korištenih otapala nije smanjio.

Tablica 1. Plan rada.

Plan rada						
voće	Otapalo					
	acetone		etanol		metanol	
višnja*	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
trešnja	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
šljiva	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
breskva	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
nektarina	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
marelica	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
drenjina*	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
ringlov	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %
japanska trešnja	50 %	75 %	50 %	75 %	50 %	75 %

* Napomena: uzorci višnje i drenjine u potpunosti su obrađeni u preliminarnom ispitivanju. Stoga su dobiveni rezultati opširniji jer se odnose na sva 3 omjera u 4 otapala (ovdje je uključena voda) te na tri razrjeđenja (25, 50 i 75 %).

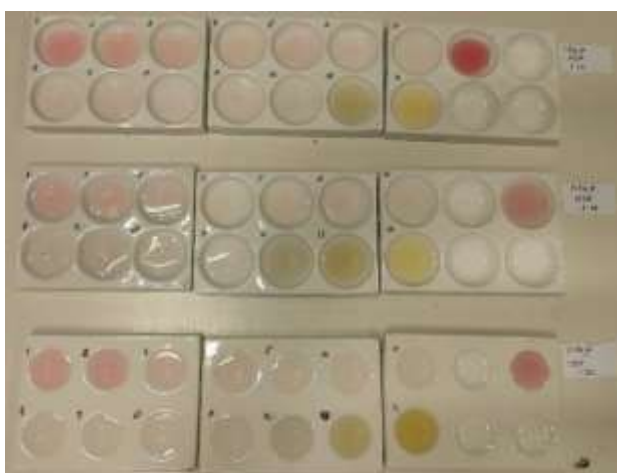
5. REZULTATI I RASPRAVA

5.1. Preliminarno ispitivanje

5.1.1. Višnja

Rezultati preliminarnog ispitivanja prikazani na Slikama 12.-18. odnose se na ispitivanje mogućnosti primjene svježe višnje kao alternativnog pH indikatora.

Indikator pripremljen od svježe višnje i vode pokazao se dobrim promjenama boja. Omjer 1 : 10 (Slika 12., gore) je intenzivnijih boja od ostalih omjera. Jasna je razlika boje u kiselim i bazičnim uvjetima jer je u kiselim uvjetima, $\text{pH} = 1-3$, ružičaste boje dok je u bazičnim uvjetima, $\text{pH} = 13$ je tamnije žute, a $\text{pH} = 14$ je žute boje.



Slika 12. Indikator pripremljen od svježe višnje i vode.

Gore – 1 : 10, sredina – 1:15 i dolje – 1 : 20.

Kod omjera 1 : 15 (Slika 12., sredina) u jako kiselom mediju, $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$, obojenje je vrlo nježne svijetlo ružičaste boje. U bazičnom mediju, pri $\text{pH} = 12$ otopina je svijetlo sivožute boje, kod $\text{pH} = 13$ je tamno žuta dok $\text{pH} = 14$ ima bistru žutu boju.

Omjer 1 : 20 (Slika 12., dolje) ima svijetlo ružičastu boju u jako kiselom mediju pri $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$. U jako bazičnom mediju, $\text{pH} = 12$ sive je boje, $\text{pH} = 13$ otopina je zelenožuta, a pri $\text{pH} = 14$ otopina ima intenzivno tamnije žuto obojenje.

Kod ovog preliminarnog ispitivanja omjeri 1 : 15 i 1 : 20 pokazali su se omjerima sa najviše promjena boja. Boje su u rasponu od ružičaste do sive, zelenožute i žute. Dakle, omjer 1 : 10 dao je za nijansu intenzivnije boje, ali je više boja uočeno pri većem razrjeđenju.

U slučaju indikatora pripremljenog od svježe višnje i čistog acetona, nije bilo puno promjena boja ili su neke promjene bile jedva primjetne. Omjeri 1 : 10 (Slika 13., gore) i 1 : 15 (Slika 13., sredina) bili su slični u rezultatima, dok je indikator u omjeru 1 : 20 (Slika 13., dolje) vrlo siromašan u promjenama boja.



Slika 13. Indikator pripremljen od svježe višnje i acetona.

Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje – 1 : 20.

Kod ispitivanja indikatora pripremljenog u omjeru 1 : 10 (Slika 13., gore) ističe se promjena u jako bazičnom mediju. Pri $\text{pH} = 12$ boja otopine je blijeda svijetlo žuta, $\text{pH} = 13$ ima svijetlo zelenožutu boju, a kod $\text{pH} = 14$ obojenje je vrlo bistre žute boje. Omjer 1 : 15 (Slika 13., sredina) pokazuje promjene u boji otopine i pri jako kiselom mediju, kod $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$, otopine su nježno svijetlo ružičastog obojenja. U jako bazičnoj sredini pri $\text{pH} = 12$ otopina je toliko blijedo žuta da se gotovo prozire, a kod $\text{pH} = 13$ je svijetlo zelenožute boje, dok pri $\text{pH} = 14$ otopina ima pastelno žutu boju. Kod omjera 1 : 20 (Slika 13., dolje) jedini rezultat koji je bio vidljiv je mutno bijelo zamućenje koje bi vrlo ubrzo nestalo.

Omjer 1 : 15 (Slika 13., sredina) pokazao je dobre promjene i u kiselom i bazičnom mediju i tako se istaknuo od ostala dva omjera. Međutim, aceton kao otapalo se nije posebno istakao, pogotovo ukoliko se usporedi s rezultatima dobivenima s vodom. Pitanje je hoće li smjesa acetona i vode dati bolje rezultate.

Indikator pripremljen od svježe višnje i čistog etanola u omjerima 1 : 10 (Slika 14., gore) i 1 : 15 (Slika 14., sredina) pokazao je vrlo intenzivne promjene boja. U omjeru 1 : 10 (Slika 14., gore) kod raspona pH = 1-7 vidi se ružičasto obojenje koje povećanjem pH vrijednosti postepeno posvjetljuje. U jako bazičnoj sredini kod pH = 12 otopina je poprimala sivu boju, pri pH = 13 boja je sivozelena, a boja pri pH = 14 pri samom dodatku indikatora bila je zelene boje, ali je vrlo brzo požutila.



Slika 14. Indikator pripremljen od svježe višnje i etanola.
Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje – 1 : 20.

Omjer 1 : 15 (Slika 14., sredina) također pri rasponu pH = 1-7 ima degradaciju ružičaste boje s povećanjem vrijednosti pH. U jako bazičnom mediju kod pH = 12 otopina je svijetlo sive boje, pH = 13 ima sivozelenu boju otopine, a pri pH = 14 otopina je zelenožuta. Omjer 1 : 20 (Slika 14., dolje) specifičan je po istaknutom sivoplavom bojom otopine pri pH = 7, što do sada nije bio slučaj kod ostalih. Također se primjećuje da u jako bazičnom okruženju, pri pH = 12, otopina ima vrlo svijetlo sivo obojenje, pri pH = 13, obojenje otopine je pastelno zeleno, a pri pH = 14, pastelno žuto.

U ovom setu indikatora s etanolom svi omjeri su pokazali dobre i jasne promjene u cijelom spektru pH vrijednosti. Omjer 1 : 20 (Slika 14., dolje) posebno se istaknuo sa svojom promjenom u pH = 7. Međutim, za daljnji rad su odabrani oni omjeri koji su u većini slučajeva dali bolje rezultate. Osim toga, pri izboru omjera vodilo se računa i o ekonomičnosti.

Indikator pripremljen od svježe višnje i čistog metanola imao je nešto slabiji intenzitet dobivenih promjena boja nego indikator pripremljen s etanolom. Međutim, postoji razlika u bojama u jako bazičnoj sredini, pH = 13-14, pri omjerima 1 : 10 (Slika 15., gore) i 1 : 15 Slika 15., (sredina) jer je boja pri pH = 14 na samom početku bila prvo intenzivno zelena, a nekoliko sekundi poslije žutozelena. Pri pH = 13 boja je ista kao i pri neposrednom dodatku indikatora, mutne sivozelene boje.



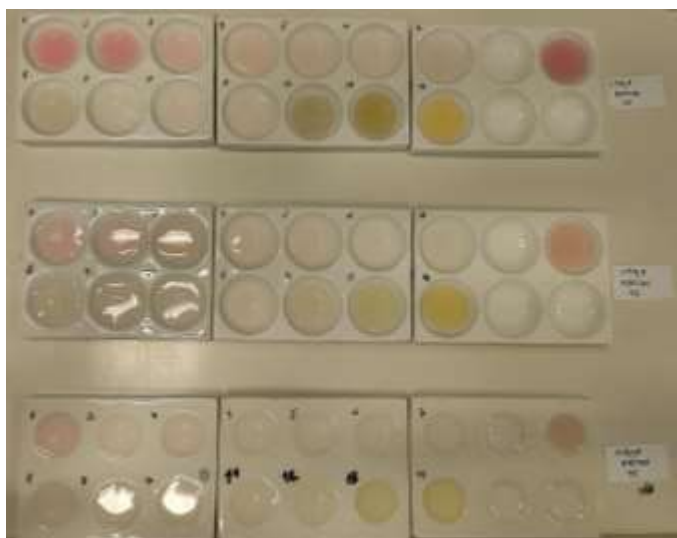
Slika 15. Indikator pripremljen od svježe višnje i metanola.

Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje – 1 : 20.

Kod ovog seta preliminarnog ispitivanja vidljivo je ružičasto obojenje u jako kiselom mediju, pH = 1-3, u sva tri omjera. Ono što se također ističe u slučaju 1 : 10 (Slika 15., gore) i 1 : 15 (Slika 15., sredina) omjerima je ljubičasto obojenje pri pH = 12. Kod omjera 1 : 20 (Slika 15., dolje) pri pH = 14 boja otopine je svijetlo zelena koja se nije mijenjala za razliku od ostalih omjera, dok je pri pH = 12 otopina svijetlo sive boje.

Kod ovog preliminarnog ispitivanja sva tri omjera pokazala su značajne rezultate. Ipak omjer 1 : 15 se može izdvojiti jer su rezultati dovoljno intenzivni i pokrivaju veći broj pH vrijednosti. Što se otapala tiče, etanol i metanol daju dobre rezultate, pogotovo kad se usporede s vodom. Aceton pak ne daje obećavajuće rezultate. Postavlja se pitanje hoće li razrjeđenje otapala s vodom dati bolje rezultate od čiste vode. Kako bi se utvrdio koji omjer otapala i vode daje najbolje i najuočljivije promjene, sljedeći rezultati (Slike 16.-18.) odnose se na pripremljene indikatore pripremljene s 3 različita postotka otapala (25 %, 50 % i 75 %-tni aceton, etanol i metanol).

Indikator pripremljen od svježe višnje i 25 %-tnog acetona (Slika 16., prvi red) u pripremljenim otopinama pH = 1-6 poprima ružičastu boju koja blijedi kako se pH vrijednost povećava. Raspon vrijednosti, pH = 7-9, ima vrlo nježno i svijetlo narančastožuto obojenje. U bazičnom okruženju, pri pH = 12-14 boja varira u žutim tonovima, s tim da su pri pH = 12 vidljive primjese sive boje, pri pH = 13 zelene, dok je pH = 14 izraženo žute boje. Primjetno je da je ovaj postotak acetona korišten u pripremi indikatora dao bolje rezultate od ostalih postotaka. Osim toga, dobiveni su rezultati su neusporedivo bolji u odnosu na čisti aceton.



Slika 16. Svježa višnja i aceton.

Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

Indikator pripremljen od svježe višnje i 50 %-tnog acetona (Slika 16., drugi red) ukazuje da indikator poprima blijedu ružičastu boju u jako kiseloj sredini, pH = 1-3, dok u području pH = 12-14 promjena boje je u nijansama žute. Također, može se primijetiti kako otopine pripremljenog indikatora, u neutralnoj sredini gube boju, tj. još je izraženije posvjetljenje iz početne blijedo ružičaste otopine. Osim toga, u bazičnom mediju je i dalje vidljiva razlika između pH = 12., pH = 13 i pH = 14, samo je slabijeg intenziteta u odnosu na 25 %-tni aceton.

Indikator pripremljen od svježe višnje i 75 %-tnog acetona (Slika 16., treći red) vidljivo je najmanjeg intenziteta obojenja. Najviše je vidljiva ružičasta boja kod otopine vrijednosti pH = 1 i žuta boja kod pH = 13 i pH = 14. Ostali dio vrijednosti ima dosta manja zamućenja i vrlo mali intenzitet obojenja. Ipak kiseli dio spektra ima ružičasti ton, dok se u

bazičnom dijelu spektra može vidjeti jako blag žut ton. Iako $\text{pH} = 7$ djeluje prozirno, ipak se naslućuje jako nježno obojenje.

Indikator od svježe višnje i 25 %-tnog etanola (Slika 17., prvi red) ima intenzivno obojanu početnu otopinu ružičaste boje. Primjećuje se slabljenje intenziteta obojanosti u neutralnoj sredini, pri $\text{pH} = 6-8$. U rasponu $\text{pH} = 1-5$, boja postupno blijedi pri povećanju pH vrijednosti. U bazičnom području $\text{pH} = 12-14$ promjena boje je u zelenu i žutu, što se razlikuje od početno pripremljene otopine i razlika je tu najuočljivija.



Slika 17. Svježa višnja i etanol.

Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

Indikator svježe višnje i 50 %-tnog etanola (Slika 17., drugi red) ima manji intenzitet promjene boje u odnosu na 25 %-tni etanol, ali je i dalje primjetan. Pri dodavanju indikatora u otopinu $\text{pH} = 14$ desila se promjena u zelenu boju, međutim boja se krenula mijenjati u blijedo žutu kao što je vidljiva na slici. Kod $\text{pH} = 12$ i $\text{pH} = 13$ obojenje je puno blaže nego u prethodnom slučaju ali je i dalje jasno vidljivo. Bitno je naglasiti da se zelena boja medija, neovisno u otapalu i postotku, stajanjem postepeno promijeni u žutu. Pri tome je žuta boja pri $\text{pH} = 14$ najjača u odnosu na $\text{pH} = 12$ i $\text{pH} = 13$.

Indikator od svježe višnje i 75 %-tnog etanola (Slika 17., treći red) ima promjene obojenja puno blažeg intenziteta. Ovdje je istaknutija blijedo žutozelena boja koja se pojavila pri $\text{pH} = 14$. U jako kiselom mediju, $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$, obojenje je vrlo nježne ružičaste boje. Kod $\text{pH} = 12$ vidi se svijetlo sivkasto obojenje, a pri $\text{pH} = 13$ otopina je svijetlo zelena te s vremenom požuti.

Indikator od svježe višnje i 25 %-tnog metanola (Slika 18., prvi red) vidljivo ima najveći raspon boja od ostalih pripremljenih indikatora sa svježom višnjom. Uočljiva je intenzivnije ružičasta boja koja prevladava u pH = 1-4 području, a u neutralnom pH području, točnije pH = 6-8, početna boja indikatora se ublažila (odnosno posvijetlila). Promjena boje najbolje se primjećuje na pH = 12-14 i mijenja se u ljubičastosivu pri pH = 12, zatim u zelenosivu kod pH = 13 i na kraju u tamnožutu pri pH = 14.



Slika 18. Svježa višnja i metanol.

Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

Indikator od svježe višnje i 50 %-tnog metanola (Slika 18., drugi red) sličnog je slučaja kao i indikator s 25 %-tnim metanolom, samo malo manjeg intenziteta obojenja. Ovdje je boja pri pH = 12 sivo-ljubičasta, ali jako blaga, pri pH = 13 tamnija, odnosno tamnije zelenosive boje. Pri pH = 14 boja je zelenožuta.

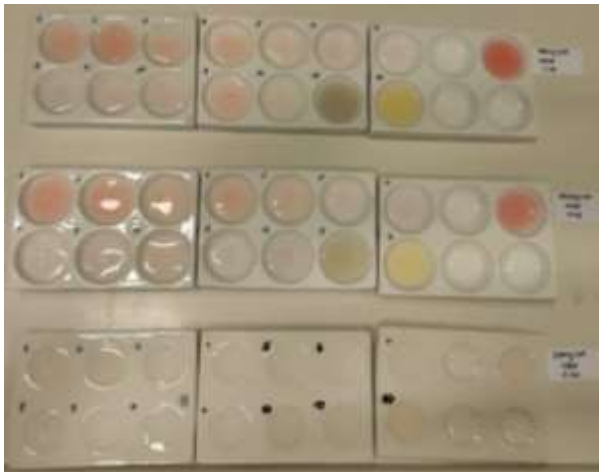
Indikator od svježe višnje i 75 %-tnog metanola (Slika 18., treći red) ima vidljivije promjene boje u jako kiselom mediju (pH = 1 i pH = 2, nježno roza, ružičasto obojenje) te u jako bazičnom mediju, pri pH = 12-14. Kod pH = 12 otopina je svijetlo siva, pri pH = 13 obojenje je sivozeleno, a pH = 14 ima izraženu zelenu boju.

Rezultati preliminarnog ispitivanja sa svježom višnjom pokazalo je da su razrjeđenja od 50 % i 75 % većinski dala najznačajnije promjene zbog čega su odabrana za daljnje ispitivanje. Iako su kod nekih otapala razrjeđenja od 25 % pokazala vrlo dobre rezultate, razrjeđenja od 50 % i 75 % ipak daju bolje rezultate jer imaju specifičnije promjene. npr. obojenje pri pH = 12 pri 50 %-tnom razrjeđenju ima svjetliju boju otopine nego što je ona kod 75 %-tnog razrjeđenja gdje je ona sivog obojenja i ne dolazi do izražaja. Prema

prethodno opisanim rezultatima i podacima o (poli)fenolnom profilu višnje (str. 4. i 5.) može se pretpostaviti da su za uočene promjene boja odgovorni antocijanini, tj. cijanidin-3-*O*-glukozil-rutinozid, cijanidin-3-*O*-rutinozid, peonidin-3-*O*-rutinozid i cijanidin-3-*O*-glukozid prisutni u plodu višnje [11]. Međutim, prema Ferretti i sur. (2010), višnja sadrži i određene količine karotenoida, točnije β -karotena, luteina i zeaksantina [45]. Ipak, promjene boje karakteristične za karotenoide ovdje nisu uočene (žuta boja u kiselom i crvena boja u bazičnom mediju). Stoga su za uočene boje vjerojatno odgovorni čalkoni (antocijanini), koji bazičnom mediju daju žute tonove.

5.1.2. Drenjina

Rezultati preliminarnog ispitivanja prikazani na Slikama 19.-25. odnose se na ispitivanje mogućnosti primjene svježe drenjine kao alternativnog pH indikatora. Indikator pripremljen od svježe drenjine i vode (Slika 19.) nije imao promjene boja kao ostali indikatori pripremljeni s acetonom, etanolom i metanolom, ali su omjeri 1 : 10 (Slika 19., gore) i 1 : 15 (Slika 19., sredina) pokazali bolji rezultat nego omjer 1 : 20 (Slika 19., dolje).



Slika 19. Indikator pripremljen od svježe drenjine i vode.

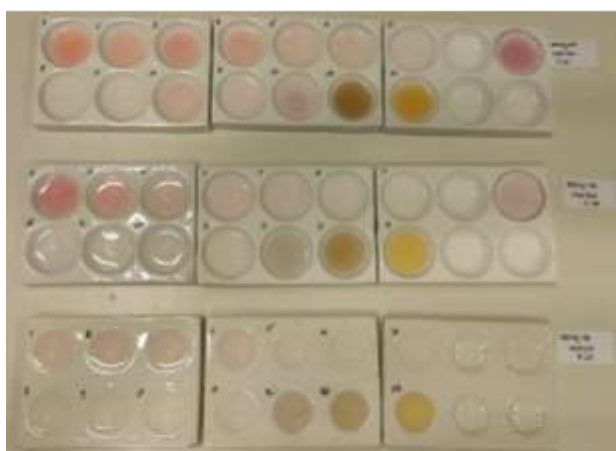
Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje 1 : 20

Omjer 1 : 10 (Slika 19., gore) ima vidljivo najjači intenzitet boja. U odnosu na početnu boju otopine koja je ružičasta, u jako kiselom mediju pH = 1 i pH = 2 vidno je svjetlija boja, tj. svijetlo ružičasta je. U području pH = 3-12 prevladava blijeda ružičasta boja dok je pH = 13 sivosmeđeg obojenja, a pH = 14 žute boje. Omjer 1 : 15 (Slika 19., sredina)

ima svjetlije nijanse za razliku od omjera 1 : 10, a pri pH = 13 otopina je svijetla smeđežuta i kod pH = 14 je pastelno žuto obojenje, dok je omjer 1 : 20 (Slika 19., dolje) pokazao jako blijeda obojenja. Od svih vrijednosti, jedina se ističe nježna narančasta otopina kod pH = 14.

Za razliku od indikatora pripremljenog s vodom, indikator pripremljen od svježe drenjine i čistog acetona (Slika 20.) pokazao je bolje promjene boja u različitim vrijednostima pH okruženja (zanimljivo je da to nije bio slučaj kada je indikator pripremljen s višnjom, Slika 13.). Početna boja pripremljenog indikatorima u epruvetama je bila posebnija od drugih indikatora, mliječno ružičaste boje.

Omjer 1 : 10 (Slika 20., gore) pokazao je najintenzivnija obojenja, a u svim omjerima vidljiva je razlika u bojama između kiselog i bazičnog medija koje prelaze iz ružičastog u žuto. Ono što se posebno ističe je razlika u intenzitetu boje u jako kiselom mediju, pH = 1--3, u sva tri omjera je drugačija. Kod omjera 1 : 20 (Slika 20., dolje) ono je najmanjeg intenziteta tj. vrlo blijeda ružičasta boja, dok se kod omjera 1 : 15 najviše ističe intenzivno ružičasto obojenje pri pH = 1 i 2. Omjer 1 : 10 pri pH = 10 ima posebno ružičasto obojenje s bijelom talogom.



Slika 20. Indikator pripremljen od svježe drenjine i acetona.

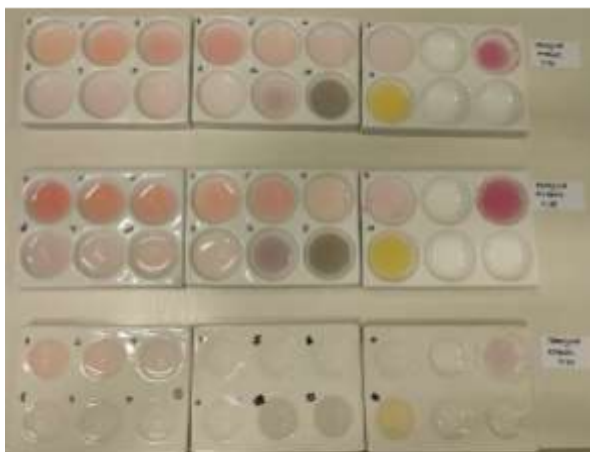
Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje 1 : 20.

Pri pH = 12 boja otopine je različita u sva tri omjera. Kod omjera 1 : 10 (Slika 20., gore) otopina je vrlo blijedog obojenja s nježno ružičastim talogom, kod omjera 1 : 15 (Slika 20., sredina) otopina je svijetlo siva, a omjer 1 : 20 (Slika 20., dolje) jedini ima svijetlo smeđe obojanu otopinu.

Sljedeći ispitivani indikator pripremljen je od svježe drenjine i čistog etanola (Slika 21.). Kod njega su najbolje rezultate dali omjeri 1 : 10 (Slika 21., gore) i 1 : 15 (Slika 21., sredina). Jasno je vidljiva promjena boja koje se kreću od ružičaste u kiseljoj sredini do sive i žute u bazičnoj sredini. Boja u pH = 14 pri samom dodatku indikatora bila je mutne zelenkaste boje, ali promjeni boju u intenzivno žutu. Intenzitet boje se smanjuje kako se povećava volumen otapala, ali je žuta boja u svim omjerima jasno vidljiva.

U slučaju pH = 13 vidljiva je sivkasto zelena boja koja je najizraženija u slučaju omjera 1 : 10, a najslabija u slučaju omjera 1 : 20 (iako vidljiva). Međutim, kada se promatra omjer 1 : 20, te se uspoređuju pH = 12 i pH = 13, jako teško se može uočiti razlika između njih (što nije slučaj u preostala dva omjera).

Ističe se i promjena pri pH = 12, kod omjera 1 : 10 (Slika 21., gore) ono ima svijetlo ružičastu boju s ljubičastim talogom, omjer 1 : 15 (Slika 21., sredina) pokazuje ljubičasto obojenje, a omjer 1 : 20 (Slika 21., dolje) ima blijedo ljubičasto obojenje.



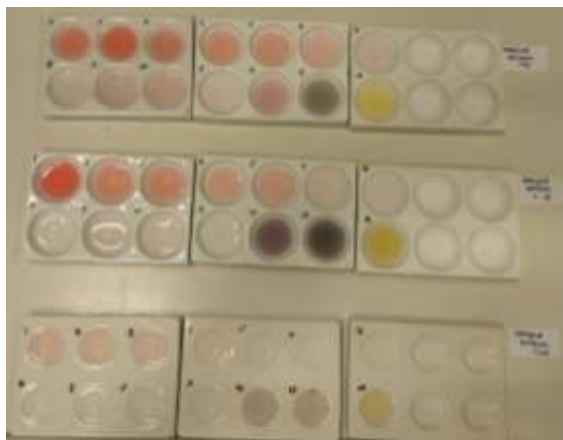
Slika 21. Indikator pripremljen od svježe drenjine i etanola.

Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje – 1 : 20.

Zadnji pripremljeni indikator preliminarnog ispitivanja pripremljen je od svježe drenjine i čistog metanola (Slika 22.). Od svih pripremljenih, ovaj indikator je imao najbolje promjene boja koje su bile intenzivnije od svih ostalih u omjeru 1 : 15 (Slika 22., sredina).

Ovdje je posebno vidljivo obojenje indikatora u intenzivnije ljubičasto pri pH = 12 i tamno sivo pri pH = 13. Boja indikatora pri pH = 14 bila je na samom početku plava koja je odmah prešla u zelenu, a na kraju u žutu boju koja se zadržala što je vidljivo na Slici 22. U ovom slučaju s metanolom otopine u rasponu pH = 1-3 imaju intenzivno crveno obojenje u

omjerima 1 : 10 (Slika 22., gore) i 1 : 15 (Slika 22., dolje), ali se ono najviše ističe u omjeru 1 : 15 (Slika 22., sredina).

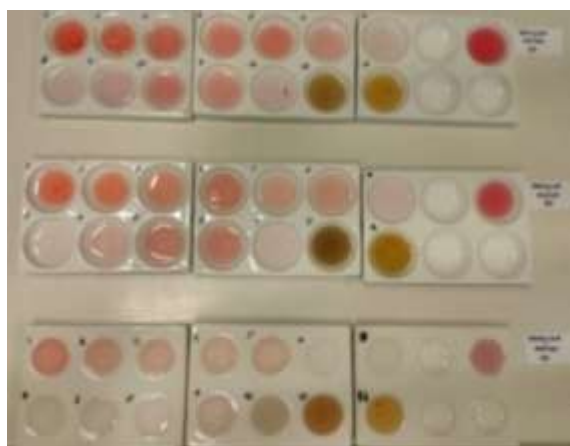


Slika 22. Indikator pripremljen od svježe drenjine i metanola.

Gore – 1 : 10, sredina – 1 : 15 i dolje – 1 : 20.

Promjena obojenja pri pH = 13 različita je u sva tri omjera. Kod omjera 1 : 10 (Slika 22., gore) ima sivo obojanu otčinu, omjer 1 : 15 (Slika 22., sredina) ima tamno sivu otčinu, dok omjer 1 : 20 (Slika 22., dolje) ima vrlo svjetlu sivu.

Rezultati prikazani na Slikama 23.-25. odnose se na indikatore pripremljene s 3 različita postotka (25 %, 50 %, 75 %) acetona, etanola i metanola.



Slika 23. Svježa drenjina i aceton.

Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

Pripremljeni indikator od svježe drenjine i 25 %-tnog acetona (Slika 23., prvi red) pokazao je dobre promjene boje s obzirom na početnu otopinu koja je crvenoružičasta (to je boja samog indikatora). U području pH = 1-5 izražena je ružičasta boja. Ta boja lagano posvjetljuje u pH = 6-9 te se opet pojačava u pH = 10 i pH = 11. Zanimljivo je što pri pH = 12 otopina postane blijedo ružičasta, a u području pH = 13 i pH = 14 boja postaje smeđežuta, s tim da je pri pH = 14 izraženiji dio žute boje (odnosno, postoji jasno vidljiva razlika između pH = 13 i pH = 14).

Indikator pripremljen od svježe drenjine i 50 %-tnog acetona (Slika 23., drugi red) pokazao se sličnim rezultatima kao i prethodni indikator napravljen s 25 %-tnim acetonom. Ovdje je otopina pri pH = 13 tamnije smeđeg obojenja u odnosu na rezultat dobiven s 25 %-tnim acetonom.

Indikator priređen od svježe drenjine, ali s najvećim udjelom acetona od 75 % (Slika 23., treći red), pokazao je slične rezultate kao prethodni, ali su obojenja slabijeg intenziteta. U jako kiselom mediju pH = 1 crvenoružičasta boja je najintenzivnija i postepeno posvjetljuje do pH = 5. U rasponu vrijednosti pH = 6-11 intenzitet obojenja je sve slabiji. Kod pH = 12 dolazi do sivog zamućenja otopine, a jako bazičnoj sredini pH = 13 boja je jantarna i kod pH = 14 boja je smeđežuta i tako najviše odskaču u cijelom opsegu pH vrijednosti.



Slika 24. Svježa drenjina i etanol.
Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

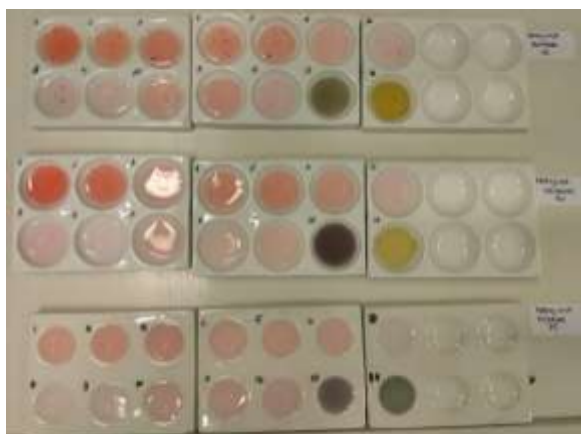
U slučaju indikatora napravljenog od svježe drenjine i 25 %-tnog etanola (Slika 24., prvi red) čija je početna boja otopine jarko ružičaste boje uočena je promjena u jako kiselom

mediju pH = 1 i pH = 2 u crvenoružičastu boju. U svjetlijim nijansama zadržava se na području pH = 3-6 nakon čega postaje još svjetlija do pH = 12. U jako bazičnom mediju, kod pH = 13 boja je tamno zelena, a kod pH = 14 otopina je tamno žuta.

Slučaj kod indikatora od svježe drenjine i 50 %-tnog etanola (Slika 24., drugi red) vrlo je sličan prethodnom s 25 %-tnim etanolom. Ovdje je boja intenzivnija pri pH = 13 jer je tamno sivozelena, a pri pH = 14 je zelenožuta. Kiseli medij je gotovo identičan prethodnom slučaju, a raspon pH = 6-12 ima blaže nijanse indikatora, ali ne toliko blage kao u prethodnom slučaju.

Indikator od svježe drenjine i 75 %-tnog etanola (Slika 24., treći red) drugačiji je od prethodnih već u samoj početnoj boji indikatora, njegova boja je nježno ružičasta. U jako kiselom mediju pH = 1-5 uočljivo je ružičasto obojenje, koje je s porastom pH sve nježnije. Nakon pH = 6 otopine su slabije obojane, ali s još vidljivom naznakom ružičaste boje. Takve su do pH = 12 kada se otopina potamni i mutnija je, dok u jako bazičnom mediju pri pH = 13 poprima sivkastu, a pri pH = 14 poprima žutu boju.

Kod indikatora pripravljenog od svježe drenjine i 25 %-tnog metanola (Slika 25., prvi red) zapaža se njegov prijelaz u jako bazični medij gdje pri pH = 13-14 boja varira od tamno zelene do žute. Otopine imaju svijetlo ružičastu boju u pH = 1-12 no vidi se da je ona najizraženija u jako kiselom mediju pri pH = 1-4.



Slika 25. Svježa drenjina i metanol.

Prvi red – 25 %, drugi red – 50 % i treći red – 75 %.

Indikator priređen od svježe drenjine i 50 %-tnog metanola (Slika 25., drugi red) pokazao je snažnu obojanost pri pH = 13 u tamnosivoj boji koja se ističe od ostalih boja. Kod pH = 14 boja je žuta.

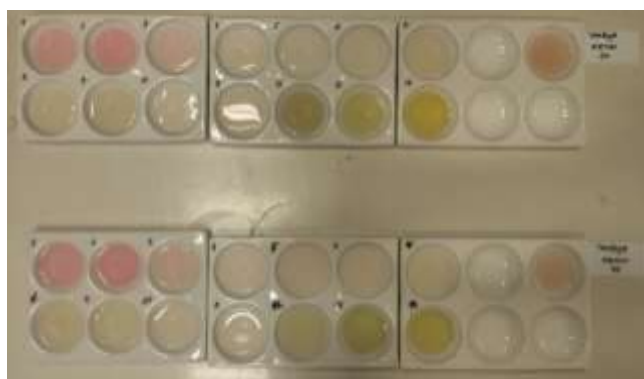
U slučaju indikatora napravljenog od svježe drenjine i 75 %-tnog metanola (Slika 25., treći red) otopine nemaju intenzivne boje kao što je slučaj s manjim postocima metanola. Ovdje je također jasno uočljiva razlika u pH = 13 i pH = 14 području gdje se ističu sivoplava i sivozelena boja.

Preliminarno ispitivanje sa svježom drenjinom ukazalo je da najbolje promjene daju indikatori pripremljeni s 50 % i 75 %-tnim otapalima. Kod onih priređenih s 50 %-tnim otapalom rezultati su pokazali najbolji spektar promjena. Ne treba zanemariti da se pri 50 % i 75 % najbolje uočavaju razlike i u jako bazičnom mediju pri pH = 13 i pH = 14. Boje otopina bile su izražene i u jako kiselom mediju, a postoje i neke promjene u neutralnijem području pH skale.

Svježa drenjina se pokazala kao dobar materijal za pripremu indikatora jer postoje jasne razlike u boji između jako kiselog i jako bazičnog medija, a osim toga i pojedine pH vrijednosti imaju specifičnu boju po kojoj se razlikuju od okolnih (ovisno o otapalu, to su najčešće pH = 12, pH = 13 i pH = 14). Spojevi koji su vrlo vjerojatno odgovorni za navedene promjene boja su cijanidin-3-*O*-glukozid, cijanidin-3-*O*-rutinozid, pelargonidin-3-*O*-galaktozid, pelargonidin-3-*O*-glukozid, peonidin-3-*O*-glukozid, petunidin-3-*O*-glukozid, delphinidin-3-*O*-galaktozid [46].

5.2. Trešnja

Slike 26.-28. prikazuju rezultate ispitivanja svježe trešnje kao mogućeg alternativnog pH indikatora.



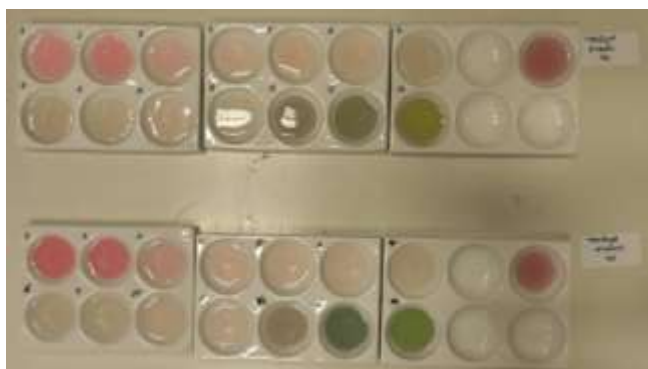
Slika 26. Svježa trešn

% i donji red – 75 %.

Indikator pripremljen od svježe trešnje i 50 %-tnog acetona (Slika 26., gornji red) ima svijetlo narančastu početnu boju otopine. U jako kiselom okruženju, pH = 1-3, boja se mijenja u ružičastu. U rasponu pH = 4-11 vidljiv je prijelaz u nježno žućkaste tonove. Pri pH = 12-14 boje se kreću od sivožute do žute i tako odskakuju od ostalih vrijednosti.

U slučaju indikatora svježe trešnje i 75 %-tnog acetona (Slika 26., donji red) vidljiva je promjena u kiselom okruženju, tj. pH = 1-3, u intenzivniju ružičastu boju. U pH = 12-14 boje se kreću od svijetlo žute do žute. Obzirom na intenzitet boja, možemo reći da je 50 %-tni aceton dao malo bolje rezultate.

Indikator pripremljen od svježe trešnje i 50 %-tnog etanola (Slika 27., gornji red) ima karakterističnu ružičastu boju u rasponu pH = 1-3, dok u pH = 12-14 rasponu imaju 3 različite boje. Pri pH = 12 obojenje je sivo, kod pH = 13 otopina je sivozelena, a pH = 14 ima žutozelenu otopinu. U području pH = 4-11 došlo je do promjene boje iz početne ružičaste otopine u blijedo ružičastu otopinu. Ove rezultati pokazuju da je ovaj indikator dobar kiselo-bazni indikator, ali i dobar pH indikator za jako bazno područje (zbog različite boje pri pH = 12, pH = 13 i pH = 14).



Slika 27. Svježa trešnja i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

Kod indikatora priređenog od svježe trešnje i 75 %-tnog etanola (Slika 27., donji red) pri pH = 1-3 vidno je jače obojenje nego kod indikatora s 50 %-tnim etanolom. Također su intenzivnije boje zelene u rasponu pH = 12-14 pa su tu boje kod pH = 13 tamno zelena i pri pH = 14 zelena.

Slika 28. prikazuje rezultate ispitivanja indikatora pripremljenog od svježe trešnje i metanola. Kao što se može vidjeti, indikator od svježe trešnje i 50 %-tnog metanola (Slika 28., gornji red) pri pH = 1-3 poprima ružičastu boju. U rasponu vrijednosti pH = 4-11 vidljivo

je svijetlo narančasto obojenje. Pri pH = 12 boja je sivkasta, pri pH = 13 sivozelena, a pri pH = 14 vidi se mutno žutozeleno o



Slika 28. Svježa trešn

% i donji red – 75 %.

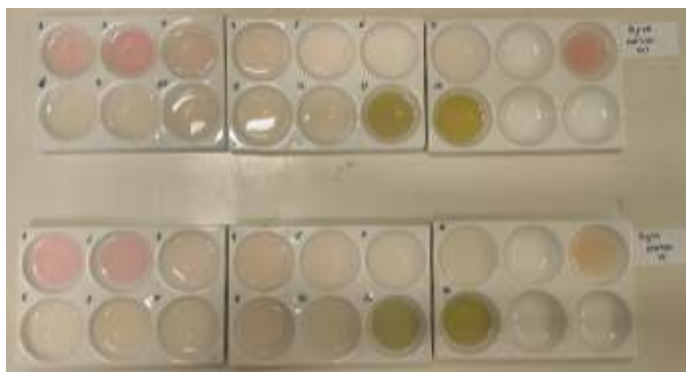
Kod indikatora pripremljenog od svježe trešnje i 75 %-tnog metanola (Slika 28., donji red) primjetne su promjene u bojama u području pH = 12-14. Tu je vidljiva sivoljubičasta boja pri pH = 12, dok je pri pH = 13 promjena u plavu boju. U pH = 14 vidi se promjena boje u zelenu. Intenzitet boje djeluje jači prilikom upotrebe 75 %-tnog metanola.

Za uočene promjene boje indikatora od svježe trešnje vjerojatno su odgovorni spojevi cijanidin-3-*O*-rutinozid (od svih ostalih najvećim udjelom prisutan u svježoj trešnji), cijanidin-3-*O*-glukozid i peonidin-3-*O*-rutinozid [16]. Cijanidini i peonidini proizvode boje s crvenim tonovima [44]. Ferretti i sur. (2010) su i u uzorcima trešnje utvrdili prisutnost β -karotena, luteina i zeaksantina, pri čemu je sadržaj β -karotena veći od ostalih karotenoida ali puno manji u odnosu na ukupne polifenole [45]. Iako su karotenoidi prisutni, zbog niske koncentracije ne dolaze do izražaja pa promjene boje specifične za njih u radu nisu uočene.

5.3. Šljiva

Na sljedećim slikama (Slika 29.-31.) prikazani su rezultati ispitivanja svježe šljive kao mogućeg alternativnog indikatora.

Indikator pripremljen od svježih šljiva i 50 %-tnog acetona (Slika 29., gornji red) ima blago ružičastu boju početne otopine koja postane intenzivnija pri pH = 1 i pH = 2. Sljedeća intenzivnija promjena boje zapaža se pri pH = 13 i pH = 14 gdje boja prelazi u oker žutu. Raspon pH = 3-12 jako posvijetli te se stvara bijelo замуćenje i zato do izražaja više dolaze ekstremi na pH skali.



Slika 29. Svježa šljiva i aceton. Gornji red – 50% i donji red – 75 %.

Kod indikatora priređenog od svježih šljiva i 75 %-tnog acetona (Slika 29., donji red) početna otopina ima nježnu narančastu boju. Ovdje je uočljivo ružičasto obojenje u otopinama pH = 1 i pH = 2 te zeleno i žutozeleno obojenje u pH = 13 i pH = 14.

Na Slici 30. u gornjem redu, ispitan je indikator pripremljen od svježe šljive i 50 %-tnog etanola. Promjene boja s ovim indikatorom malo su slabijeg intenziteta, ali su i dalje vidljive. Boje koje se odmah primjećuju su one u pH = 13 i pH = 14, sivožuta i žuta boja koje su uočljive jer je početna boja otopine indikatora crvenoružičasta. Od ostalih pH vrijednosti ističu se i nježno ružičaste boje u pH = 1 i pH = 2.



Slika 30. Svježa šljiva i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

Sljedeći indikator od svježe šljive i 75 %-tnog etanola (Slika 30., donji red) ima ružičastu boju početne otopine. U rasponu pH = 1-5 javlja se postojano ružičasto obojenje u različitim nijansama. U rasponu pH = 6-8 uočava se najmanja obojanost i bijelo zamućenje otopina, dok se kod pH = 9-11 nazire lagano, nježno ružičasto obojenje. Promjena boje je

kao i u ostalim slučajevima, najviše vidljiva u pH = 13-14, a u ovom slučaju je došlo do promjene u zelenu boju. Stajanjem boja polako žuti.

Kod indikatora pripremljenog od svježe šljive i 50 %-tnog metanola (Slika 31., gornji red) zapaža se promjena boje iz početne otopine nježne narančastoružičaste boje u svijetlo ružičaste tonove pri pH = 1 i pH = 2. Unutar intervala pH = 3-12 primjećuje se svijetlo žuto obojenje otopina. Pri pH = 13 i pH = 14 boje su tamnije, ali može se reći da se promjena dogodila iz početne narančastoružičaste u smeđežute boje. Boja u jako bazičnom mediju stajanjem polako sve više žuti.



Slika 31. Svježa šljiva i metanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

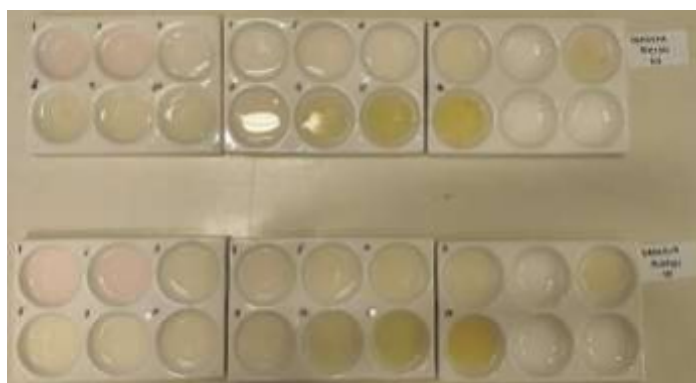
Indikator pripremljen od svježe šljive i 75 %-tnog metanola (Slika 31., donji red) dao je najuočljivije kontraste između dobivenih boja. U okviru raspona pH = 3-12 detektira se nježna ružičasta boja, dok boje pH = 13 i pH = 14 vidljivo odskakuju od ostalih jer su tamnoplavog i intenzivno zelenog obojenja. U jako kiselom okruženju, pH = 1 i pH = 2 boje su izrazito ružičaste.

Dobiveni rezultati za indikator pripremljen sa svježom šljivom pokazuju da šljiva zbog velikog udjela antocijanina koji se nalazi u kožici može biti alternativni indikator jer su jasne razlike u bojama u kiselom i bazičnom mediju. Spojevi koji su prisutni u šljivi i koji pridonose promjenama boja su cijanidin-3-*O*-rutinozid, cijanidin-3-*O*-glukozid i peonidin-3-*O*-rutinozid [21]. Prema Caha (2021) svježa šljiva pokazala je vizualno najuočljivije promjene boja pri pojedinim pH vrijednostima što je i ovdje slučaj [44].

5.4. Breskva

Slike 32.-34. prikazuju rezultate ispitivanja svježe breskve kao potencijalnog alternativnog pH indikatora.

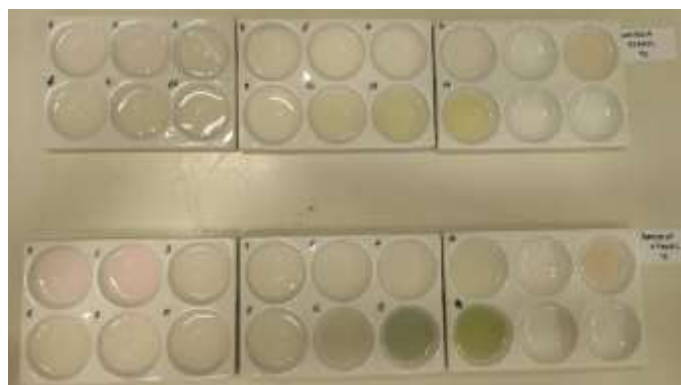
Indikator priređen od svježe breskve i 50 %-tnog acetona (Slika 32., gornji red) svijetlo narančaste je početne boje otopine. U pH = 1 i pH = 2 postoji blijedo ružičasto obojenje dok u rasponu pH = 3-11 otopine su nježno žućkasto (točnije bi bilo reći, „breskvasto“) obojane. Najviše do a u pH = 12-14, koja su sve jača što je pH veći.



Slika 32. Svježa bresk

% i donji red – 75 %.

Kod indikatora pripravljenog od svježe breskve i 75 %-tnog acetona (Slika 32., donji red) isti je slučaj kao i kod priređenog sa 50 %-tnim acetonom, samo što su boje blaže, odnosno nježnije.

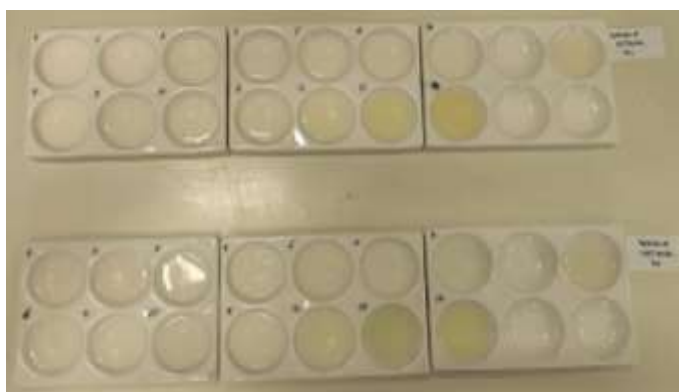


Slika 33. Svježa breskva i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

Na Slici 33., u gornjem redu jažica prikazan je indikator izrađen od svježe breskve i 50 %-tnog etanola. U ovom slučaju obojenja su vidljiva u cijelom pH području ali su nježna. Kiseli dio je nježno ružičaste boje, već pri pH = 4 pa do pH = 11 vidi se žuti ton, a samo u području pH = 12-14 vidi se jača žuta boja.

Kod indikatora pripravljenog od svježe breskve i 75 %-tnog etanola (Slika 33., donji red) početna otopine slabe narančaste boje imala je promjene u pH = 1 i pH = 2 u jako svijetlu ružičastu boju, a unutar intervala pH = 3-11 boja je jako blijeda žuta. Prvo zamućenje nakon jako blijedo obojanog intervala zamjećuje se u pH = 12, dok su pH = 13 i pH = 14 zelene boje vidljivo najznačajnije promjene u cijelom pH rasponu.

Pripremljeni indikatori od svježe breskve i 50 %-tnog metanola (Slika 34., gore) ili 75 %-tnog metanola (Slika 34., dolje) dali su gotovo jednake rezultate. Uz istu boju početne otopine – svijetlo žuta boja, u intervalu pH = 1-11 je prisutno vrlo blijeda svijetlo žuta boja (s tim da se u jako kiselom dijelu vide naznake ružičaste boje). Boja pri pH = 12 im je također ista, svijetlo žuta, a jedina razlika je što pri pH = 13 i pH = 14 boje variraju od žute do svijetlo zelene. Kod manjeg postotka metanola boje su u pH = 13 i pH = 14 nježno žute dok su kod većeg postotka metanola one više zelene. Ipak, u oba postotka se vidi razlika između pH = 13 i pH = 14.



Slika 34. Svježa bresk

% i donji red – 75 %.

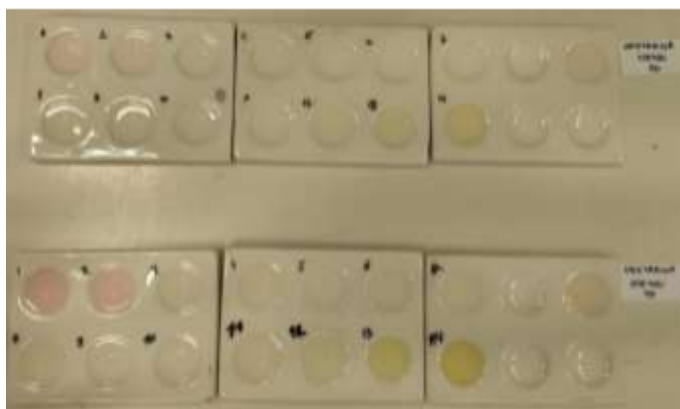
Pregledom *Phenol-Explorer* baze, nisu nađene informacije o sadržaju antocijanina u breskvi. Međutim, Zhao i sur. (2015) proveli su kvalitativno i kvantitativno ispitivanje sadržaja fenola u breskvi. Otkrili su u kori breskvi samo jedan antocijanin, cijanidin-3-*O*-glukozid [47]. Osim toga, u breskvi su utvrđeni karotenoidi, koji bi također mogli sudjelovati u uočenim promjenama boje. To su lutein, zeaksantin, β -kriptoksantin, α -karoten i β -karoten

[26]. Međutim, njihova je koncentracija vjerojatno preniska da bi boje došle do izražaja, zbog čega je obojanje koje ukazuje na karotnoide (kiselo – žuto, bazično – crveno [48]) izostalo a do izražaja dolazi obojanje koje ukazuje na antocijanine [48].

5.5. Nektarina

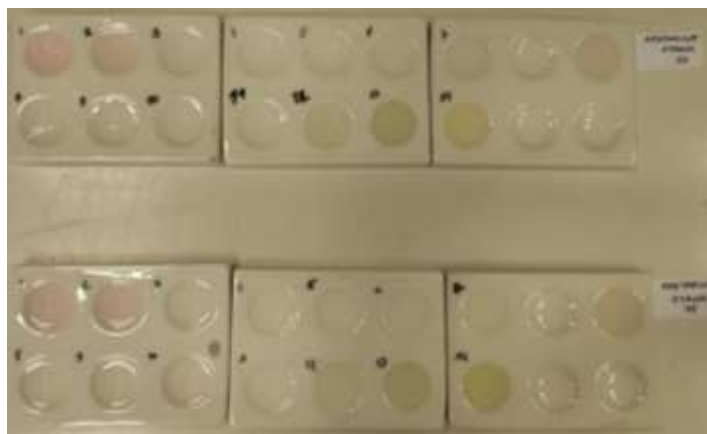
Rezultati ispitivanja prikazani na Slikama 35.-37. odnose se na ispitivanje svježe nektarine kao mogućeg prirodnog alternativnog pH indikatora.

Indikator pripremljen od svježe nektarine i 50 %-tnog acetona (Slika 35., gornji red) pokazao je uočljivu promjenu boju pri pH = 13 i pH = 14. Ostali raspon pH = 1-12 je bez značajnih promjena u odnosu na početnu boju otopine indikatora koji varira od jako svijetle ružičaste do blijede svijetlo žute boje. Ipak, jasno se vidi razlika u boji između jako kiselog i jako bazičnog medija.



Slika 35. Svježa nektarina i aceton. Gornji red – 50 % i donji red – 75%.

Kod pripreme indikatora od svježe nektarine i 75 %-tnog acetona (Slika 35., donji red) primjetne su promjene pri pH = 1 i pH = 2 u ružičastu boju. Ostale pH vrijednosti pH = 3-11 jako su blijedog obojenja koje jedva nazire svijetlu boju narančaste. Od pH = 12 postepeno se pojačava intenzitet zelene boje koji je najjači pri pH = 14. Ponovo, stajanjem zelena boja polako žuti.



Slika 36. Svježa nektarina i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

U slučaju indikatora pripremljenog od svježe nektarine te 50 % ili 75 %-tnog etanola (Slika 36.), rezultati su pokazali da su prema djelotvornosti ovi indikatori gotovo isti. Jedina razlika je o malo jačem intenzitetu nijanse ružičaste boje kod $\text{pH} = 1$ kod indikatora pripremljenog sa 50 %-tnim etanolom (gore) te jačem intenzitetu zelene boje pri $\text{pH} = 13$.

Indikator od nektarine i 50
uočljive promjene boja. Vidljive su

7., gore) nije dao značajno
ene kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$.



Slika 37. Svježa nektar

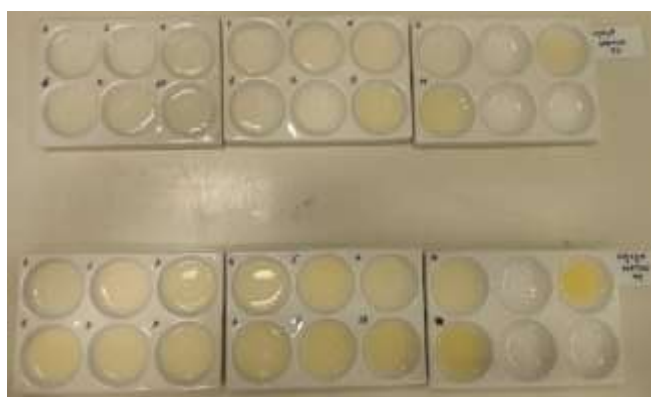
0 % i donji red – 75 %.

Kod indikatora od svježe nektarine i 75 %-tnog metanola (Slika 37., dolje) pokazala su se obojenja u nježno ružičastu boju pri $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$. U intervalu $\text{pH} = 3-12$ vidljivo je vrlo blijedo narančasto zamućenje, otopine su skoro pa prozirne. Vidljiva je promjena u zelenu kod $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$.

S obzirom da je svježa nektarina poput breskve siromašna u sadržaju antocijanina, rezultati se ne razlikuju značajno od indikatora pripremljenog od svježe breskve. Prisutan je samo malvidin-3,5-*O*-diglukozid u vrlo maloj količini [30]. Boja nektarine ukazuje na prisutnost karotenoida (α -karoten i α -kriptoksantin [48]) pa postoji mogućnost da su karotenoidi dijelom sudjelovali u uočenim promjenama boja. Međutim, uočeno obojenje sugerira na antocijanine [49], što upućuje na zaključak da je koncentracija karotenoida bila premala da bi došla do izražaja.

5.6. Marelica

Sljedeće slike (Slike 38.-40.) prikaz su rezultata ispitivanja potencijala svježe marelice kao alternativnog pH indi



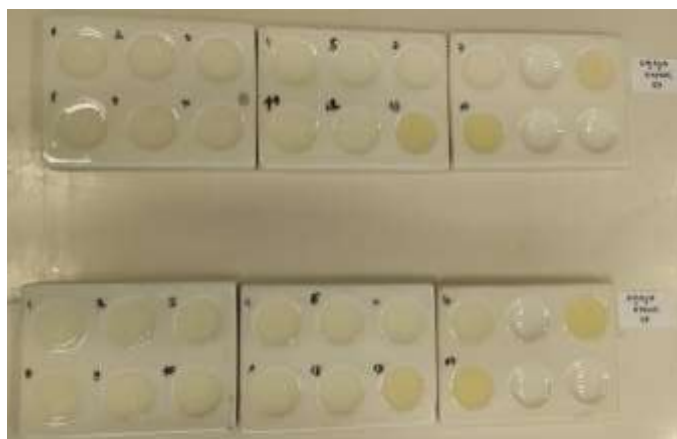
Slika 38. Svježa mare

% i donji red – 75 %.

Pripremljena otopina indikatora od svježe marelice i 50 %-tnog acetona (Slika 38., gornji red) početne je nježno žute boje. Ta boja se gubi u još svjetliju i teže primjetnu svijetlo žutu u rasponu pH = 1-12. Pojavilo se svijetlo žuto obojenje u pH = 13 i pH = 14.

Kod otopine indikatora svježe marelice i 75 %-tnog acetona (Slika 38., donji red) uočljiva je žuta boja kroz cijeli opseg pH vrijednosti, no pri pH = 12 – 14 obojenje je malo intenzivnije.

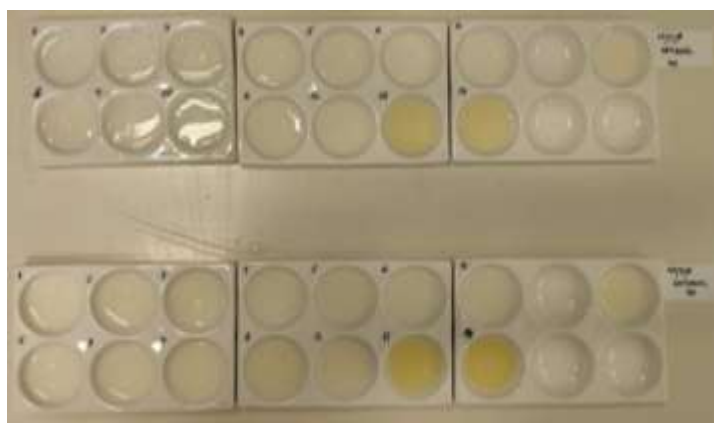
Indikator priređen od svježe marelice i 50 %-tnog etanola (Slika 39., gore) ne pokazuje veće promjene u bojama. U okviru raspona pH = 1-12 vidljivo je da su otopine jako blijede žute boje, dok pri pH = 13 i pH = 14 svijetlo žuta boja je uočljiva i tako jedino u jako bazičnom mediju postoji blaga promjena.



Slika 39. Svježa marelica i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

U slučaju indikatora priređenog od svježe marelice i 75 %-tnog etanola (Slika 39., dolje) nema drugačijih rezultata od indikatora sa 50 %-tnim etanolom. Također se javlja žućkasto obojenje samo u jako bazičnom okruženju.

Kod indikatora pripremljenih od svježe marelice i metanola (50 % i 75 %), rezultati nemaju gotovo nikakve razlike. U intervalu pH = 1-12 otopine su vrlo blijede žute boje. Samo u jako bazičnom mediju pH = 13 i pH = 14 javlja se žuto obojenje koje je za nijansu intenzivnije s indikatorom priređenim s 75 %-tnim metanolom.



Slika 40. Svježa marelica i metanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

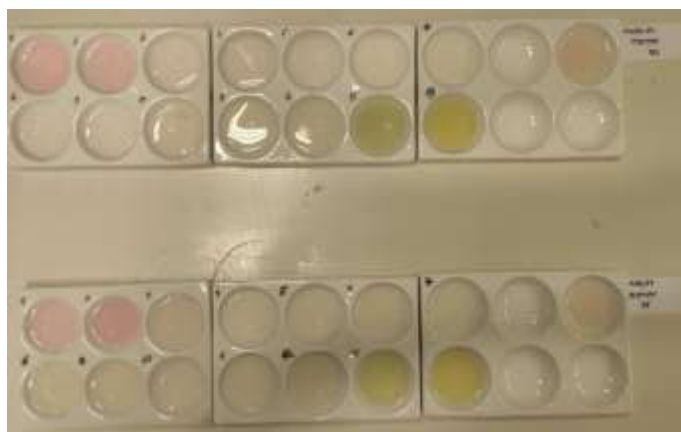
Pregledom *Phenol-Explorer-a*, za svježju marelicu nije utvrđen kvalitativni i kvantitativni sastav (poli)fenola. Međutim, Bureau i sur. (2009) utvrdili su prisutnost 3 antocijanidina u plodovima marelice, i to cijanidin-3-*O*-rutinizida (prisutan u najvećoj

koncentraciji), cijanidin-3-*O*-glukozida i peonidin-3-*O*-rutinozida [50]. Osim toga, Kurz i sur. (2008) utvrdili su karotenoide prisutne u marelici (lutein, zeaksantin i β -karoten) [51]. Međutim, karotenoidi u kiselom mediju daju žute tonove, dok u bazičnom crvene [48] što nije uočeno u ovom radu. Stoga je žuta boja u bazičnom dijelu vjerojatno rezultat prisutnih antocijanina (čalkonski oblik koji daje žutu boju u jako bazičnom mediju [48]).

5.7. Ringlov

Rezultati ispitivanja o potencijalnoj primjeni ringlova kao pH indikatora prikazani su na Slikama 41.-43.

Indikator pripremljen od svježeg ringlova i 50 %-tnog acetona (Slika 41., gore) i indikator sa 75 % acetona (Slika 41., dolje) pokazali su jednake rezultate. U okviru raspona pH = 3-12 otopine su jako blijede svijetlo narančaste boje. Otopine su bolje obojane u ekstremnim uvjetima kiselog i bazičnog medija. Tako pri pH = 1 i pH = 2 otopine imaju nježno ružičastu boju, dok je pri pH = 14 nježno žuta boja.

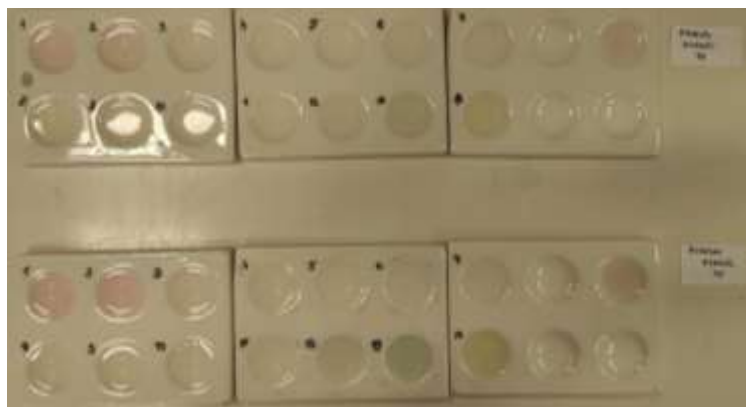


Slika 41. Svježi rin

i donji red – 75 %.

U slučaju indikatora priređenog od svježeg ringlova i 50 %-tnog metanola (Slika 42., gornji red) promjene boja u otopinama jedva su uočljive.

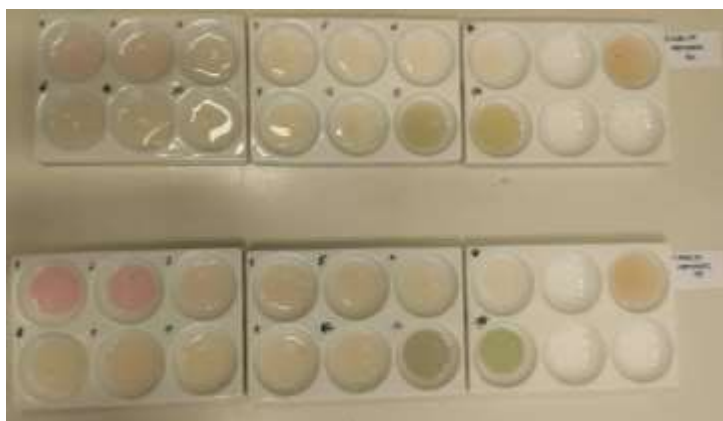
Vidljivo je da su u rasponu pH = 3-12 otopine gotovo pa providne koliko su svijetle nijanse. Vrlo male promjene, ali dovoljne da bi se istaknule primjećuju se kod pH = 1-2 gdje je boja otopine jako svijetlo ružičasto. Takve su promjene i kod pH = 13 gdje otopina izgleda kao da se malo zamutila te kod pH = 14 vrlo svijetla nijansa žute boje.



Slika 42. Svježi ringlov i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

Kod indikatora napravljenog od svježeg ringlova i 75 %-tnog etanola (Slika 42., donji red) rezultati su vrlo slični kao i kod indikatora sa manjim udjelom etanola. Samo je uočljiv za par nijansi jači intenzitet boja u jako kiselom i jako bazičnom mediju.

Indikator priređen od svježeg ringlova i 50 %-tnog metanola (Slika 43., gornji red) ima početnu otopinu svijetlo narančaste boje. Promjena boje otopina je u jako svijetlim nijansama. Unutar intervala $\text{pH} = 1-12$ otopine su vrlo svijetle narančaste boje . Kod $\text{pH} = 13-14$ otopine su vrlo svijetle smeđežute boje.



Slika 43. Svježi ringlov i metanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

Kod indikatora priređenog od svježeg ringlova i 75 %-tnog metanola (Slika 43., donji red) primjećuje se promjena boja otopine u odnosu na početnu pri intervalu $\text{pH} = 1-2$ koji je poprimio svijetlo ružičastu boju. U okviru $\text{pH} = 3-12$ otopine poprimaju blijedu nijansu

narančaste. Zelena boja još je jednom karakteristična otopinama u $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ vrijednosti.

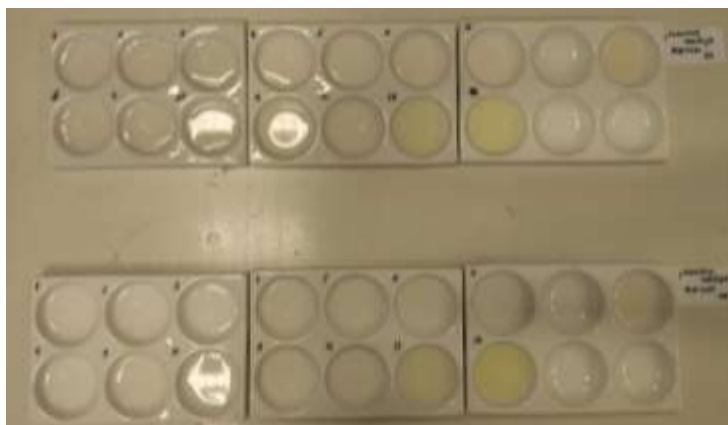
Za kvalitativan (i kvantitativan) sastav svježeg ringlova nisu dostupni detaljni podaci, međutim rezultati pokazuju da sadrži određeni tip i količinu antocijaninskih pigmenata koja je bila dovoljna za indicaciju jako kiselog i jako bazičnog medija.

5.8. Japanska trešnja

Indikatori priređeni sa svježom japanskom trešnjom i različitim udjelima acetona, etanola i metanola u svakom su ispitivanju dali gotovo jednake rezultate (Slika 44.-46.).

Kod indikatora pripravljenog od svježe japanske trešnje i 50 %-tnog acetona (Slika 44., gore) i indikatora sa 75 %-tnim acetonom (Slika 44., dolje) rezultati su vrlo slični.

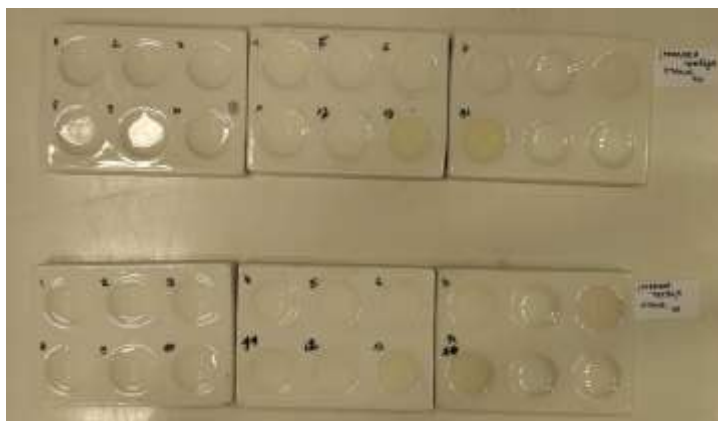
Početne otopine indikatora su svi = 1-12 sve su otopine jako blijedo obojane. Uočljiva je jača 14.



Slika 44. Svježa japansk

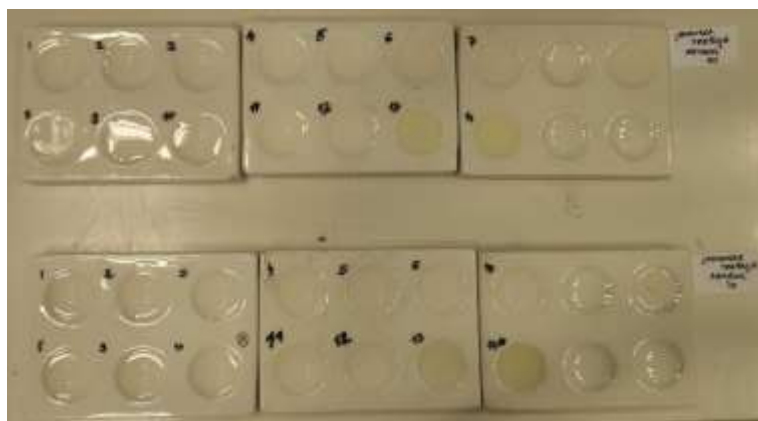
50 % i donji red – 75 %.

Indikator priređen od svježe japanske trešnje i 50 %-tnog etanola (Slika 45., gore) i indikator sa 75 %-tnim etanolom (Slika 45., dolje) daju iste rezultate počevši od same boje početne otopine koja je svijetlo narančasta. U opsegu vrijednosti $\text{pH} = 1-12$ nema uočljive boje koja bi se mogla opisati, već samo vrlo blaga zamućenja. Pojava boje vidljiva je tek pri $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ i to svijetlo zelena boja.



Slika 45. Svježa japanska trešnja i etanol. Gornji red – 50 % i donji red – 75 %.

U slučaju indikatora napravljenog od svježe japanske trešnje i 50 %-tnog metanola (Slika 46., gore) i indikatora sa 75 %-tnim metanolom (Slika 46., dolje) početna boja otopine je najmanje pigmentirana od svih ra. Obojenje se pojavljuje tek kod pH = 13 i pH = 14 i svijet



Slika 46. Svježa japansk 50 % i donji red – 75 %.

S obzirom da za japansku trešnju nema dovoljno podataka (točan sastav), može se samo pretpostaviti da svježa japanska trešnja sadrži vrlo malu količinu (poli)fenola . Potpuno drugačiji potencijal imaju sušene japanske trešnje. Prema Glavaš (2022) sušena japanska trešnja ima dobar potencijal kao alternativni indikator pH vrijednosti jako bazičnih otopina. Boje otopina drastično su različite, obojenja su izražene narančaste i smeđe boje za razliku od svježe japanske trešnje čije su boje jedva primjetne. Suha japanska trešnja u acetonu i etanolu pokazala je promjenu boje koja je pri pH = 1-13 žuta, a kod pH = 14 je smeđa [3].

Prema Caha (2021) je japanska trešnja pokazala potencijal primjene jedino kada se iskoristi njezino lišće. Stari list pokazao je vrlo intenzivno ružičastu boju pri $\text{pH} = 1$ i $\text{pH} = 2$, a u jakim bazama pri $\text{pH} = 13$ obojenje je zeleno, a $\text{pH} = 14$ ima žuto obojenje. Mladi list je u jakim bazama $\text{pH} = 12$ i $\text{pH} = 13$ rezultirao zelenim bojama [44].

6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju se proučila efikasnost odabranog svježeg koštičavog voća kao alternativnog pH indikatora. Ispitano je 9 vrsta svježeg koštičavog voća. Proučavano je i kakav značaj imaju odabrana otapala (aceton, etanol i metanol) u pripremi ovih indikatora. Rezultati ispitivanja provedenih na svježim višnjama, trešnjama i šljivama pokazali su značajne i uočljive promjene boja, iako se mora između njih istaknuti šljiva koja se pokazala vrlo uspješnim indikatorom. Tim rezultatima pridonosi činjenica da šljiva sadrži visok udio antocijanina. Promjene boje bile su naročito izražene u $\text{pH} = 13$ i $\text{pH} = 14$ što ukazuje na njihovu efikasnost kao indikatora za bazične otopine. Također su primijećene manje promjene boja u kiselom mediju (u usporedbi s bojom indikatora). Pri neutralnom mediju vidno je posvjetljenje za razliku od početne boje indikatora. Ovi rezultati pokazuju da su ove tri vrste koštičavog voća dobri kiselobazni indikatori.

Breskva i nektarina dale su malo slabije, ali ipak primjetne promjene u boje koje ukazuju da breskva i nektarina mogu poslužiti kao indikatori jakih kiselina i jakih baza. Marelica je dala rezultate koji su upečatljivi po nijansama žute boje u bazičnom mediju, dok se u kiselom mediju nije posebno istakla. Stoga bi mogla koristiti kao prirodni indikator jako bazičnog medija.

Istraživanje sa svježom drenjinom, pokazalo je njen potencijal kao dobrog kiselobaznog indikatora. Slično kao i u prethodnim rezultatima, najizraženije promjene su primijećene u jako kiselom i jako bazičnom mediju.

Boja ploda ringlova, sugerirala je visoku koncentraciju pigmenata pa bi ringlov mogao biti dobar pH indikator. Međutim, indikator pripremljen od ringlova dao je zanimljiva obojenja samo kod jako kiselih ili jako bazičnih medija. Najbolji rezultat dao je uz dodatak acetona.

Svježa japanska trešnja od svih koštičavih voćki imala je najmanje vidljive promjene boja u otopinama te je u svim omjerima otapala pokazala iste rezultate. Međutim, čak i ovako pripremljen indikator može poslužiti kao kiselobazni indikator obzirom na jasnu razliku između jako kiselog i jako bazičnog medija.

Ovo ispitivanje pokazuje kako odabrano svježe koštičavo voće može poslužiti kao alternativni pH indikator. Dobiveni rezultati mogu poslužiti za konkretnu pripremu indikatora za primjenu npr. u školi, ali i kao temelj za daljnja ispitivanja. Naime, treba naglasiti da bi pojedini biljni materijal mogao dati bolje rezultate ukoliko se koristi veća masa biljnog materijala, druga otapala, duže vrijeme ekstrakcije. Možda bi se i zagrijavanje

moglo pokazati korisnim. Stoga pojedine biljne materijale ne treba odbaciti samo na temelju ovdje pokazanih rezultata, već treba kreirati dodatno ispitivanje koje bi uključilo druge čimbenike koji bi mogu utjecati na učinkovitost pripremljenih indikatora.

7. LITERATURNI VRELA

- [1] K. Bilić, Istraživanje biljnog materijala kao potencijalnog kiselo–baznog indikatora, diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Osijek, 2020.
- [2] D. Kantoci, *GZB* (2008), 31: 6-13.
- [3] D. Glavaš, Ispitivanje primjene suhog koštuničavog voća kao kiselo-baznog indikatora, završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Osijek, 2022.
- [4] https://www.researchgate.net/publication/373017638_The_role_of_environmental_stress_in_fruit_pigmentation (1. 9. 2023.)
- [5] P. Nath, M. Bouzayen, A. K. Mattoo, J. C. Pech, Fruit ripening: physiology, signalling and genomics, CABI Digital Library, 2014.
- [6] <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/opca-svojstva-i-podjela-voca-i-povrca> (1. 7. 2023.)
- [7] <https://www.plantea.com.hr/visnja/> (1. 7. 2023.)
- [8] <https://www.woodlandtrust.org.uk/trees-woods-and-wildlife/british-trees/a-z-of-british-trees/sour-cherry/> (1. 7. 2023.)
- [9] <https://www.gardenia.net/plant/prunus-cerasus-montmorency> (1. 7. 2023.)
- [10] <http://phenol-explorer.eu> (1. 7. 2023.)
- [11] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/47> (1. 7. 2023.)
- [12] <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/cd/Anthocyanidine.svg/300px-Anthocyanidine.svg.png> (1. 7. 2023.)
- [13] <https://www.plantea.com.hr/tresnja> (4. 7. 2023.)
- [14] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5872786/> (4. 7. 2023.)
- [15] <https://www.gardenia.net/plant/prunus-avium-stella> (4. 7. 2023.)
- [16] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/46> (4. 7. 2023.)
- [17] https://en.wikipedia.org/wiki/Flavonols#/media/File:Flavonol_num.svg (4. 7. 2023.)
- [18] <https://www.plantea.com.hr/sljiva/> (4. 7. 2023.)
- [19] <https://www.podravka.hr/namirnica/3ff4a970-610e-11eb-8688-0242ac120056/sljiva/> (4. 7. 2023.)
- [20] E. O. Igwe, K. E. Charlton, *Phytother Res.* (2016), 30: 701-731.
- [21] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/50> (5. 7. 2023.)
- [22] <https://www.plantea.com.hr/breskva/> (5. 7. 2023.)
- [23] <https://www.gardenia.net/plant-variety/prunus-persica> (5. 7. 2023.)

- [24] <https://njaes.rutgers.edu/sshw/message/message.php?p=Health&m=301> (5. 7. 2023.)
- [25] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/44> (5. 7. 2023.)
- [26] B. Zhao, M. Sun, J. Li, Z. Su, Z. Cai, Z. Shen, R. Ma, J. Yan, M. Yu, *Foods* (2022), 11: 1669
- [27] <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/nektarina-21/> (5. 7. 2023.)
- [28] <https://mygardenlife.com/plant-library/nectarine-fantasia-prunus-persica-varnucipersica> (5. 7. 2023.)
- [29] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/nectarinebenefits?c=1203843385680#health-benefits> (5. 7. 2023.)
- [30] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/55> (5. 7. 2023.)
- [31] <https://www.plantea.com.hr/marelica/> (30. 8. 2023.)
- [32] <https://www.glas-koncila.hr/marelica-u-obnovi-organizma-sadrze-nekoliko-puta-vise-kalija-nego-banana/> (30. 8. 2023.)
- [33] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/apricot-benefits> (30. 8. 2023.)
- [34] <http://phenol-explorer.eu/contents/food/54> (30. 8. 2023.)
- [35] W. Zhou, Y. Niu, X. Ding, S. Zhao, Y. Li, G. Fan, S. Zhang, K. Liao, *Food Chem.* (2020), 330: 127223.
- [36] <https://www.plantea.com.hr/drijen> (30. 8. 2023.)
- [37] https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fpowo.science.kew.org%2Ftaxon%2Furn%3Aisid%3Aipni.org%3Anames%3A271612-1&psig=AOvVaw19eGCGYFfyYQeC53_1Qujb&ust=1694452340389000&source=image&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBAQjRxqFwoTCJjC4YDFoIEDFQAAAAAdAAAAABAJ (30. 8. 2023.)
- [38] Z. Kaya, I. Koca, *Mid Blac Sea Journal of Health Sci.* (2021), 7: 154-162.
- [39] <https://www.plantea.com.hr/zerdelija/> (30. 8. 2023.)
- [40] <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fpowo.science.kew.org%2Ftaxon%2Furn%3Aisid%3Aipni.org%3Anames%3A729568-1&psig=AOvVaw3dwgOTSBjCCEgq0JP7RLgo&ust=1694455429572000&source=image&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBAQjRxqFwoTCIjiusHQoIEDFQAAAAAdAAAAABAJ> (30. 8. 2023.)
- [41] https://www.e3sconferences.org/articles/e3sconf/pdf/2021/58/e3sconf_efsc2021_04008.pdf (31. 8. 2023.)
- [42] <https://www.plantea.com.hr/japanska-tresnja/> (31. 8. 2023.)
- [43] <https://www.vrtlarica.com/japanska-tresnja/> (15. 9. 2023)

- [44] V. Caha, Istraživanje primjene odabranih biljaka iz porodice Rosaceae kao alternativnih pH indikatora, diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, Osijek, 2021.
- [45] G. Ferretti, T. Bacchetti, A. Belleggia, D. Neri, *Molecules* (2010), 15: 6993-7005.
- [46] H. M. Bayram, S. A. Ozturkcan, *J. Funct. Foods* (2020), 75: 104252.
- [47] X. Zhao, W. Zhang, X. Yin, M. Su, C. Sun, X. Li, K. Chen, *Int. J. Mol. Sci.* (2015), 16: 5762-5778.
- [48] M. Alizadeh-Sani, E. Mohammadian, J. W. Rhim, S. M. Jafari, *Trends Food Sci Technol.* (2020), 105: 93-144.
- [49] M. I Gil, F. A Tomás-Barberán, B. Hess-Pierce, A. A Kader, *J. Agric. Food Chem.* (2002), 50: 4976–4982.
- [50] S. Bureau, C. M.G.C. Renard, M. Reich, C. Ginies, J. M. Audergon, *LWT - Food Sci. Technol.* (2009), 42: 372-377.
- [51] C. Kurz, R. Carle, A. Schieber, *Food Chem.* (2008), 110: 522-530.