

Utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu paste od jagoda

Kopjar, Mirela

Doctoral thesis / Disertacija

2007

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:082719>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet

Mirela Kopjar

**UTJECAJ DODATKA TREHALOZE
NA KVALITETU PASTE OD JAGODA**

Doktorski rad

Osijek, siječanj, 2007.

UDK: 634.75+547.458.2:663.051

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Institucija u kojoj je rad izrađen: Prehrambeno tehnološki fakultet
Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku
Biotehničkom fakultetu
Sveučilište u Ljubljani

Voditelj: dr.sc. Vlasta Piližota, red.prof.

Broj stranica: 130

Broj slika: 68

Broj tablica: 35

Broj literaturnih referenci: 141

Datum obrane: 19. 01. 2007.

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. dr.sc. Janez Hribar, red. prof. - predsjednik
2. dr.sc. Vlasta Piližota, red. prof. - član-voditelj
3. dr.sc. Drago Šubarić, red. prof. - član
4. dr. sc. Marjan Simčič, doc. - zamjena člana

Rad je pohranjen u:

Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku,
Kuhačeva 18,
Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb,
Sveučilištu u Rijeci, Riječke revolucije 7,
Sveučilištu u Splitu, Livanjska 5
Sveučilištu u Osijeku, Trg Sv. Trojstva 3.

Tema rada prihvaćena je na VII. (sedmoj) sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta, Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku održanoj 9. ožujka 2006. godine.

SAŽETAK

UTJECAJ DODATKA TREHALOZE NA KVALITETU PASTE OD JAGODA

Zahtjevi potrošača za što kvalitetnijim prehrambenim proizvodima danas su izraženiji nego ikada. Kako bi se udovoljilo zahtjevima potrošača, velika pažnja se posvećuje razvoju novih proizvoda ili pak poboljšavanju svojstava, a time i kvalitete, već postojećih proizvoda (npr. dodatkom različitih sastojaka, poboljšanjem procesa proizvodnje, uključujući pakiranje i drugo). Najznačajniji čimbenici kvalitete su aroma, boja i tekstura.

Paste od jagoda se koriste kao punilo za čokolade, energetske pločice i druge proizvode koji sadrže voće. U industriji se paste od jagode pripremaju procesom evaporacije i bez dodatka šećera trehaloze. Kako bi se poboljšala kvaliteta voćne paste osim industrijskog postupka pripreme upotrijebljena je i liofilizacija, te je ispitivan utjecaj dodatka različitih koncentracija trehaloze na aromu, teksturu, boju, sadržaj antocijana i antioksidativna aktivnost. Također je praćen utjecaj različitih načina pakiranja (u atmosferi dušika i u zraku) tijekom skladištenja na sobnoj temperaturi tijekom 5 mjeseci na aromu, boju i teksturu.

Trehaloza je jedan od najstabilnijih šećera. S obzirom da je razvijen enzimski proces njezine proizvodnje koji je uvelike smanjio njenu cijenu, očekuje se sve veća primjena trehaloze u prehrambenoj industriji zbog njezinog pozitivnog djelovanja na različita svojstva kvalitete proizvoda.

Dodatak trehaloze uzrokovao je promjenu svojstava paste od jagode bez obzira jesu li uzorci bili podvrgnuti evaporaciji ili liofilizaciji u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze. Sadržaj voćnih estera se je povisio dodatkom trehaloze u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze. Trehaloza je također pozitivno djelovala na teksturu, očuvanje boje i sadržaj antocijana u uzorcima.

Liofilizirani uzorci su bili kvalitetniji u odnosu na uzorke proizvedene evaporiranjem. Sadržaj voćnih estera, očuvanje boje i sadržaj antocijana je bio veći u liofiliziranim uzorcima nego u evaporiranim.

Nakon skladištenja (5 mjeseci), uzorci s dodanom trehalozom su i dalje imali veći sadržaj voćnih estera i antocijana.

Ključne riječi: paste od jagoda, dodatak trehaloze, evaporacija, liofilizacija, aroma, tekstura, boja, sadržaj antocijana.

SUMMERY

INFLUENCE OF TREHALOSE ADDITION ON QUALITY PROPERTIES OF STRAWBERRY PASTES

Today, costumer's demands for higher quality of food products are more pronounced than ever. To satisfy costumer's demands, high attention is paid to new product development or improvement of properties of existing product (by addition of different ingredients, improvement of processing, packaging ect.). The most important quality factors are aroma, texture and colour.

Strawberry pastes are used as fillings for chocolates, energy bars and other products that contain fruit. In industry, strawberry pastes are prepared by evaporation and without trehalose addition. To improve quality of this product, next to industrial process of preparation, freeze-drying was used. Its influence and influence of different concentrations of trehalose addition on aroma, texture, colour, anthocyanin content and free radical scavenging activity were studied. Influence of different atmospheres (nitrogen and air) for packaging during storage for 5 months at room temperature on mentioned properties were also studied.

Trehalose is one of most stable sugars. Since enzymatic process for its production is developed its price is lower, so it is expected that its use in food industry will grow because trehalose have positive effect on different quality properties of products.

Addition of trehalose caused property change of strawberry pastes in both evaporated and freeze-dried samples in comparation to samples without trehalose addition. Fruity esters content was higher in samples when trehalose was added. Trehalose also had positive effect on texture, colour degradation and retention of anthocyanins in samples.

Freeze-drying also improves quality of product. Fruity esters content, retention of anthocyanins and retention of colour were higher in freeze-dried samples.

After storage, samples with trehalose added had higher content of fruity esters and anthocyanin content.

Key words: strawberry pastes, trehalose addition, evaporation, freeze-drying, aroma, texture, colour, anthocyanin content.

Zahvaljujem se akademkinji Vlasti Piližoti i prof. dr. sc. Janezu Hribaru na pomoći oko definiranja teme, te usmjeravanju tijekom izrade i pisanja doktorskog rada. Također se zahvaljujem svim djelatnicima Odjela za prehrambenu tehnologiju sa Biotehničkog fakulteta u Ljubljani na pomoći tijekom eksperimentalnog rada, gostoprimstvu i prijateljstvu.

Posebno se zahvaljujem mami na ljubavi, razumijevanju, žrtvovanju i nesebičnoj pomoći tijekom cijelog života.

Na moralnoj podršci zahvaljujem se svim svojim prijateljima...

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2. 1. KVALITETA HRANE	3
2. 2. TREHALOZA	5
2. 2. 1. Svojstva trehaloze	5
2. 2. 2. Rasprostranjenost u prirodi	6
2. 2. 3. Trehaloza u prehrani ljudi	6
2. 2. 4. Uloga trehaloze u prirodi	7
2. 2. 5. Mehanizam djelovanja	7
2. 2. 6. Primjena	9
2. 2. 7. Metabolizam	12
2. 3. JAGODA	13
2. 4. AROMA	15
2. 4. 1. Aroma jagode	15
2. 4. 2. Stabilnost arome	16
2. 4. 3. Zadržavanje arome	17
2. 4. 4. Čimbenici koji utječu na otpuštanje arome	17
2. 4. 4. 1. Utjecaj prirode i fizikalnog stanja nosača na zadržavanje arome	18
2. 4. 4. 2. Utjecaj prirode i fizikalnokemijskog stanja spojeva arome na zadržavanje	18
2. 4. 5. Interakcije sastojaka hrane	18
2. 4. 6. Zadržavanje arome interakcijom s škrobom	19
2. 4. 6. 1. Fizikalno zadržavanje u škrobnom matriksu	20
2. 4. 6. 2. Mehanizmi koji kontroliraju zadržavanje u sistemima s malo vode	20
2. 4. 6. 3. Formiranje kompleksa u razrijeđenim otopinama škroba	21
2. 4. 6. 4. Kompleksacija spojeva arome s amilopektinom	21
2. 5. TEKSTURA	23
2. 5. 1. Važnost teksture	23
2. 5. 2. Definicija teksture	24
2. 5. 3. Tekstura i procesiranje hrane	26
2. 5. 4. Tekstura i struktura	27

2. 5. 5. Mjerenje teksture	27
2. 6. BOJA	29
2. 7. ANTOCIJANI	31
2. 7. 1. Struktura antocijanina	31
2. 7. 2. Stabilnost boje antocijanina	34
2. 7. 2. 1. <i>Utjecaj strukture</i>	34
2. 7. 2. 2. <i>pH</i>	35
2. 7. 2. 3. <i>Temperatura</i>	36
2. 7. 2. 4. <i>Kisik</i>	36
2. 7. 2. 5. <i>Svjetlost</i>	36
2. 7. 2. 6. <i>Enzimi</i>	36
2. 7. 2. 7. <i>Askorbinska kiselina</i>	37
2. 7. 2. 8. <i>Šećeri</i>	37
2. 7. 2. 9. <i>Kopigmentacija</i>	38
2. 8. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST	39
2. 8. 1. Antioksidativna aktivnost	39
2. 8. 2. Veza između strukture i aktivnosti	41
2. 8. 3. Promjene antioksidanasa tijekom procesiranja i skladištenja hrane	43
3. EKSPERIMENTALNI DIO	46
3. 1. DEFINIRANJE ZADATKA	46
3. 2. MATERIJALI I METODE	49
3. 2. 1. Materijali	49
3. 2. 2. Metode	49
3. 2. 2. 1. Postupci dehidracije	49
3. 2. 2. 1. 1. <i>Evaporacija</i>	49
3. 2. 2. 1. 2. <i>Liofilizacija</i>	50
3. 2. 2. 2. Analiza spojeva arome	50
3. 2. 2. 3. Određivanje aktiviteta vode	52
3. 2. 2. 4. Analiza teksture	52
3. 2. 2. 4. 1. <i>Određivanje čvrstoće i indeksa teksture pomoću Kramer-ovog nastavka</i>	52
3. 2. 2. 4. 2. <i>Određivanje ljepljivosti</i>	55
3. 2. 2. 5. Određivanje i praćenje promjene boje	57

3. 2. 2. 6. Ekstrakcija uzoraka	58
3. 2. 2. 7. Određivanje sadržaja antocijana	59
3. 2. 2. 7. Određivanje degradacijskog indeksa (DI)	60
3. 2. 2. 9. Određivanje antioksidativne aktivnosti	60
3. 2. 2. 10. Priprema uzoraka za skladištenje	61
3. 2. 2. 11. Statistička obrada podataka	62
4. REZULTATI	63
4. 1. Rezultati nakon pripreme uzoraka	63
4. 2. Rezultati nakon skladištenja	89
5. RASPRAVA	100
6. ZAKLJUČAK	117
7. LITERATURA	119



UVOD

1. UVOD

Zahtjevi potrošača za što kvalitetnijim prehrambenim proizvodima danas su izraženiji nego ikada. Kako bi se udovoljilo zahtjevima potrošača, velika pažnja se posvećuje razvoju novih proizvoda ili pak poboljšavanju već postojećih proizvoda dodatkom sastojaka koji bi omogućili poboljšanje kvalitete.

Kvaliteta prehrambenog proizvoda ovisi o kvaliteti svih njegovih sastojaka, o načinu na koji se ti sastojci procesiraju kako bi se proizveo proizvod željenih svojstava, o interakcijama koje ti procesi uzrokuju između sastojaka, te o fizikalnim, kemijskim i biokemijskim reakcijama koje se unutar kompleksnog matriksa hrane odvijaju.

Tijekom zadnja dva desetljeća provedena su mnoga istraživanja kako bi se poboljšala kvaliteta osušenih proizvoda (posebno od voća). Postavljena su dva različita pristupa; jedan je poboljšanje prijenosa topline, smanjenjem temperature procesa, a drugi je upotreba netermičkih metoda ili aditiva. Između različitih procesa, liofilizacija se općenito pokazala superiornim procesom dehidracije.

Očuvanje biomolekula u dehidratiranim proizvodima od velikog je interesa tehnolozima, biolozima i farmaceutima. Tijekom dehidracije dolazi do određenog stupnja degradacije, a stabilizacija biomaterijala ugradnjom unutar ugljikohidrata i/ili u otopine polimera poznat je način njihovog očuvanja.

Sladila su najznačajniji dodaci koji se dodaju u prehrambene proizvode. Njihov dodatak utječe na niz svojstava kao što su slatkoća, tekstura, boja itd. Najčešće se koriste saharoza, invertni šećer i glukozni sirup. Disaharidi, kao što su saharoza, laktoza, i od nedavno trehaloza, imaju vrlo široku primjenu kao krioprotektori, posebno pri zamrzavanju hrane odnosno sušenju.

Trehaloza je jedan od najstabilnijih šećera. S obzirom da je razvijen enzimski proces proizvodnje trehaloze koji je značajno smanjio njenu cijenu, očekuje se sve veća primjena trehaloze u prehrambenoj industriji zbog njenog pozitivnog djelovanja na kvalitativna svojstva proizvoda.

Cilj ovog rada bio je odrediti utjecaj različitih količina trehaloze na spojeve arome, odnosno na zadržavanje tih spojeva tijekom dehidracije paste od jagode i tijekom njenog skladištenja. Istraživanjima se je utvrdio i utjecaj trehaloze na koncentraciju antocijana, općenito boju i teksturu. Istraživanja su provedena sa uzorcima paste od jagoda sa i bez

dodatka trehaloze. Također se je pratio utjecaj različitih postupaka pripreme paste od jagoda (evaporacijom i liofilizacijom) na prije spomenuta svojstva.



OPĆI DIO

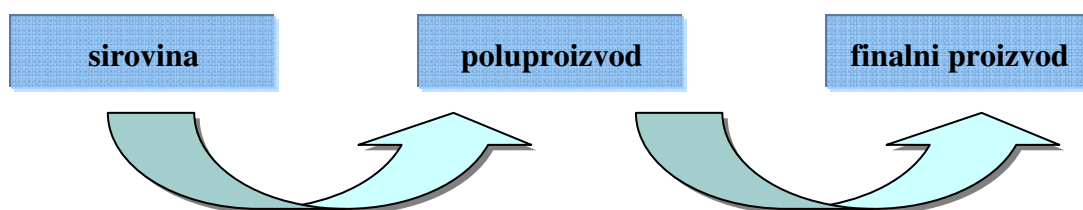
2. OPĆI DIO

2.1. KVALITETA HRANE

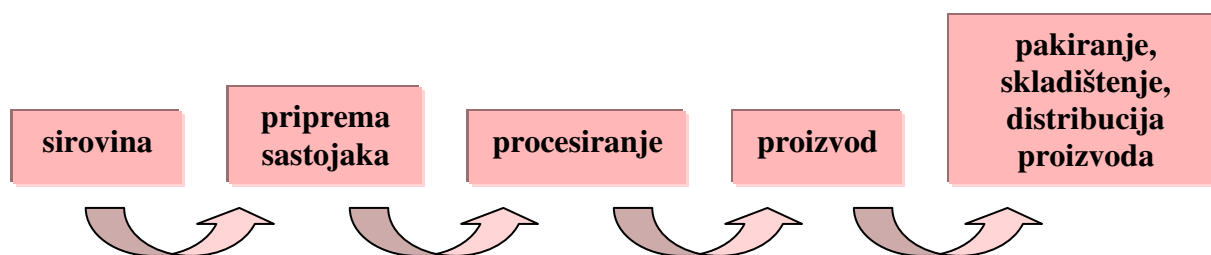
Četiri osnovna čimbenika kvalitete hrane su [1]:

1. **Izgled**, obuhvaća boju, oblik, veličinu, sjaj, upotrebu optičkih osjetila...
2. **Aroma**, obuhvaća okus (koji se razaznaje jezikom) i miris (koji se razaznaje olfaktornim centrom u nosu), te predstavlja odgovor receptora u usnoj šupljini i nosu na kemijsku stimulaciju. Oni se nazivaju “kemijskim osjetilima”.
3. **Tekstura** je primarni odgovor taktilnih osjetila na fizički podražaj koji je rezultat kontakta između nekih dijelova tijela i hrane. Taktilna osjetila (dodir) su primarna za određivanje teksture, ali kinestetika (osjećaj pokreta i pozicije) a ponekad vid i zvuk se također koriste za ocjenu teksture.
4. **Nutritivna vrijednost** predstavlja sadržaj nutrienata (ugljikohidrata, masti i proteina) i mikronutrienata (minerala, vitamina, vlakana).

Ostali čimbenici kao što su pakiranje, troškovi vrlo su bitni ali ne predstavljaju čimbenike kvalitete hrane. Od gore navedenih čimbenika, prva tri su “čimbenici senzorske prihvatljivosti hrane” jer se doživljavaju direktno osjetilima. Čimbenici senzorske prihvatljivosti hrane su vrlo važni jer ljudi uživaju u hrani [1].



Slika 1. Veza između kvalitete sirovine i finalnog proizvoda



Slika 2. Shematski prikaz lanca od sirovine do distribucije proizvoda do potrošača.

Na slici 1. prikazana je veza između sirovine, poluproizvoda i finalnog proizvoda. Svaki poluproizvod se može tretirati kao proizvod te je na slici 2. prikazan lanac od sirovine do distribucije proizvoda do potrošača. Kako bi se proizveo proizvod što bolje kvalitete potrebno je obratiti pozornost na kvalitetu sirovine, te primijenjene procese prerade sirovine u poluproizvod kako bi poluproizvod bio što kvalitetniji a samim time dobiva se i finalni proizvod veće kvalitete. Tijekom zadnja dva desetljeća provedena su mnoga istraživanja kako bi se poboljšala kvaliteta osušenih proizvoda, posebno od voća. Postavljena su dva različita pristupa; jedan je poboljšanje prijenosa topline, smanjenjem temperature procesa, a drugi je upotreba netermičkih metoda ili aditiva. Između različitih procesa, liofilizacija se općenito pokazala superiornim procesom dehidracije [2].

Očuvanje biomolekula u dehidriranim proizvodima od velikog je interesa tehnolozima, biolozima i farmaceutima. Tijekom dehidracije dolazi do određenog stupnja degradacije, a stabilizacija biomaterijala ugradnjom unutar ugljikohidrata i/ili u otopine polimera poznat je način njihovog očuvanja [3].

Sladila su među najznačajnijim dodacima koji se dodaju u prehrambene proizvode. Njihov dodatak utječe na niz svojstava kao što su slatkoća, tekstura, boja itd. Najčešće se koriste saharoza, invertni šećer i glukozni i drugi sirup [4]. Disaharidi, kao što su saharoza, laktoza, i od nedavno trehaloza, imaju vrlo široku primjenu kao krioprotektori, posebno pri smrzavanju hrane i liofilizaciji [5].

2. 2. TREHALOZA

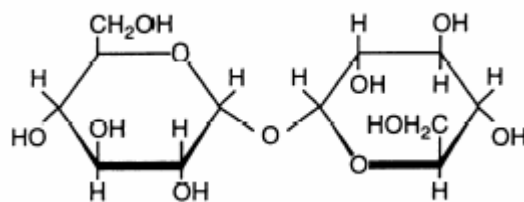
Europska komisija je 2001. godine odobrila upotrebu trehaloze u prehrambenoj industriji donošenjem Regulative (EC) 258/97., nakon što su to učinile Sjedinjene Američke države, Japan, Koreja i Tajvan, te nakon što je doneseno pozitivno mišljenje JECFA (Joint Expert Committee for Food Additives) [6, 7].

2. 2. 1. Svojstva trehaloze

Trehaloza (α , α -trehaloza) je disaharid koji se sastoji od dvije molekule D-glukoze vezane α -1,1 glikozidnom vezom. To je nereducirajući šećer koji se ne hidrolizira lako djelovanjem kiselina, te se glikozidna veza ne može cijepati pod utjecajem α -glukozidaze. Molekulska formula je $C_{12}H_{22}O_{11}$, a molekulska masa 342,21. Pročišćena se obično nalazi u obliku dihidrata i predstavlja tipični komercijalni proizvod. Fizikalna svojstva koja čine trehalozu jedinstvenom su visoki stupanj optičke rotacije ($[\alpha]_D^{25} + 178^\circ$) i njezino ponašanje prilikom taljenja. Trehaloza se počinje taliti na 97°C . Dodatna toplina uklanja vodu kristalizacije sve dok se materijal ponovno ne skrutne pri 130°C , te se zatim anhidrat trehaloze tali na 230°C . Kombinacija molekulske strukture i fizikalno-kemijskih svojstava rezultira vrlo stabilnim disaharidom. Pregledom utjecaja trehaloze u živim sistemima dobije se uvid u moguće pozitivno djelovanje trehaloze na svojstva prehrambenih i medicinskih proizvoda. Osim zaštitne uloge, trehaloza ima i druga pozitivna svojstva koja proizlaze iz prirode stabilne 1, 1 veze. Jedno od tih svojstava je niska higroskopnost. Sadržaj vode trehaloze dihidrata je konstantan (9,54 %) sve do relativne vlažnosti do 92 %. Trehaloza ima topljivost i osmotski profil sličan maltozi. U usporedbi s drugim šećerima, trehaloza je stabilnija pri širokom rasponu pH vrijednosti i temperatura [8].

Trehaloza ima slatkoću oko 40 – 45 % slatkoće saharoze, jer se smatra da samo jedna molekula glukoze zauzima vezno mjesto na receptoru okusa za slatko [9].

Iako su sintetizirni izomeri α , β (neotrehaloza) i β , β (izotrehaloza), vrlo se rijetko nalaze u prirodi. α , α oblik je izomer na koji se izraz trehaloza (α -D-glukopiranozil α -D-glukopiranozid, šećer gljiva) odnosi i vrlo je rasprostranjen u biljnom i životinjskom svijetu. Dostupni su podaci niza istraživanja da se trehaloza može sigurno koristiti kao sastojak hrane te u drugim proizvodima.



Slika 3. Kemijska formula trehaloze

2. 2. 2. Rasprostranjenost u prirodi

Elbein (1974.) je sumirao različite organizme koji sadrže α, α -trehalozu. Na tom popisu je preko 80 različitih vrsta koje uključuju biljke, alge, gljivice, kvasce, bakterije, insekte i druge nekralježnjake. S obzirom da se trehaloza nalazi u različitim vrstama, vjerojatno je da je prisutna i u mnogim drugim organizmima. Interesantno je, da je trehaloza izolirana iz različitih vrsta ispitivanih insekata i predstavlja osnovni šećer (oko 80 – 90 %) u hemolimfima, a može predstavljati oko 20 % ukupnih ugljikohidrata tijekom različitih faza razvoja insekata.

U pivskom kvascu biosintezu trehaloze katalizira enzim koji omogućava reakciju UDP-D-glukoze i D-glukoze-6 fosfata čime nastaje UDP i α, α -trehaloza-6-fosfat. Fosfat se uklanja enzimskim putem te zaostaje molekula trehaloze. Nekoliko drugih organizama proizvode trehalozu na sličan način. Razgradnja trehaloze je popraćena vrlo specifičnim enzimom, trehalazom. Trehalaza je identificirana u mnogim organizmima koji sadrže trehalozu i neophodna je za katabolizam ove molekule. Interesantno je da trehaloza nije pronađena u višim organizmima (sisavcima) iako su pronađene značajne količine trahalaze u tankom crijevu i drugim organima različitih vrsta. Trehalaza spada u skupinu enzima koji variraju u svom optimalnom pH, K_m vrijednosti, inhibitorima, te u svojoj topljivosti [10].

2. 2. 3. Trehaloza u prehrani ljudi

Moderni izvori hrane mogu sadržavati značajne količine trehaloze, kao npr. med (0,1-1,9 %), pivski (0,01-5 %) i pekarski (15-20 %) kvasac, a time i većina proizvoda kod kojih se koristi kvasac. Komercijalno uzgajane gljive sadrže 8-12 % trehaloze. Također se nalazi u beskrležnjacima kao što je jastog (2,5 mg/100 mL krvi), rakovica (1,5 mg/100 mL krvi).

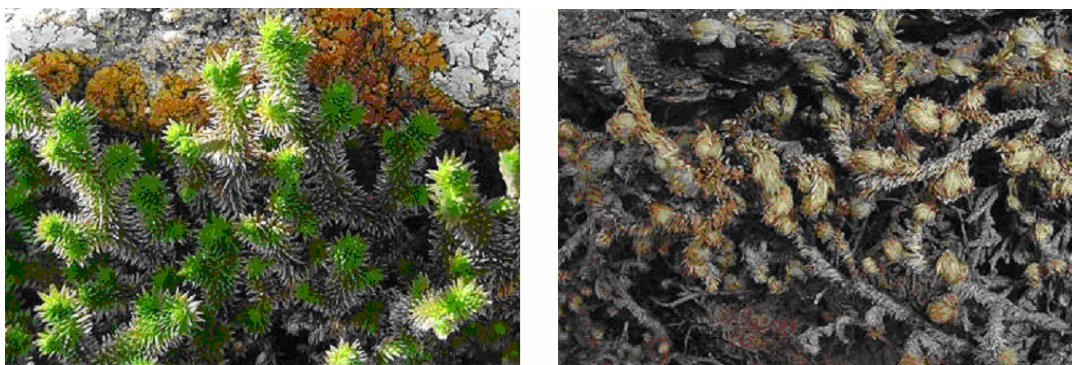
Trehaloza je također izolirana i iz mnogih sjemenjača, kao što je suncokret. Koncentracija trehaloze u prirodnim izvorima varira zbog različitih eksperimentalnih uvjeta,

analitičkih metoda i životnog ciklusa analiziranog organizma. Zbog svoje široke rasprostranjenosti smatra se da je trehaloza prisutna u ljudskoj prehrani tisućama godina [10].

2. 2. 4. Uloga trehaloze u prirodi

Uloga trehaloze i trehalaze je vrlo istraživana i zaključeno je da ovisi o vrsti u kojoj se nalaze. U nižim organizmima trehaloza predstavlja izvor energije tijekom određenih faza razvoja. Kod mikobakterija, trehaloza se može inkorporirati u glikolipide i na taj način predstavlja strukturalnu komponentu. U drugim mikroorganizmima, derivati trehaloze djeluju kao metabolički intermedijeri ili strukturalne molekule.

Jedan od vrlo interesantnih aspekata prisustva trehaloze u različitim organizmima jest njeno sudjelovanje u stabiliziranju životnih procesa u vrstama koje preživljavaju ili zamrzavanje ili dehidraciju. Postoje organizmi koji mogu preživjeti niske temperature okoline zahvaljujući prisustvu glicerola ili drugih molekula koje imaju ulogu prirodnog antifrizu. Trehaloza također predstavlja zaštitu od hladnog u nekim organizmima. U kvasaca, akumulacija trehaloze je vezana s preživljavanjem stresova izazvanih toplinom ili isušivanjem. *Selaginella lepidophylla* sadrži 12,5 % od suhe tvari trehaloze i 1,5 % saharoze. Ova biljka se može u potpunosti osušiti, a nakon rehidratacije joj se vraća normalna aktivnost.



Slika 4. Prikaz *Selaginella lepidophylla* u rehidratiranom i dehidratiranom stanju [11].

2. 2. 5. Mehanizam djelovanja

Mehanizam stabilizacije živih sistema trehalozom tijekom zamrzavanja-odmrzavanja, zagrijavanja-hlađenja i/ili dehidratacije-rehidratacije je vjerojatno povezan s njenom molekulskom konformacijom. U jednom istraživanju, otopine trehaloze, saharoze i kontrole

su upotrijebljene za liofilizaciju dviju različitih vrsta bakterija. Oba šećera su pomogla pri održavanju bakterija nakon rehidracije, ali je djelovanje trehaloze bilo 15 % učinkovitije. Izlaganjem uzoraka svjetlu i zraku utvrđeno je da trehaloza ima značajniji utjecaj za razliku od saharoze. Autori su ovaj zaštitni efekt pripisali stabilizaciji proteina i lipida membrana [12].

Istraživanja molekulskih modela trehaloze u otopini su pokazala da trehaloza može štititi od uklanjanja vode tijekom dehidracije ili zamrzavanja zamjenom vode normalno vezane na biološke strukture [13]. Ova aktivnost pomaže u stabilizaciji tih biomolekula i inhibira ireverzibilnu denaturaciju. Istraživanja hidrationskog potencijala trehaloze, u odnosu na ostale oligosaharide, su pokazala da trehaloza ima veću mogućnost hidratacije. To ukazuje na njezinu sposobnost stabiliziranja lipidnih dvosloja organiziranjem molekula vode oko membrana, ili direktnom interakcijom s polarnim biomolekulama nakon što je voda uklonjena [14].

Crowe i sur. (1990.) su razmotrili mehanizam pomoću kojeg su biološke molekule stabilizirane nakon zamrzavanja i dehidracije i zaključili da je zaštita proteina od zamrzavanja relativno ne specifičan proces. Stabilizacija proteina tijekom sušenja zahtjeva specifičnije interakcije između stabilizatora i testiranog proteina. Samo su se ugljikohidrati pokazali učinkovitima u zaštiti proteina tijekom sušenja. Na fosfolipidnim slojevima nije provedeno mnogo istraživanja ali se čini da i oni pokazuju sličnu tendenciju. Mnoge molekule mogu stabilizirati liposome tijekom zamrzavanja, ali samo su neke učinkovite tijekom sušenja. Trehaloza štiti i proteine i lipide membrana tijekom procesa sušenja [15].

Postoje tri mehanizma pomoću kojih se objašnjava zaštitni učinak trehaloze: *zamjena vode, staklasti prijelaz i kemijska stabilnost*. Ova tri mehanizma se međusobno ne isključuju, već njihova kombinacija može pridonijeti stabilizirajućem efektu trehaloze.

Teorijom zamjene vode se predlaže da se sve biološke makromolekule stabiliziraju pomoću vode tako što dolazi do stvaranja vodikove veze između vode i tih makromolekula. Čini se da trehaloza ima veću fleksibilnost glikozidne veze između dvije glukoze u usporedbi s ostalim disaharidima. To svojstvo omogućava trehalozi konformaciju s iregularnim polarnim grupama makromolekula [8].

Teorija staklastog prijelaza predlaže da se šećeri u otopini transformiraju u ili zadržavaju staklasto stanje umjesto kristaliničnog. Trehaloza je jedinstvena u tome jer stvara nehigroskopsko staklo stabilno pri visokim temperaturama i kada se staklo u potpunosti osuši [16]. To svojstvo omogućava da staklo trehaloze ostaje netaknuto kroz široki raspon ekstremnih uvjeta za razliku od drugih šećera. Takva staklasta formacija može zadržavati

biomolekule u obliku koji im omogućava povratak u njihovu prvobitnu strukturu [8, 16]. Iako su objavljeni razni intervali staklastog prijelaza trehaloze, temperatura staklastog prijelaza trehaloze je viša nego kod ostalih šećera [17-19]. Nedavno su dvije grupe autora primjenom različitih metoda izmjerile vrijednosti temperature staklastog prijelaza 120,0 °C i 114,9 °C [20, 21].

Staklo trehaloze ima veću stabilnost jer dodatkom male količine vode dolazi do stvaranja trehaloza dihidrata na vanjskim dijelovima stakla. To može dovesti do stvaranja strukture koja izolira ostatak stakla i štiti od destruktivnih utjecaja kristalizacije. Pojava prelaska iz dihidrata u anhidrat u staklastoj formi je jedinstvena za trehalozu, i može uspješno kontrolirati aktivitet vode kompleksnog matriksa, kao što je dehidratirana ili zamrznuta hrana. U posljednjim istraživanjima se predlaže da su i vezanje vodikovom vezom proteina ili drugih biomolekula i trehaloze, i stvaranje stakla neophodni za zaštitu od oštećenja tijekom dehidracije [22, 23]. Ova su istraživanja pokazala da sama trehaloza ima stabilizirajući učinak, ali postoje i istraživanja koja pokazuju da i dodatak drugih tvari ima stabilizirajući efekt. Dodatak kationa i borata trehalozi ima stabilizirajući učinak na različite enzime [21, 24]. Amorfna smjesa glukoze/trehaloze (1:10 w/w) više je doprinijela očuvanju enzima nego smjesa glukoze/saharoze iako je temperatura staklastog prijelaza bila ista [25].

Autori predlažu da nizak volumen zamrzavanja, ograničena mobilnost molekula i otpornost separiranju faza i kristalizaciji su svojstva zbog kojih je staklo trehaloze zadržalo stabilnost enzima. Ipak, moguće je da je stabilizirajuće svojstvo trehaloze rezultat kompleksnih interakcija koje uključuju različite tipove molekula.

Trehaloza je jedan od kemijski najstabilnijih šećera. 1, 1 glikozidna veza je čini nereducirajućim šećerom, otpornim na hidrolizu. Većina ugljikohidrata može sudjelovati u ireverzibilnim interakcijama s proteinima i drugim biomolekulama. Te reakcije se koriste u prehrambenoj industriji kako bi se postigli poželjni efekti u prehrambenim proizvodima. Ipak, u biološkim sistemima te promjene mogu modificirati prirodnu strukturu molekula izazivajući gubitak funkcionalne aktivnosti [10].

2. 2. 6. Primjena

Prirodna funkcija, mehanizam djelovanja i tehnička kvaliteta omogućuju primjenu trehaloze u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji [8]. Donedavno trehaloza se je najviše koristila u znanstvene svrhe, u medicini i kozmetici. Ograničavajući faktor za širu primjenu trehaloze je bila cijena. Unapređenjem procesa proizvodnje trehaloze smanjeni su

troškovi proizvodnje odnosno konačne cijene trehaloze te je danas moguća njena šira primjena.

Trehaloza se koristi u biotehnologiji za očuvanje bakterija i kvasaca [12, 26], trehaloza poboljšava životnu aktivnost stanica nakon zamrzavanja i odmrzavanja [27].

Trehaloza je prehrambeni sastojak s jedinstvenim svojstvima koja ju čine vrlo korisnim sastojkom s širokom primjenom u formuliranju proizvoda i njihovom procesiranju. Primarno se može koristiti kao zamjena za saharozu kako bi se postigao više balansirani okus ili kako bi se poboljšao profil okusa. Trehaloza je nereducirajući šećer tako da ne podliježe Maillardovim reakcijama posmeđivanja. Pri povišenim temperaturama je otporna na kiselinsku hidrolizu i ne podliježe karamelizaciji [28].

Može se koristiti kao dodatak u proizvodnji napitaka, kaša i punila, nutritivnih pločica, surimija, dehidratiranog voća i povrća, slatkiša itd. U instant proizvodima ubrzava rehidraciju, a kod pekarskih proizvoda inhibira retrogradaciju škroba u većoj mjeri nego drugi šećeri i tako povećava stabilnost. Trehaloza ima stabilizirajući učinak na proteine tijekom sušenja ili smrzavanja, te pridonosi zadržavanju strukture proteina nakon odmrzavanja i stabilizira disulfidne veze te na taj način sprječava stvaranje nepoželjne arome.

Odobrovanje trehaloze za upotrebu u prehrambenoj industriji omogućava tehnolozima razvoj novih prehrambenih proizvoda i poboljšanje kvalitete i produljenje vijeka trajnosti već postojećih [28].

Trehaloza se može koristiti u prehrambenim proizvodima u kojima se zahtijevaju fizikalna svojstva saharoze, ali sa smanjenom slatkoćom.

Tablica 1. Primjena trehaloze u prehrambenoj industriji i njezin učinak

<i>Tip prehrambenog proizvoda</i>	<i>Učinak</i>
pekarski proizvodi	▫ Zadržavanje vlage ▫ Produženje vijeka trajnosti ▫ Smanjenje slatkoće ▫ Smanjenje higroskopnosti
zamrznuti pekarski proizvodi	▫ Očuvanje proteina ▫ Produženje vijeka trajnosti
zamrznuti deserti	▫ Stabilizacija tijekom zamrzavanja/odmrzavanja ▫ Stabilizacija teksture
mliječni proizvodi i nadjevi	▫ Stabilizacija teksture ▫ Poboljšanje aromatskog profila
osušeno, zamrznuto ili procesirano voće i povrće	▫ Stabilizacija boje ▫ Poboljšanje aromatskog profila ▫ Maskiranje gorčine
napitci	▫ Stabilizacija boje ▫ Poboljšanje aromatskog profila ▫ Smanjenje slatkoće ▫ Stabilizacija pH
želei	▫ Zadržavanje vlage ▫ Smanjenje slatkoće ▫ Smanjenje higroskopnosti ▫ Stabilizacija boje ▫ Poboljšanje aromatskog profila
slatkiši	▫ Zadržavanje vlage ▫ Smanjenje slatkoće ▫ Smanjenje higroskopnosti ▫ Produženje vijeka trajnosti ▫ Poboljšanje teksture ▫ Poboljšanje aromatskog profila
meso/riba/jaja	▫ Očuvanje proteina ▫ Zadržavanje vlage ▫ Poboljšanje teksture

Tablica 2. Primjena trehaloze u prehrambenim proizvodima i predložene dodane koncentracije

<i>Prehrambeni proizvod</i>	<i>Dodana koncentracija</i>
kreme za pekarske proizvode	5 – 6 %
keksi (sa smanjenim udjelom masti)	10 %
kolači	8 – 10 %
slatkiši (kreme ili punila za voćne pločice)	7 %
sladoled	10 %
instant riža i tjestenina	2 %
procesirano voće (džemovi, punila, nadjevi)	10 – 20 %

2. 2. 7. Metabolizam

Vrlo bitno pitanje za upotrebu trehaloze u prehrambenim proizvodima bio je njezin metabolizam u ljudskom organizmu. Metabolizam trehaloze je identičan metabolizmu drugih disaharida koji su uobičajeni u ljudskoj prehrani. Trehaloza se ne asimilira kao disaharid u krvotok čovjeka, već se enzimskom hidrolizom u tankom crijevu razgradi na dvije molekule D-glukoze koje se zatim absorbiraju i metaboliziraju. Specifični enzim koji razgrađuje trehalozu se zove trehalaza [10].

2. 3. JAGODA

Jagode se uzgajaju u gotovo cijelom svijetu i predstavljaju vrlo popularnu vrstu voća koje se može konzumirati svježe, konzervirano u domaćinstvu i/ili industrijski prerađeno. Poznato je više od 20 vrsta jagoda te mnogo hibrida i kultivara.

Kao zeljasta, višegodišnja, stalnozelena, niskogrmolika biljka, jagoda je sustavno svrstana:

kolo: *Spermatophyta*

potkolo: *Angiospermae* – golosjemenjače

klasa: *Dicotyledonae* – dvosupnice

red: *Rosales*

obitelj: *Rosaceae*

podobitelj: *Rosoidae*

rod: *Fragaria* – jagoda

Jagode se ubrajaju u najukusnije, ali i lako pokvarljivo voće koje je vrlo podložno mehaničkom oštećenju, fiziološkoj degradaciji, gubitku vode i općenito brzom propadanju. Na visokim temperaturama, respiracija jagoda se značajno povećava što dovodi do ubrzanja senescencije [29].

Dobar su izvor prirodnih antioksidanasa, bogate su vitaminima i mineralnim tvarima, te antocijanima, flavonoidima i fenolnim kiselinama [30]. Antocijani, te čimbenici koji utječu na njihovu sintezu i stabilnost odgovorni su za boju jagode.

Jagoda je voće poznato po svojoj tipičnoj aromi koja se nakon ubiranja jagoda vrlo brzo degradira tako da je analiza arome jagoda oduvijek interesantan predmet istraživanja, a još interesantnije je njeno očuvanje.

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav jagode na 100 g ploda [31]

sastojak	jedinica	
<i>Energija</i>	kcal	33
<i>Voda</i>	g	89,5
<i>Proteini (ukupno)</i>	g	0,82
<i>Masti (ukupno)</i>	g	0,4
<i>Ugljikohidrati (ukupno)</i>	g	6,45
<i>Minerali (ukupno)</i>	g	0,5
<i>Sirova vlakna (ukupno)</i>	g	2
<i>β-karoten</i>	μ g	49
<i>Vitamin E</i>	mg	0,12
<i>Vitamin B₁</i>	mg	0,031
<i>Vitamin B₂</i>	mg	0,054
<i>Vitamin B₆</i>	mg	0,06
<i>Nikotinska kiselina</i>	mg	0,51
<i>Folna kiselina</i>	μ g	0,016
<i>Pantotenska kiselina</i>	mg	0,3
<i>Vitamin C</i>	mg	64
<i>Natrij</i>	mg	2
<i>Kalij</i>	mg	147
<i>Kalcij</i>	mg	26
<i>Fosfor</i>	mg	29
<i>Magnezij</i>	mg	15
<i>Željezo</i>	mg	0,96
<i>Cink</i>	mg	0,12
<i>Jod</i>	μ g	1
<i>Fluor</i>	μ g	24
<i>Bakar</i>	mg	0,12
<i>Zasićene masne kiseline</i>	mg	36
<i>Mononezasićene masne kiseline</i>	mg	60
<i>Polinezasićene masne kiseline</i>	mg	244
<i>Monosaharidi</i>	g	4,4
<i>Topljiva vlakna</i>	g	0,5
<i>Netopljiva vlakna</i>	g	1

2. 4. AROMA

2. 4. 1. Aroma jagode

Biosinteza arome u jagodama je vrlo kompleksan proces zbog velikog broja različitih spojeva arome. Kao i u svakom drugom voću, hlapljivi spojevi su odgovorni za aromu jagode. Aroma jagode je uglavnom određena smjesom spojeva u koju su uključeni esteri, aldehidi, ketoni, alkoholi, terpeni, furanoni i tvari sa sumporom [32-36]. Ti spojevi se nalaze u malim količinama u voću ali imaju vrlo veliki utjecaj na njegovu kvalitetu [37]. Esteri su kvalitativno i kvantitativno najznačajnija grupa od svih spojeva za aromu jagode. Oni daju voćnu i cvjetnu notu, te predstavljaju do 90 % ukupnih hlapljivih spojeva u svježem, zrelom voću [38]. Na alkohole otpada do 35 % hlapljivih tvari ali vrlo malo doprinose aromi jagode [39], na terpene do 10 % a na tvari sa sumporom do 2 % [35, 36].

U zrelim jagodama mogu se metabolizirati egzogeni aldehidi u odgovarajuće alkohole a zatim i u estere [40].

Tijekom zrenja voća razvija se mogućnost esterifikacije 1-pentanolu [41]. Ova reakcija je enzimske prirode iako enzimi odgovorni za tu reakciju nisu okarakterizirani. Vrlo je interesantno kako je mnogo različitih spojeva arome prisutno u jagodi i kako je njihova sinteza regulirana. Ako različiti enzimi kataliziraju nastajanje svake komponente to bi zahtijevalo značajni gubitak energije prilikom sinteze proteina za sintezu hlapljivih tvari. Različitost spojeva arome može biti odraz nespecifičnosti enzima koji sudjeluju u sintezi hlapljivih tvari. Također, neki spojevi arome mogu nastati ne-enzimskim reakcijama (npr. reakcija alkohola i kiselina), ali stvaranje njihovih prekursora je enzimski kontrolirano. Nastajanje alkohola, ketona i kiselina zahtjeva prisutnost enzima u jagodi koji su široko specifični za substrat, npr. NAD- i NADP-ovisna alkohol dehidrogenaza u jagodi može oksidirati nekoliko alifatskih ili aromatskih alkohola [42].

Esteri i furanoni su glavne komponente arome jagode, tako da su provedena mnoga istraživanja kako bi se odredili faktori odgovorni za biosintezu tih komponenti. Jedan od najznačajnijih furanona je 2,5-dimetil-4-hidroksi-3(2*H*)-furanon odnosno furaneol koji u visokim koncentracijama daje notu po zagorjelom šećeru, dok je u niskim koncentracijama odgovoran za voćnu aromu [33, 34]. γ -dekalakton također ima značajan utjecaj na aromu svježih jagoda [2].

Šećeri su glavne topljive komponente u tkivu jagoda i osiguravaju energiju za metaboličke promjene. Osim što su izvori ugljika, oni su i prekursori za sintezu aromatskih spojeva aroma (npr. furanone) i izvor energije za daljnji rast biljke i voća.

Pisarnitskii i sur. (1992.) su otkrili da je koncentracija metilpentanoza u jagodama u korelaciji sa sadržajem furanona. Zaključili su da su metilpentanoze prekursori furanona i predložili da je posljednji korak nastajanja furanona Maillard-ova karbonil-amin reakcija [43]. Za ovu reakciju potrebna je visoka temperatura (80-100 °C), a tijekom zrenja voća temperatura je niska tako da je zadnji korak formiranja furanona vjerojatno kontroliran djelovanjem enzima [44, 45].

Kao i šećeri i organske kiseline su vrlo bitne za aromatski profil jagoda. Kiseline mogu direktno utjecati na aromu ali su i vrlo bitne tijekom procesiranja jer utječu na stvaranje nepoželjne arome i utječu na želirajuća svojstva pektina. Potvrđeno je da hlapljive masne kiseline imaju značajnu ulogu u stvaranju estera [41]. Esterifikacija masnih kiselina i alkohola proučavana je u tkivu jagoda [46] i u suspenziji stanica jagoda [47]. Druga grupa autora je otkrila da se alifatski alkoholi konvertiraju u estere kada se inkubiraju s tkivom jagoda.

2. 4. 2. Stabilnost arome

Stabilnost arome u različitim prehrambenim proizvodima je od velikog značenja zbog toga što se ona povezuje s kvalitetom i prihvatljivošću proizvoda, a vrlo se teško kontrolira. Proizvodnja i skladištenje, ambalažni materijali i sami sastojci hrane obično izazivaju modifikaciju sveukupne arome tako što se smanjuje intenzitet spojeva arome ili dolazi do stvaranja nepoželjnih spojeva. Spojevi arome zbog svoje različitosti tvore vrlo kompleksne sisteme. Oni koji su topljivi u vodi stabilniji su u ugljikohidratima, a drugi pak u lipidima. Mnogo je čimbenika koji utječu na kvalitetu arome u hrani, npr. fizikalno-kemijska svojstva, koncentracija i interakcije hlapljivih spojeva arome s drugim sastojcima hrane. Kako bi se smanjila degradacija arome i spriječio gubitak tijekom procesiranja i skladištenja, od velikog je značenja enkapsulirati hlapljive sastojke [48].

Interakcije između spojeva arome i drugih sastojaka matriksa hrane imaju vrlo važnu ulogu u percepciji arome prehrambenih proizvoda [49]. Škrob i njegovi derivati imaju vrlo široku primjenu kao aditivi (stabiliziraju, zgušnjavaju, poboljšavaju strukturu) ili kao nosači arome. Fundamentalno razumijevanje aroma-škrob interakcija je vrlo korisno kako bi se poboljšalo zadržavanje arome u proizvodima ali i za razvoj novih nosača za enkapsulaciju arome [50].

2. 4. 3. Zadržavanje arome

Otpuštanje arome je kompleksan proces koji uključuje nekoliko mehanizama; prijenos mase, prepreke zbog strukture matriksa, interakcije između matriksa i spojeva arome. Istraživanja interakcija između spojeva arome i nehlapljivih tvari hrane provedena su na vrlo jednostavnim sistemima. Hrana je višekomponentni medij, te su te interakcije mnogo kompleksnije. Interakcije između makromolekula u hrani mijenjaju afinitet spojeva arome za matriks hrane modificirajući prirodu i broj slobodnih mjesta za vezivanje. Za bolje razumijevanje kontrole otpuštanja arome u kompleksnim medijima, mora se uzeti u obzir struktura matriksa hrane [51].

Predložena su dva osnovna mehanizma za objašnjenje zadržavanja hlapljivih tvari tijekom skladištenja. Flink i Karel (1970.) su predložili da ispod kritičnog sadržaja vode hlapljive tvari budu regionizirane u mikroregijama i tako enkapsulirane unutar nepermeabilnog matriksa. Tijssen (1971.) je uočio da kako se sadržaj vode smanjuje da se i koeficijent difuzije hlapljivih tvari smanjuje te je manji od koeficijenta difuzije vode, tj. dolazi do procesa koji se zove selektivna difuzivnost. Vrlo je bitno uočiti da istraživanja mehanizama oslobađanja u bifaznom sistemu zahtijevaju drugačiji pristup u usporedbi s jednofaznim sistemom [52].

Enkapsulacija je tehnika pomoću koje se materijal ili smjesa materijala oblaže ili “zarobljava” unutar drugog materijala ili sistema. Materijal koji se oblaže naziva se aktivni materijal, a materijal kojim se oblaže naziva se ljuska, nosač ili enkapsulat. Danas je proces enkapsulacije dobro razvijen i koristi se u farmaceutskoj, kemijskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. U prehrambenim proizvodima enkapsuliraju se masti i ulja, spojevi arome, vitamini, minerali, bojila, enzimi itd. Enkapsulacijom se može zadržati aroma u prehrambenom proizvodu tijekom skladištenja, mogu se zaštititi spojevi arome od nepoželjnih interakcija sa sastojcima hrane, minimalizirati interakcije između spojeva arome, te se može zaštititi aroma od reakcija izazvanih svjetlom i/ili oksidacijom. Inkorporacijom malih količina arome u prehrambeni proizvod može se uvelike utjecati na finalnu kvalitetu proizvoda, troškove, zadovoljstvo potrošača, itd. U prehrambenoj industriji se neprestano vodi računa o razvoju procesnih metoda, različitih sastojaka i ambalažnog materijala kako bi se poboljšalo očuvanje arome [48].

2. 4. 4. Čimbenici koji utječu na oslobađanje arome

Ljudska percepcija arome je usko povezana s prirodom i koncentracijom spojeva arome u parnoj fazi. Količina ovih tvari da dostigne senzorski sistem ovisi o hlapljivosti tih tvari i njihovom afinitetu za određene sastojke matriksa hrane. Temperatura, pH, jačina ionskih veza i kompleksnost matriksa su samo od nekih čimbenika koji utječu na brzinu i dužinu oslobađanje arome i samim time na percepciju potrošača. Promjene u fizikalnim svojstvima matriksa hrane, kao npr. povećanje viskoznosti ili želiranje, može uzrokovati smanjenje prijenosa mase kroz matriks i samim time povećati zadržavanje spojeva arome. Difuzivnost nekih hlapljivih spojeva je obrnuto proporcionalna viskoznosti matriksa.

U slučaju polisaharida, interakcije sa spojevima arome okarakterizirane su kao visoko varirajuće, a ovise o prirodi makromolekula i hlapljivih tvari. Opisane su različite interakcije i mehanizmi zadržavanja, uključujući apsorpciju ili inkluziju s škrobom, dekstrinima, galaktomananima i hidroksipropilcelulozom [53].

2. 4. 4. 1. Utjecaj prirode i fizikalnog stanja nosača na zadržavanje arome

Kada se uspoređuju pojedinačni spojevi arome, zadržavanje ovisi o prirodi i fizikalnom stanju nosača. Fizikalnokemijske karakteristike i fizikalno stanje ugljikohidrata mogu utjecati na difuziju hlapljivih tvari kroz matriks. Na zadržavanje utječu: molekulska masa, konformacija, kemijske funkcije i fizikalno stanje nosača [54].

2. 4. 4. 2. Utjecaj prirode i fizikalnokemijskog stanja spojeva arome na zadržavanje

Na zadržavanje spojeva arome utječu molekulska masa spojeva arome, prisustvo različitih kemijskih grupa, polarnost i relativna hlapljivost. Veća molekulska masa manji je gubitak. Ovo se može objasniti većom mogućnošću difuzije spojeva s niskom molekulskom masom kroz matriks tijekom sušenja. Kada se molekulska masa hlapljivih spojeva povećava, povećava se i veličina molekule te se brzina difuzije smanjuje. Posljedica toga je da spojevi arome ne dolaze na površinu matriksa tako brzo [54].

2. 4. 5. Interakcije sastojaka hrane

Osim s vodom, mnogo komponenata reagira s škrobom tijekom procesiranja i utječe na transformaciju škroba i finalnu kvalitetu proizvoda. Ti sastojci su polisaharidi, proteini,

lipidi, hlapljivi spojevi arome i elektroliti. Mehanizam interakcija i njihove posljedice su različite. Interakcije preko kovalentne veze između određenih molekula i škroba zbog kojih nastaju derivati škroba obično se ne odvijaju pod uvjetima procesiranja hrane, već se te reakcije koriste prilikom proizvodnje modificiranih škrobova [55].

2. 4. 6. Zadržavanje arome interakcijom s škrobom

Škrob i sastojci na bazi škroba (modificirani škrobovi, maltodekstrini, β -ciklodekstrini) imaju vrlo široku primjenu u prehrambenoj industriji za zadržavanje i zaštitu hlapljivih molekula. Mogu djelovati kao nosači za enkapsulaciju arome, kao zamjena za masti i kao stabilizatori emulzija. Mnogi istraživači su kreirali nove škrobne materijale s mikroporama s ciljem poboljšanja zadržavanja arome. Granule nekih vrsta škrobova imaju prirodne površinske pore promjera 1-3 μm . Zao i Histler (1994.) su pokazali da male granule škroba imaju sposobnost ujedinjavanja u potencijalno korisne sferne pore prilikom sušenja s malim količinama proteina ili u vodi topljivih polisaharida.

Vezivanje spojeva arome na škrob se može klasificirati u dvije kategorije. S jedne strane, spojevi arome mogu biti okruženi s amilaznim heliksom preko hidrofobnih veza, te se novonastali kompleksi nazivaju inkluzijski kompleksi. S druge strane, dolazi do polarnih interakcija koje uključuju vodikove veze između hidroksilnih grupa škroba i spojeva arome. Utvrđeno je da amiloza može tvoriti inkluzijske komplekse s različitim ligandima, kao što su npr. spojevi arome [48].

Strukturalna svojstva škroba u hrani su određena transformacijom škroba pod utjecajem hidrotermalnog procesiranja i starenja, i interakcijama s drugim sastojcima hrane. Vrlo veliki doprinos strukturi daje bubrenje i djelomično otapanje škrobnih granula tijekom zagrijavanja u prisutnosti vode. U isto vrijeme dva polimera škroba, amiloza i amilopektin, koji nemaju jednaki afinitet prema vodi, stvaraju odvojene faze. Prisustvo drugih polimera kao što su proteini ili polisaharidi vode ka stvaranju treće faze uz dvije faze škroba. Specifične interakcije između škroba i određenih malih organskih molekula u hrani su stvaranje kompleksa amiloznih inkluzija što dovodi do fizičkog zarobljavanja liganada i modifikacije strukture škroba [56].

Amiloza tvori nerazgranani oblik molekule, ali obično ima tendenciju da se savija u “ukočeni” jednostruki heliks ili formira još “ukočeniju” dvostruku helikalnu zonu (za vezivanje). Jednostruka helikalna amiloza ima vodikove veze na O-2 i O-6 atomu s vanjske površine heliksa. Vodikova veza između nerazgrananih lanaca izaziva retrogradaciju i

otpuštanje vezane vode (sinereza). Nakon toga nerazgranani lanci mogu formirati dvostruke vlaknaste kristalične strukture otporne na amilazu. Te strukture posjeduju jake intermolekularne i intra-vodikove veze što rezultira djelomično hidrofobnom strukturom slabe topljivosti.

Jednostruki heliks amiloze se ponaša slično ciklodekstrinu posjedujući relativno hidrofobnu unutrašnju površinu koja zadržava molekule vode, koja se može relativno lako izgubiti i zamijeniti s hidrofobnim lipidima ili molekulama arome. Molekule amilopektina također mogu stvarati dvostruku helikalnu strukturu te na taj način povećavati stupanj kristaliničnosti [57].

U proizvodnji i pripremi hrane, škrob se transformira u probavljivi oblik i djeluje kao teksturogen. Istodobno škrob reagira sa spojevima arome na nekoliko načina. Nespecifična sorpcija hlapljivih tvari na granule nativnog škroba dovodi do zadržavanja arome, dok je zadržavanje hlapljivih komponenti kontrolirano difuzijom uočeno u termoplastičnom škrobu. Fizikalno zadržavanje je od velike važnosti prilikom dehidracije i ekstruzije. Vezanje nekih spojeva arome preko liganda na molekule amiloze inducira helikaciju amiloze i reverzibilno formiranje inkluzijskih kompleksa. Helikalna konformacija i kristaliničnost kompleksa ovisi o tipu liganda. U vodenim disperzijama škroba, stvaranje kompleksa može kontrolirati zadržavanje arome, štititi hlapive tvari od oksidacije, i pri višoj koncentraciji liganda promijeniti reološka svojstva disperzije škroba [55].

2. 4. 6. 1. Fizikalno zadržavanje u škrobnom matriksu

Fizikalno zadržavanje hlapljivih komponenti u škrobu predstavlja jednu od mnogih tehnika enkapsulacije arome. U ovom slučaju se škrob transformira iz svog nativnog u želatinizirano stanje. Zadržavanje se postiže ne samo sorpcijom, već i minimaliziranjem brzine difuzije hlapljivih komponenti [55].

2. 4. 6. 2. Mehanizmi koji kontroliraju zadržavanje u sistemima s malo vode

Svojstvo škroba da stvara barijeru kontrolirano je njegovim fizikalnim stanjem opisanom u dijagramu stanja škrob-voda sistema. Dijagrami stanja su definirani kao prošireni oblik faznog dijagrama, u kojima su prikazani osim prijelaza prvog reda i prijelazi drugog reda posebno staklasti prijelaz. Staklasto stanje mnogih komponenata hrane i njegova važnost za kvalitetu hrane davno su priznati. Odnedavno se principi materijalne znanosti uvode u istraživanja hrane te se koristi koncept staklastog prijelaza kako bi se objasnio fenomen difuzije pri zadržavanju arome.

Kada je škrob u staklastom stanju tj. ispod temperature staklastog prijelaza T_g pri niskom sadržaju vode i/ili pri niskoj temperaturi okoline, škrob je okarakteriziran malim slobodnim volumenom i visokim koeficijentom viskoznosti. Kako difuzijski transport kroz medij ovisi o njegovom slobodnom volumenu i viskoznosti, koeficijent difuzije se u staklastom stanju uvelike smanjuje. Slobodni volumen amorfnog škrob-voda sistema mjeren je pri različitim temperaturama i udjelima vlage kako bi se istražila barijerna funkcija škroba u tehnologiji pakiranja. Kako je bilo i za očekivati, slobodni volumen je minimalan pri niskom sadržaju vlage i pri niskim temperaturama [55].

2. 4. 6. 3. Formiranje kompleksa u razrijeđenim otopinama škroba

Tijekom godina većina istraživanja formiranja kompleksa spojeva arome s amilozom provedena je na razrijeđenim otopinama škroba u kojima je škrob otopljen što je najviše moguće. Prva istraživanja su se provodila na binarnim sistemima s škrobom i jednim spojem, a kasnije su se počeli dodavati i drugi spojevi. U sistemima s više dodanih spojeva arome javlja se kompeticijsko vezanje tako što dodatak drugog liganda mijenja ravnotežu i zamjenjuje prvi ligand u šupljini amiloznog heliksa [55].

2. 4. 6. 4. Formiranje kompleksa spojeva arome s amilopektinom

Bočni lanci amilopektina mogu također reagirati s ligandima kako bi se formirali kompleksi, ali ti kompleksi su male stabilnosti. Iz tog razloga je upitno da li amilopektin ima utjecaj na zadržavanje arome.

Vezivanje hlapljivih spojeva arome na škrob može se klasificirati u dvije grupe. Dolazi do formiranja inkluzijskih kompleksa između škroba i različitih hlapljivih spojeva. U tim kompleksima, hlapljivi spojevi su zarobljeni u amiloznom heliksu preko hidrofobnih veza. Posebno se linearne molekule uključe u hidrofobnu šupljinu amiloznog heliksa. Van Ruth i King (2003.) su istraživali utjecaj vode na formiranje inkluzijskih kompleksa, te smatrali da voda mora omogućavati njihovo formiranje. S druge strane pak uočene su polarne interakcije koje uključuju vodikove veze između hidroksilnih grupa škroba i hlapljivih spojeva, što je vrlo bitno za amilopektinsku frakciju škroba koja ne može sudjelovati u formiranju inkluzijskih kompleksa [58]. Boutboul i sur. (2002.) su uočili adsorpciju koja uključuje vodikove veze pod uvjetima staklastog stanja odnosno to su uvjeti pod kojima ne može doći do formiranja inkluzijskih kompleksa [59]. Vodikove veze su vrlo jake kada su u pitanju alkoholi, zatim aldehidi i esteri. U ovom istraživanju se smatra da je moglo doći do suprotnog efekta tj. da je došlo do kompeticije vode za vodikove veze sa spojevima arome i škrobom.

Kompeticija za mjesto u amiloznom heliksu je vrlo moguća posebno kada se radi o smjesi spojeva arome [58].

2. 5. TEKSTURA

2. 5. 1. Važnost teksture

Tekstura je vrlo važno svojstvo koje utječe na procesiranje i rukovanje s proizvodom, na vijek trajnosti proizvoda, te na prihvatljivost proizvoda od strane potrošača.

Karakterizacija teksture obično se postiže na osnovi senzorske analize i instrumentalnih metoda. Senzorska analiza uključuje upotrebu osjetila za miris, okus, zvuk i dodir. Ocjena teksture hrane dodirom uključuje upotrebu prstiju kao i usana, jezika, nepca i zubi. Senzorsku ocjenu teksture provode trenirani senzoričari kako bi se smanjila varijabilnost rezultata senzorske ocjene.

Ponekad se preferira upotreba instrumentalnih metoda za ocjenu teksture, a ne senzorska analiza stoga što se instrumentalne metode provode pod definiranim i kontroliranim uvjetima. Problemi koji se javljaju zbog eksperimentalne varijabilnosti uglavnom su uzrokovani nehomogenošću uzorka a ne zbog nepreciznosti instrumenta. Drugi razlog za instrumentalnu analizu je taj što promjenom količine sastojaka često dolazi do nekoliko istovremenih promjena u svojstvima proizvoda. Neke od tih promjena je teško maskirati i zbog toga je senzorska analiza otežana npr. varijacije u čvrstoći kolača zbog različitog sadržaja šećera.

Glavni cilj analize teksture je provedba jednog ili više mehaničkih testova kako bi se zamijenila senzorska ocjena kao sredstvo za ocjenu teksture [60].

Važnost teksture u cjelokupnoj prihvatljivosti hrane varira ovisno o vrsti hrane. Važnost se može kategorizirati u tri grupe:

1. *Kritična*

Hrana u kojoj je tekstura dominantno kvalitativno svojstvo, npr. meso, čipi-čips, cornflakes itd.

2. *Važna*

Hrana u kojoj tekstura predstavlja značajno ali ne i dominantno kvalitativno svojstvo, te doprinosi manje ili više kvaliteti kao i aroma i izgled, npr. voće, povrće, kruh, sir, slatkiši.

3. *Mala*

Hrana u kojoj tekstura predstavlja zanemarivi udio u cjelokupnoj kvaliteti, npr. većina napitaka i juha.

Na važnost teksture hrane je indirektno ukazao Schiffman (1978.), koji je 29 ljudi hranio, povezao im oči i od njih tražio da prepoznaju hranu na osnovi arome. Uzorci su bili samljeveni kako bi se tekstura u potpunosti uklonila. Testirani ljudi su vrlo slabo identificirali hranu samo na osnovi arome tj. kada su im bile tekstura i boja nedostupne [1].

2. 5. 2. Definicija teksture

Ovaj izraz je bilo jako teško definirati s obzirom da različitim ljudima ima različito značenje.

Neke od definicija teksture su:

Tekstura predstavlja percepciju koja sadrži ocjenu fizikalnih svojstava hrane na osnovi dodira ili osjećaja mišića u usnoj šupljini, s time da se osjećaj za temperaturu i bol izuzimaju iz te definicije (Matz, 1962).

Tekstura se može definirati kao senzorska manifestacija strukture hrane i način na koji ta struktura reagira s primijenjenim silama. Specifična osjetila koja se ovdje uključuju su vid, sluh i kinestetika (Szczesniak, 1990).

Tekstura se sastoji od svojstava koja proizlaze iz strukturalnih elemenata hrane i načina na koji ih mi percipiramo pomoću osjetila (Sherman, 1970).

Tekstura je svojstvo koje je rezultat kombinacije fizikalnih svojstava a percipira se osjetilom dodira (uključujući i kinestetiku i osjećaj u ustima), vida i sluha. Fizikalna svojstva mogu uključivati veličinu, oblik, broj, prirodu i konformaciju strukturalnih elemenata (Jowitt, 1974).

Tekstura je jedno od tri osnovnih senzorskih svojstava hrane koje se u potpunosti odnosi na osjetilo dodira te se stoga može objektivno mjeriti mehaničkim sredstvima u fundamentalnim jedinicama, mase ili sile (Kramer, 1973).

Tekstura je način na koji su različiti sastojci i strukturalni elementi ujedinjeni u mikro i makrostrukturu i vanjska manifestacija te strukture u obliku tečenja i deformacija (deMan, 1975).

Tekstura je ljudska fiziološko-psihološka percepcija brojnih reoloških i drugih svojstava hrane i njihova interakcija (McCarthy, 1987).

Tekstura je svojstvo koje je rezultat kombinacije fizikalnih svojstava koja se percipiraju osjetilima dodira (uključujući usta, vid i sluh). Svojstva uključuju veličinu, oblik, broj, prirodu i konformaciju strukturalnih elemenata (British Standards Organization No. 5098).

Iako ne postoji potpuno zadovoljavajuća definicija teksture s visokim stupnjem sigurnosti možemo reći da tekstura hrane ima slijedeće karakteristike:

1. To je grupa fizikalnih svojstava koja potječu iz strukture hrane.
2. Pripada mehaničkoj i reološkoj grupi fizikalnih svojstava. Optička, električna i magnetska svojstva, te temperatura i termička svojstva su fizikalna svojstva koja su isključena iz definicije teksture.
3. Sastoji se od grupe svojstava, a ne od samo jednog svojstva.
4. Tekstura se primarno percipira osjetilom dodira, obično u ustima, ali i drugi dijelovi tijela mogu biti uključeni (obično ruke).
5. Nije povezana s osjetilima za okus i miris.
6. Tijekom objektivnih mjerenja u funkciji je s masom, udaljenošću i vremenom.

S obzirom da se tekstura sastoji od različitih fizikalnih doživljaja, poželjno je da se koristi termin teksturalna svojstva jer on obuhvaća grupu srodnih svojstava, dok se termin tekstura odnosi na samo jedan parametar.

Iz tog koncepta slijedi slijedeća definicija: Teksturalna svojstva hrane su grupa fizikalnih svojstava koja proizlaze iz strukturalnih elemenata hrane, a primarno se percipiraju dodirrom, a povezana su s deformacijom, dezintegracijom i tečenjem hrane pod djelovanjem sile, a mjere se objektivno u odnosu na masu, vrijeme i udaljenost.

Veliki raspon različitih reoloških i teksturalnih svojstava proizlazi iz zahtjeva potrošača za raznolikošću [1].

Postoji nekoliko razloga zašto znanstvenici traže korelaciju između senzorske i instrumentalne ocjene:

- potreba za kvalitetnom kontrolom instrumenta;
- želja za predviđanjem reakcije potrošača na proizvod;
- želja za razumijevanjem što se podrazumijeva pod senzorskom ocjenom teksture;
- potreba za razvojem poboljšane/optimizirane instrumentalne metode i kreiranje metoda za analizu teksture koje će ponoviti senzorsku ocjenu.

Analize teksture osiguravaju ponovljive i točne rezultate fizikalnih svojstava hrane, kozmetike, farmaceutskih i kemijskih proizvoda [60].

2. 5. 3. Tekstura i procesiranje hrane

Mnogi procesi u prehrambenoj industriji su usmjereni ka promjeni teksturalnih svojstava hrane. Općenito se može reći da su usmjereni ka slabljenju strukture kako bi se hrana lakše probavila. Npr. s nutritivne strane žito se može jesti kao cijelo zrno, ali većini ljudi je to neprivlačno. Stoga se žito melje i mijenja mu se struktura te se peče kruh koji je potpuno druge teksture i strukture nego samo žito.

Procesi koji su potrebni da bi se postigla željena struktura hrane mogu biti vrlo skupi. Većina procesa je namjerno dizajnirana da se modificiraju teksturalna svojstva, ali ima i primjera gdje su promjene teksturalnih svojstava popratni rezultat procesiranja. Te promjene teksture su obično nepoželjne. Dobar primjer toga su jako omekšavanje i degradacija teksture prilikom konzerviranja, zamrzavanja ili radijacije kao procesa konzerviranja voća i povrća.

Hrana se može podijeliti u dvije kategorije ovisno o lakoći kontroliranja teksture:

1. *Prirodna hrana* je ona hrana kojoj originalna struktura ostaje netaknuta. Sa tom se hranom prehrambeni tehnolozi moraju snaći s onim što im je priroda pružila u obliku ribe, mesa, peradi, voća, povrća itd. i mogu mijenjati teksturu procesiranjem kao što je zagrijavanje, hlađenje i smanjenje veličine. Obično nema direktne kontrole nad sastavom te hrane iako je kod nekih vrsta moguća kontrola sastava i teksture biranjem vremena branja, itd.

2. *Formulirana hrana* je hrana koja se dobiva iz niza sastojaka kako bi se dobio prehrambeni proizvod koji se ne može pronaći u prirodi. Mnoga prirodna hrana se pretvara u sastojke za formuliranu hranu, ali samim time priroda biljke ili struktura životinje se obično gubi. Takvi proizvodi su npr. kruh, sladoled, ketchup, majoneza, bomboni, sir, margarin, kobasice. Takvim proizvodima je moguće mijenjati formulaciju promjenom količine, broja i kvalitete sastojaka koji se dodaju, te postoji više opcija za kontrolu teksture finalnog proizvoda i razvoja specifične teksture i strukture koja nije pronađena u prirodi.

Veliki je broj sastojaka, nazvanih teksturalni agensi, dostupnih prehrambenim tehnologima kako bi osigurali željenu teksturu hrane koju očekuju potrošači. Iako postoji široka ponuda aditiva za postizanje željene teksture, prehrambeni tehnolozi još uvijek ne mogu proizvesti hranu koja bi simulirala prirodnu hranu a razlog tome je stanična struktura i kompleksna strukturalna organizacija. Turgor koji omogućava hrskavost voća i povrća proizlazi iz fiziološke aktivnosti živog tkiva i ne može se postići u proizvodnji. Teksturalna svojstva se koriste kao osnova za odabir i odbacivanje određenih sastojaka.

2. 5. 4. Tekstura i struktura

Kao što se može vidjeti iz definicije teksture, tekstura hrane proizlazi iz njezine strukture. Strukturalna organizacija na molekulskoj razini, mikroskopskoj razini i makroskopskoj razini u najvećoj mjeri određuju kvalitetu teksture. Da li se tkivo biljaka lomi preko staničnih stjenki ili između stanica uvelike utječe na teksturu. Npr. kod krumpira je poželjno zadržati cijele stanice, zbog toga što kad se razore stanične stjenke, škrob izlazi van i uzrokuje nepoželjnu pastoznu, gumastu, ljepljivu teksturu. Kod jabuka pak je dobro da se razore stanični zidovi kako bi dobili osjećaj sočnosti prilikom jedenja. Kada se meso jabuke razori između stanica, jabuka ne ispušta sok i bude suhe, brašnaste teksture.

Zrenje voća je vrlo kompleksan proces. Na njega utječe sinteza i djelovanje hormona odgovornih za zrenje, biosinteza pigmenata (karotenoida, antocijana itd.), metabolizam šećera, kiselina i hlapljivih komponenti koje sudjeluju u razvoju arome. Modifikacija strukture i sastava staničnih stjenki utječe na teksturu voća. Azodanlou i sur. (2004.) ispitivali su čvrstoća jagoda pomoću Kramerovog nastavka. Utvrđeno je da tijekom zrenja dolazi do pada čvrstoće. Mekšanje jagoda je posljedica fizikalnih i mehaničkih promjena tijekom dozrijevanja tkiva koje se dešavaju zbog promjena u kemijskoj strukturi polisaharida (celuloze, hemiceluloze i pektina) u staničnoj stjenci. Dokazano je da pektini imaju vrlo značajnu ulogu u mekšanju voća, s obzirom da se djelomično razgrađuju pod djelovanjem endogenih pektin degradirajućih enzima (poligalakturonaze i pektin metilesteraze) tijekom zrenja [61].

Otegbayo i sur. (2005.) ispitivali su mikrostrukturu kuhanih uzoraka slatkog krumpira. Mikrostruktura kuhanih uzoraka slatkog krumpira pokazala je karakteristični gubitak integriteta strukture s gubitkom stanične organizacije što su Casanas i sur. (2002.) objasnili time što kada se povrće kuha u vodi dolazi do niza promjena kao što je gubitak turgora s gubitkom stanične organizacije i jaka hidratacija polisaharida staničnih stjenki. Te sve promjene vode ka gubitku integriteta strukture i promjeni karakteristične teksture. Brzina kojom se te promjene dešavaju ovise o krutosti stanične stjenke, jačini središnje lamele i strukturi unutar same stanice (npr. škrobne granule, vlakna itd.) [62].

2. 5. 5. Mjerenje teksture

Tekstura hrane je fizikalno svojstvo hrane koje proizlazi iz sastojaka odgovornih za strukturu. Teksturalna svojstva su u vezi s deformacijom, dezintegracijom i tečenjem hrane

pod djelovanjem sile. Mjere se objektivno u funkciji vremena, mase i udaljenosti. Tekstura predstavlja granu reologije. Reologija znanost o deformacijama i tečenju tvari, te obuhvaća i viskoznost i teksturu. Viskoznost se može definirati kao unutarnje trenje fluida i njegova otpornost tečenju. Viskoznost se odnosi na tekuću hranu ili hranu koja teče, dok se tekstura odnosi na krutu hranu. Obično se instrumentalno mjerenje teksture grupira na fundamentalne metode, instrumentalne metode ili empirijske metode. Fundamentalne metode se baziraju na fizikalnim svojstvima hrane. To su mehanička svojstva na osnovi tlačenja-naprezanja. Podaci mogu biti korisni za određivanje procesnih parametara. Razvijene su metode koje simuliraju žvakanje. Ovaj proces obično obuhvaća primjenjivanje kompresije na hranu na taj način da se simulira početna faza žvakanja. Takve metode obično imaju dobru korelaciju s senzorskim podacima. Empirijske metode obuhvaćaju podvrgavanje hrane sili primjenom uređaja koji imaju specifične karakteristike. Podaci su obično visoko specifični za određenu hranu i teško ih je generalizirati.

Mjerenje teksture se bazira na vezi tlačenja-naprezanja ili reološkim svojstvima. Instrumenti za mjerenje teksture mogu se klasificirati na one koji mjere silu, udaljenost, vrijeme i energiju. Instrumenti koji mjere silu su jedni od najprimjenjivanih u prehrambenoj industriji. Kod ovog načina mjerenja varijabla je sila dok su vrijeme i udaljenost konstantni. Postoji mnogo vrsta instrumenata za mjerenje snage opiranja pucanju, ekstruzije, smicanja, jačine pucanja, drobljenja, rastezanja itd.

Tlačenje je mjera sile na materijal tj. sila po jedinici površine (mjereno u N). To je mjera relativnog pomicanja između čestica materijala. Naprezanje je promjena u dimenzijama uzoraka uzrokovana primjenom tlačenja.

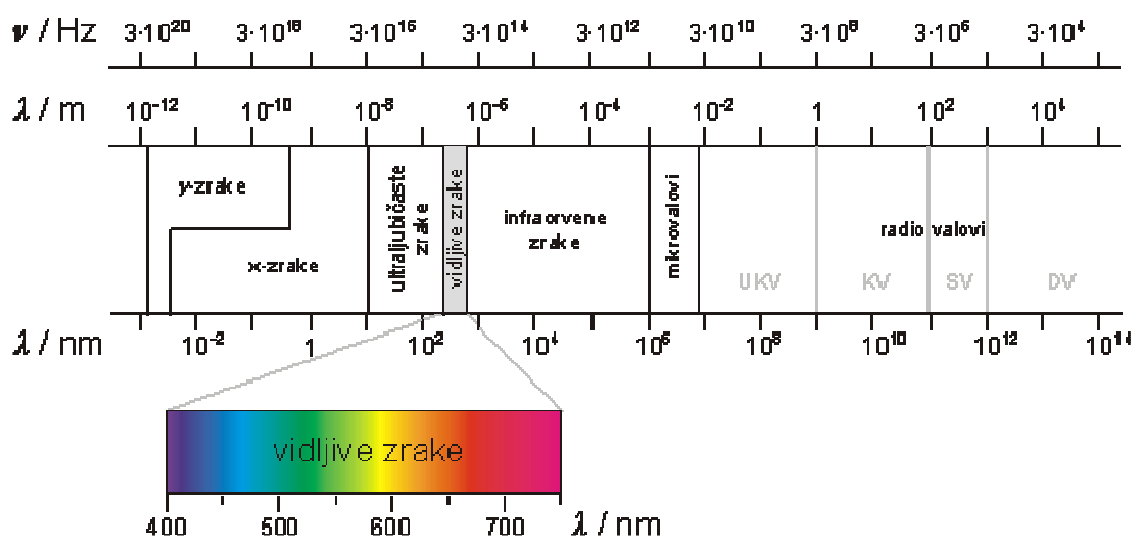
Instrumenti za mjerenje teksture imaju primjenu u npr. razvoju novog proizvoda, poboljšanju već postojećeg, kontroli kvalitete. Obično pri razvoju novih proizvoda oni podupiru senzorska testiranje, te se pomoću njih prave standardi za proizvod. Vrlo često se ovi instrumenti koriste pri poboljšanju proizvoda, a standardi dobiveni teksturom se koriste kao referentni uzorci [63].

Instrumenti za mjerenje sile su najčešći instrumenti za mjerenje teksture. Mjerenjem sile može se mjeriti: puknuće, kompresija-ekstruzija, rezanje-smicanje, kompresija, rastezljivost, torzija, savijanje i pucanje i deformacija [1].

2. 6. BOJA

Predmet osvijetljen izvorom svjetla reflektira svjetlost kako bi se osigurala vizualna stimulacija, te kako bi se predmet mogao opisati preko svojih morfoloških karakteristika, veličine, oblika i specifičnih svojstava kao što su boja, prozirnost, sjajnost i tekstura. Ta specifična svojstva omogućavaju identifikaciju i pružaju dodatne informacije koji se odnose na prihvatljivost i kvalitetu hrane [64].

Pod pojmom boja podrazumijeva se ljudska percepcija obojenih materijala - crveno, zeleno, plavo, itd. Bojilo je bilo koja tvar, bilo prirodnog ili sintetičkog porijekla, koja emitira boju. Hrana je obojena zbog svoje sposobnosti da reflektira ili emitira različitu količinu energije pri valnim dužinama koje stimuliraju retinu oka. Energijski interval na koji je oko osjetljivo naziva se vidljivi dio spektra. Vidljivi dio spektra obuhvaća mali dio od 380 nm - 770 nm (slika 5.) [65]. Kvaliteta i intenzitet radijacije u tom spektru odgovorni su za našu viziju i za fenomen povezan s našom percepcijom boja [64].



Slika 5. Spektar elektromagnetskog zračenja [66]

Boja utječe i na percepciju arome. Potrošači očekuju da crveno obojena pića imaju aromu jagode, maline ili višnje, žuta limuna, a zelena limete. Vrlo je bito da neki pigmenti nemaju samo ulogu boje već i nutritivnu ulogu kao npr. β -karoten. Očito je da pigmenti imaju mnogostruk utjecaj, te je pogrešno boju smatrati samo “kozmetičkim” svojstvom [65].

Pigmenti su prirodne tvari koje se nalaze u stanicama i tkivima biljaka i životinja [67]. Obojenje može biti rezultat prisustva organskih pigmenata u tkivima ili optičkih efekata zraka svjetlosti [64].

Prirodni pigmenti su vrlo podložni kemijskim promjenama, kao npr. pri zrenju voća i starenju mesa. Također su osjetljivi na kemijske i fizikalne utjecaje tijekom procesiranja hrane. Biljni i životinjski pigmenti su organizirani u tkivnim stanicama i organelama (npr. kloroplasti koji sadrže klorofil). Kada se te stanice sjeckanjem i mljevenjem razore, pigmenti izlaze van te pod djelovanjem zraka dolazi do njihove degradacije [67].

Ne potječe sva boja hrane od prirodnih biljnih pigmenata. Slijedeći izvor boje je djelovanje topline na šećere odnosno karamelizacija (boja tosta, smeđa boja karamela, itd.). Tamna boja može biti i posljedica kemijskih interakcija između šećera i proteina odnosno reakcija posmeđivanja ili Maillard-ovih reakcija. Do kompleksnih promjena boje dolazi i kada organske komponente hrane dolaze u kontakt s zrakom. U hrani, te prilikom kuhanja krajnja boja je posljedica kombinacije navedenih načina promjene boje [67].

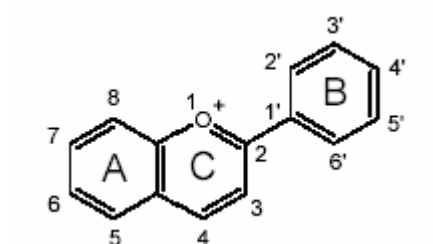
Funkcionalna uloga pigmenata je različita. Npr. klorofil pod djelovanjem svjetla sudjeluje u fotosintezi. Drugi su pak pigmenti nosioci kisika (mioglobin) ili elektrona (antocijani) te na taj način utječu na oksido-redukcijsko stanje stanice [64].

Mnogi su pigmenti nestabilni tijekom procesiranja i skladištenja. Prevencija nepoželjnih promjena je vrlo teška, a u nekim slučajevima i nemoguća. Na stabilnost pigmenata utječu mnogi faktori kao što su: svjetlost, kisik, teški metali, oksidansi, reducensi, temperatura, aktivitet vode, pH. Zbog nestabilnosti pigmenata, u hranu se ponekad dodaju bojila [65].

2. 7. ANTOCIJANI

2. 7. 1. Struktura antocijanina

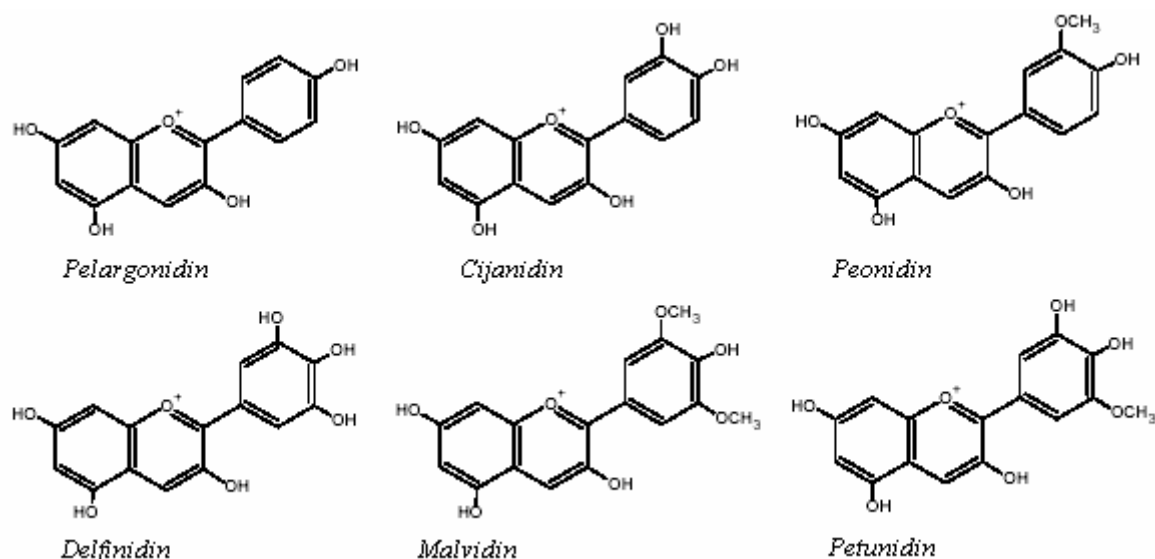
Antocijanini pripadaju flavonoidnoj grupi polifenola. Imaju $C_6C_3C_6$ kostur tipičan za flavonoide. Antocijanini su glikozilirani polihidroksi i polimetoksi derivati 2-fenilbenzopirilium kationa odnosno flavilium kationa [68]. Glavni dio antocijanina je njegov aglikon, flavilium kation, koji sadrži konjugirane dvostruke veze odgovorne za absorpciju svjetla pri valnim duljinama oko 500 nm, što omogućava pigmentu da se ljudskom oku čini crvenim. Aglikoni se nazivaju antocijanidini, a obično su penta (3,5,7,3',4') ili heksa substituirani (3,5,7,3',4',5'). Danas su poznata 22 različita antocijanidina (tablica 4.), ali samo njih 6 je značajno za hranu [69]. Najznačajniji antocijanidini su pelargonidin, cijanidin, peonidin, delfinidin, malvidin i petunidin. Ovi se aglikoni međusobno razlikuju po broju hidroksilnih i metoksilnih grupa na B prstenu flavilium kationa.



Slika 6. Flavilium kation.

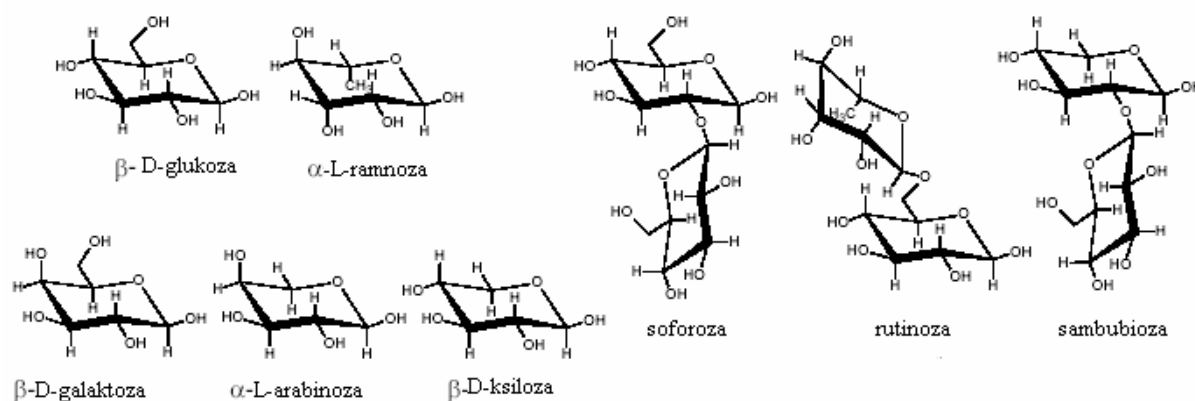
Tablica 4. Antocijanidini koji se pojavljuju u prirodi.

antocijanidin	mjesto substitucije							boja
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Karajuridin	H	H	OH	OH	H	OMe	OMe	-
Arabidin	H	H	OH	OH	H	OH	OMe	-
3'-Hidroksiarabidin	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe	-
Apigenin	H	OH	H	OH	H	OH	H	narančasta
Luteolinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	H	narančasta
Tricetinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	crvena
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	narančasta
Aurantinidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	narančasta
Cijanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	narančasto-crvena
5-Metilcijanidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	narančasto-crvena
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	narančasto-crvena
Rosinidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	crvena
6-Hidroksicijanidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	crvena
6-Hidroksidelfinidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	plavo-crvena
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	plavo-crvena
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	plavo-crvena
Malvidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	plavo-crvena
Pulhelidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	plavo-crvena
Europinidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	plavo-crvena
Kapensidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	plavo-crvena
Hirsutidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	plavo-crvena
Riciniodin A	OH	H	OH	OH	H	OH	H	-



Slika 7. Najznačajniji prirodni antocijanidini.

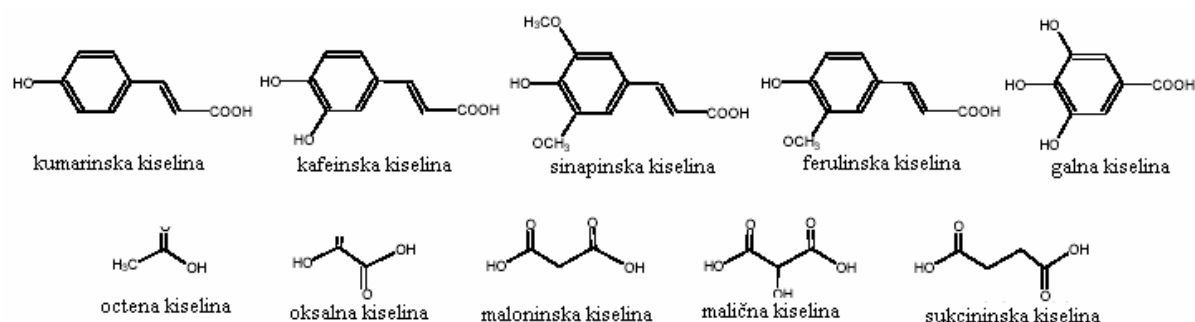
Antocijanidini se kao takvi rijetko nalaze u prirodi. U obliku glikozida odnosno antocijanina nalaze se u cvijeću, voću itd. Antocijanini su mnogo stabilniji i topljiviji u vodi od antocijanidina zbog glikozilacije [70]. Najčešće vezani šećeri na antocijanine su monosaharidi: glukoza, ramnoza, galaktoza, arabinoza i ksiloza. Od disaharida i tri saharida: rutinoza, soforoza, sambubioza i glukorutinoza [71, 72].



Slika 8. Najčešće glikozilne jedinice antocijana.

Antocijanini mogu biti i acilirani. Organske kiseline, koje su vezane na antocijanin glikozil jedinicu preko esterskih veza jesu ili aromatske fenolne kiseline ili alifatske dikarboksilne kiseline ili njihova kombinacija. Najčešće fenolne kiseline su derivati hidroksicinaminske kiseline (kumarinska kiselina, ferulinska, kafeinska kiselina i sinapikinska kiselina) i hidroksibenzojeve kiseline (npr. galna kiselina). Najčešće alifatske kiseline su

maloninska kiselina, octena kiselina, malična kiselina, sukcininska kiselina i oksalna kiselina [69, 73].



Slika 9. Najčešće acilne jedinice antocijanina.

2. 7. 2. Stabilnost boje antocijanina

Antocijanini su vrlo nestabilne molekule u metrikusu hrane. Na stabilnost boje antocijanina uvelike utječe pH, otapalo, temperatura, koncentracija antocijanina i struktura, kisik, svjetlost, enzimi i drugi prisutni sastojci.

2. 7. 2. 1. Utjecaj strukture

Glikozilne jedinice i acilne grupe vezane na aglikon, te mjesto vezanja imaju značajan utjecaj na stabilnost i reaktivnost antocijanina. Mjesto substitucije na antocijanidinu, te broj i pozicija hidroksilnih i metoksilnih grupa na aglikonu utječu na kemijsko ponašanje antocijanina.

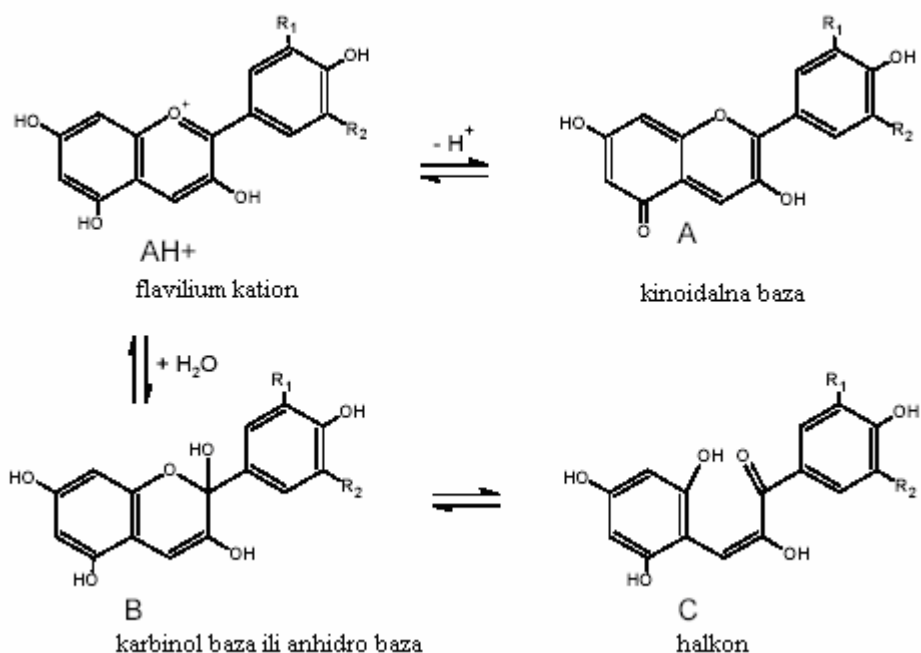
Povećana hidroksilacija na aglikonu stabilizira antocijanidin; delfinidin je stabilniji od cijanidina u zakiseljenom metanolu [74]. Ipak, postoje odstupanja od pravila utjecaja hidroksilacije aglikona na stabilnost molekule. U pufer otopini pH 3,1 cijanidin 3-glukozid je bio stabilniji od pelargonidin 3-glukozida ali je delfinidin 3-glukozid bio manje stabilan nego cijanidin 3-glukozid. Također, petunidin 3-glukozid, sa dvije hidroksilne grupe na B prstenu je bio manje stabilan nego peonidin 3-glukozid koji ima samo jednu hidroksilnu skupinu u istom prstenu [73]. Povećanjem metilacije hidroksilnih skupina smanjuje stabilnost antocijanina. Metoksil skupine na C-4' i C-7 smanjuju stabilnost pigmenata u odnosu na

pigmente s hidroksilnim skupinama na istim pozicijama [75]. U puferskoj otopini cijanidin 3-glukozid je bio stabilniji nego petunidin 3-glukozid koji ima jednu metoksil skupinu više [73].

Prisutnost hidroksilnih i metoksilnih skupina ne utječe samo na stabilnost antocijanina, već i na predodžbu boje. Boja antocijanina se mijenja od ružičaste prema plavoj kako se broj hidroksilnih skupina povećava [75]. Glikozilnom substitucijom postiže se stabilnija antocijanin molekula, ali na stabilnost utječe i sama pozicija glikozilacije ali i vrsta glikozilne jedinice [76, 77]. Antocijanini brusnice s vezanom galaktozom bili su stabilniji nego s vezanom arabinozom tijekom skladištenja [78]. Bronnum-Hansen i Flink (1985.) su otkrili da su antocijanini koji sadrže disaharid, sambubiozu, stabilniji od onih koji sadrže monosaharid, glukozu [79]. Smatra se da je spora hidroliza 3-glikozilnih jedinica antocijanina u kiselim uvjetima odgovorna za bolju stabilnost ovih pigmenata [75]. Antocijanin 3-glukozidi su jače obojeni nego 3,5-glukozidi i 5-glukozidi [72]. Povećanje broja glukoznih jedinica uzrokuje stvaranje pigmenta žute boje [80].

2. 7. 2. 2. pH

Antocijanini su stabilniji u kiselom mediju nego u alkalnom mediju. Pokazuju široki raspon boja ovisno o pH vrijednosti. Ionska priroda antocijanina omogućava promjenu strukture molekula s obzirom na pH, što rezultira različitim bojama i nijansama boja pri različitim pH vrijednostima [65, 68].



Slika 10. Četiri glavna oblika antocijanina u vodenom mediju.

U kiselim vodenim otopinama antocijanini postoje u četiri glavna oblika: kinoidalna baza (A), flavilium kation (AH^+), karbinol ili pseudobaza (B) i halkon (C) (slika 10). U vrlo kiselom mediju crveni flavilium kation je dominantan oblik. Povećanjem pH dolazi do smanjenja intenziteta boje i koncentracije flavilium kationa zbog hidratacije preko nukleofilnih veza, te nastaje bezbojni karbinolni oblik. Karbinolni oblik gubi konjugirane dvostruke veze između A i B prstena i ne absorbira vidljivu svjetlost [68]. Također dolazi do brzog gubitka protona s flavilium kationa kako pH dalje raste i nastaje obojeni gvinoidalni oblik. Relativna količina svakog oblika varira ovisno o pH i strukturi svakog antocijanina [75, 81].

2. 7. 2. 3. Temperatura

Na stabilnost antocijanina utječe i temperatura. Brzina degradacije antocijanina se povećava tijekom procesiranja i skladištenja kako se temperatura povećava [79, 80]. Povećanje temperature u pH intervalu 2-4 izaziva gubitak glikozilnih jedinica antocijanina hidrolizom glikozidne veze, što dovodi do gubitka boje antocijanina s obzirom da su aglikoni manje stabilni od svojih glikozidnih oblika. Stvaranje halkona je prvi korak tijekom termičke degradacije antocijanina [84, 85]. Termička degradacija vodi ka stvaranju smeđih pigmenata, posebno u prisustvu kisika.

2. 7. 2. 4. Kisik

Kisik pojačava utjecaj drugih degradacijskih procesa antocijanina. Štetan utjecaj kisika na antocijanine se može manifestirati kroz direktnu oksidaciju i/ili indirektnu oksidaciju gdje oksidirane komponente medija dalje reagiraju s antocijaninima, te se stvaraju bezbojni ili smeđi produkti [81]. Antocijanini reagiraju i sa radikalima kisika odnosno s peroksi radikalima. U takvim reakcijama antocijanini djeluju kao antioksidansi, te se smatra da je to svojstvo antocijanina odgovorno za njihov pozitivan utjecaj na kardiovaskularna oboljenja [86, 87, 88].

2. 7. 2. 5. Svjetlost

Svjetlost utječe na antocijane na dva različita načina. Neophodna je za biosintezu antocijanina, ali i ubrzava njihovu degradaciju [89]. Boja antocijanina se očuva mnogo bolje kada se proizvodi čuvaju u mraku.

2. 7. 2. 6. *Enzimi*

Inaktivacija enzima poboljšava stabilnost antocijanina [90]. Enzimi koji najčešće uzrokuju degradaciju su glikozidaze, koja cijepa kovalentnu vezu između glikozilnih jedinica i aglikona što dovodi do degradacije vrlo nestabilnog antocijanidina, te peroksidaze i fenolaze kao što su fenol oksidaza i polifenol oksidaza koji prirodno postoje u voću [91, 92]. Kod enzimske degradacije antocijanina, kvinoni imaju vrlo značajnu ulogu. Enzimi najprije oksidiraju druge fenolne tvari u mediju do odgovarajućih kvinona koji zatim reagiraju s antocijaninima i dolazi do njihove degradacije i stvaranja smeđih produkata kondenzacije.

2. 7. 2. 7. *Askorbinska kiselina*

Obogaćivanje voćnih sokova s askorbinskom kiselinom je uobičajena metoda zaštite od oksidacije i povećanje nutritivne vrijednosti proizvoda. Askorbinska kiselina ima nekoliko različitih uloga u stabilizaciji boje antocijanina. Degradacija antocijanina je ubrzana prisustvom askorbinske kiseline jer ubrzava polimerizaciju pigmenata i uzrokuje obezbojenje. Smatra se da je mehanizam degradacije antocijanina direktna kondenzacija između askorbinske kiseline i antocijanina [93].

2. 7. 2. 8. *Šećeri*

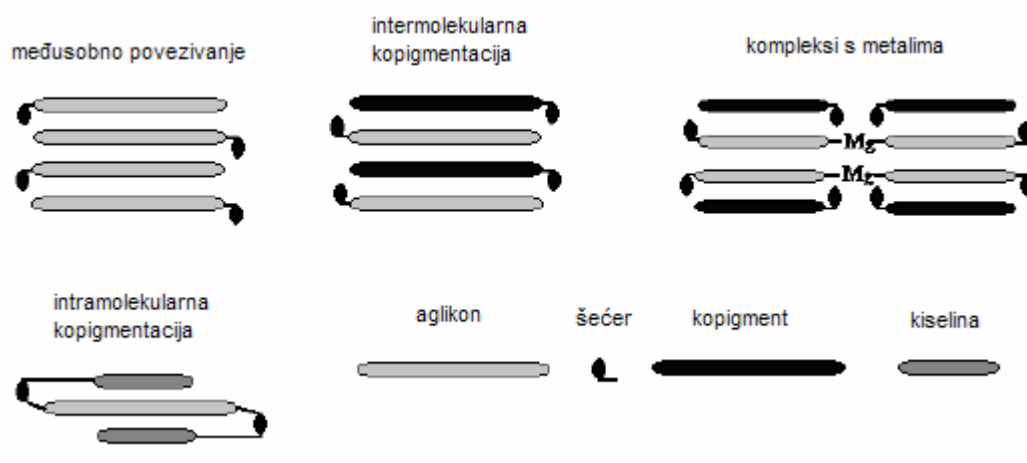
Šećeri su prirodno prisutni u voću, a vrlo često se dodaju tijekom procesiranja različitih proizvoda na bazi voća. Šećer, kao i njegovi produkti degradacije smanjuju stabilnost antocijanina. Reakcijom između antocijanina i degradacijskih produkata šećera i askorbinske kiseline nastaju smeđi pigmenti [94]. Također je ustanovljeno da šećer može i štititi antocijanine. Ustanovljeno je da saharoza štiti antocijanine tijekom skladištenja zamrzavanjem i sprječava posmeđivanje i stvaranje polimera vjerojatno zbog inhibicije enzimskih reakcija, ili pak smanjenja aktiviteta vode [95, 96].

2. 7. 2. 9. *Kopigmentacija*

Boja antocijanina se može stabilizirati i pojačati kopigmentacijskim reakcijama. Iako su antocijanini obojeni u prirodi, njihov obojeni oblik je jako stabiliziran drugim prirodnim komponentama tzv. kopigmentima, koji postoje u stanicama cvijeća i voća [68].

Kopigmentacija može biti vrlo korisna odnosno prirodan način za poboljšanje boje prehrambenih proizvoda bogatih antocijaninima. Uočeno je da je kopigmentacija intenzivnija u sokovima bobičastog voća nego s čistim antocijanima tih sokova [97], a što upućuje na činjenicu da i druge tvari soka imaju ulogu u fenomenu kopigmentacije.

Kopigmentacija se može odvijati na nekoliko načina. Najznačajniji mehanizmi kopigmentacije su formiranje intermolekularnih i intramolekularnih kompleksa. Međusobno povezivanje i stvaranje metalnih kompleksa su također mogući mehanizmi za stvaranje kopigmenata.



Slika 11. Interakcije antocijanina.

2. 8. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

2. 8. 1. Antioksidativna aktivnost

Epidemiološke studije su pokazale jasnu pozitivnu povezanost između unosa voća i povrća i smanjenog broja srčanih bolesti, tumora i drugih degenerativnih bolesti kao i usporavanja starenja [98]. Sa povećanjem eksperimentalnih, kliničkih i epidemioloških podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidanasa, njihova važnost i uloga poprimaju novu pozornost [99]. Osim nutritivnih i senzorskih svojstava, hrana a posebno neki njezini sastojci imaju zaštitnu ulogu. Posebno je to slučaj s hranom koja sadrži prirodne antioksidanse [100].

Antioksidansi su tvari koje usporavaju procese oksidacije u organizmu. Neki od antioksidanasa su enzimi i proteini dok su drugi male molekule antioksidanasa [99]. Vitamini i polifenoli su poznati kao prehrambene komponente u voću i povrću koje posjeduju antioksidativnu aktivnost [98]. Fenolne tvari kao npr. vitamin E i flavonoidi su tipični antioksidansi [99].

Sastav jagodastog i bobičastog voća je od velikog interesa zbog sadržaja fenolnih tvari koje pozitivno utječu na zdravlje [98]. Jagodasto voće, kojem pripada i jagoda, je važan izvor antioksidanasa kao što su askorbinska kiselina, tokoferoli, karotenoidi, flavonoidi i fenolna kiselina [101]. Jagode pokazuju visoki sadržaj fenolnih komponenata i visoku antioksidativnu aktivnost u usporedbi sa drugim biljnim sirovinama [98].

Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetski antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, nadomjesci i lijekovi, ali je opće prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vrijedniji, učinkovitiji i sigurniji od sintetskih [101].

Antioksidativna aktivnost ovisi ne samo o strukturnim svojstvima antioksidanatsa već i o mnogim drugim čimbenicima kao što su temperatura, svjetlost, tip supstrata, fizikalno stanje sistema, kao i o brojnim mikrokomponentama koje djeluju kao prooksidansi ili sinergisti [101].

Antocijanini uvelike doprinose antioksidativnim svojstvima voća koje ga sadrži. Kao pigmenti odgovorni su za crvenu, plavu i ljubičastu boju. Cijanidin je najčešće prisutan antocijanidin, a 3-glukozid najaktivniji antioksidans. Glikozilacija i hidroksilacija kostura antocijanidina utječe na antioksidativnu aktivnost [102].

Antioksidansi u hrani se mogu definirati kao bilo koji sastojak koji može odgoditi, zaustaviti ili spriječiti kvarenje hrane ili stvaranje nepoželjne arome kao posljedice oksidacije. Dodatak antioksidansa nakon tog vremena smatra se neučinkovitim s obzirom da je do kvarenja već došlo. Antioksidansi mogu inhibirati ili usporiti oksidaciju na dva načina: ili uklanjanjem slobodnih radikala, u tom slučaju se sastojak definira kao primarni antioksidans, ili mehanizmom koji ne uključuje direktno uklanjanje slobodnih radikala, u tom slučaju sastojak se definira kao sekundarni antioksidans. Primarni antioksidansi su fenolne tvari. Sekundarni antioksidansi djeluju putem različitih mehanizama. Uobičajeno je da sekundarni antioksidansi pokazuju antioksidativnu aktivnost samo u prisustvu neke druge manje komponente npr. limunska kiselina postaje aktivna samo u prisustvu metalnih iona, a askorbinska kiselina je aktivna u prisustvu tokoferola ili nekih drugih primarnih antioksidanasa [103].

Ulja, masti i hrana na bazi lipida degradira se kroz nekoliko reakcija na koje utječu zagrijavanje i dugotrajno skladištenje. Glavne reakcije degradacije su oksidacija i razgradnja oksidacijskih produkata što dovodi do smanjenja nutritivne vrijednosti i senzorske kvalitete. Zaustavljanje tih oksidacijskih procesa vrlo je bitno za proizvođače hrane odnosno za sve osobe uključene u prehrambeni lanac. Oksidacija se može inhibirati na različite načine kao što su uklanjanje kisika, upotreba niskih temperatura, inaktivacija enzima koji kataliziraju oksidaciju, upotreba prikladne ambalaže, itd..

Druge metode zaštite od oksidacije su upotreba specifičnih aditiva koji inhibiraju oksidaciju. Njihov pravilan naziv je inhibitori oksidacije ali se oni danas zovu antioksidansi. Ovi inhibitori predstavljaju skupinu tvari različite kemijske strukture i različitog mehanizma djelovanja (tablica 5.).

Najznačajniji mehanizam djelovanja antioksidanasa je njihova reakcija sa slobodnim radikalima lipida tvoreći tako inaktivne produkte. Aditivi s ovim svojstvom su antioksidansi u pravom smislu. Obično oni reagiraju s peroksi ili alkoksi slobodnim radikalima koji nastaju raspadanjem lipidnih hidroperoksida. Drugi inhibitori stabiliziraju lipidne hidroperoksidge sprečavajući njihovo raspadanje na slobodne radikale. Raspadanje hidroperoksidge je katalizirano teškim metalima koji djeluju kao helirajući agensi inhibirajući oksidaciju. Neke tvari odnosno sinergisti posjeduju antioksidativnu aktivnost, ali mogu poboljšati aktivnost pravih antioksidanasa. Druga grupa spojeva razgrađuje lipidne hidroperoksidge ne stvarajući radikale već smanjujući sadržaj slobodnih radikala. Singleton kisik oksidira lipide mnogo brže nego triplet kisik, tako da tvari koje vežu singleton kisik imaju važan inhibirajući učinak na oksidaciju lipida.

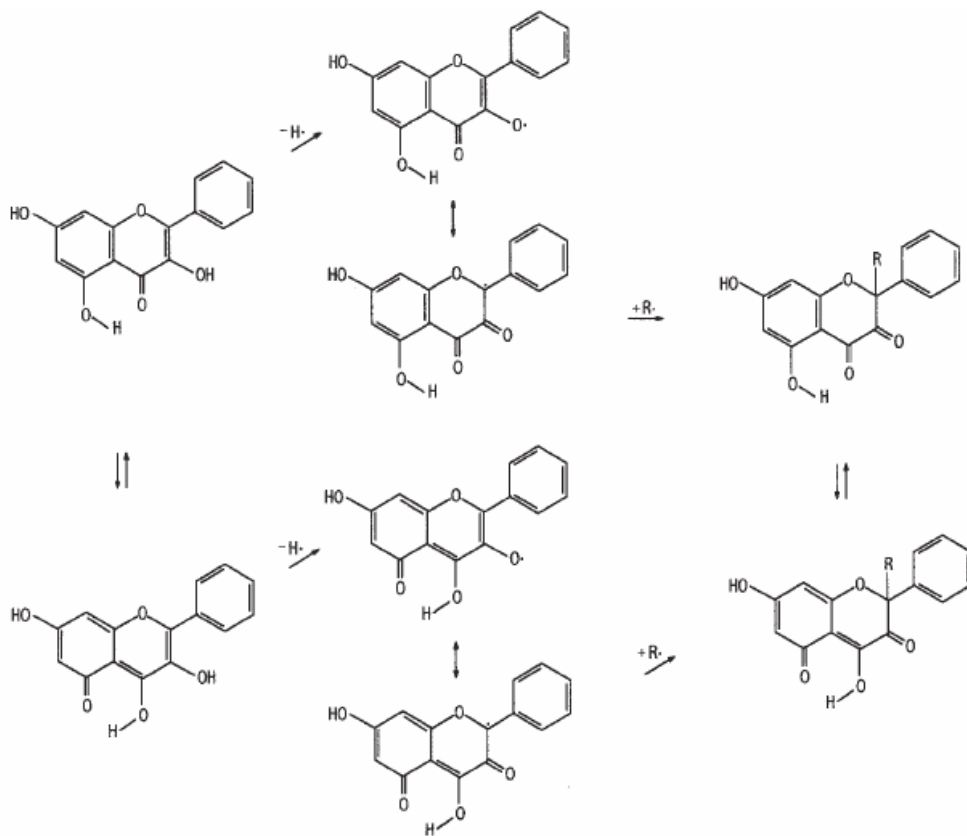
Tablica 5. Mehanizam antioksidativne aktivnosti.

Skupina antioksidansa	Mehanizam antioksidativne aktivnosti	Primjeri antioksidanasa
Pravi antioksidansi	Inaktivacija slobodnih radikala lipida	Fenolne tvari
Stabilizatori hidroperoksida	Sprječavanje raspadanja hidroperoksida na slobodne radikale	Fenolne tvari
Sinergisti	Poboljšavaju aktivnost pravih antioksidanasa	Limunska kiselina, askorbinska kiselina
Metalni helatori	Vežu teške metale u inaktivne komponente	Fosforna kiselina, tvari nastali Maillardovom reakcijom, limunska kiselina
Tvari za vezivanje singleton kisika	Transformiraju singlet kisik u triplet kisik	Karoteni
Tvari koje reduciraju hidroperokside	Reduciraju hidroperokside bez stvaranja radikala	Proteini, amino kiseline

Antioksidativna aktivnost ovisi o mnogo čimbenika kao što su sastav lipida, koncentracija antioksidansa, temperatura, prisustvo drugih antioksidansa i o drugim sastojcima hrane kao što su proteini i voda [104].

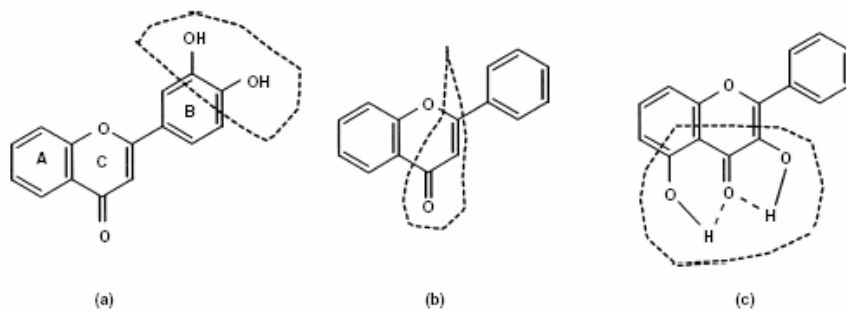
2. 8. 2. Veza između strukture i aktivnosti

Zaštitna uloga flavonoida u biološkim sistemima se pripisuje njihovoj sposobnosti prenošenja elektrona slobodnih radikala [105], aktiviranju antioksidativnih enzima [106], smanjenju radikala α -tokoferola [107] i inhibiciji oksidaza [108].



Slika 12. Mehanizam antioksidativne aktivnosti galangina [109].

Antioksidativna aktivnost flavonoida ovisi o njihovoj kemijskoj strukturi. Općenito postoje tri strukture flavonoida sa sposobnošću uklanjanja slobodnih radikala i/ili s antioksidativnim potencijalom (slika 4.): (a) katehol jedinice na B prstenu, (b) 2,3 dvostruka veza i 4-okso funkcija na C prstenu, (c) prisustvo hidroksilnih grupa na 3 i 5 poziciji.



Slika 13. Veza između antioksidativne aktivnosti i strukture flavonoida.

Prostorni raspored supstituenata je vjerojatno važniji čimbenik u određivanju antioksidativne aktivnosti nego li osnovni kostur flavonoida. Sama konfiguracija i broj hidroksilnih grupa uvelike utječu na antioksidativnu aktivnostu spojeva [110-113]. Za razliku od A-prstena, koji vrlo malo doprinosi antioksidativnoj aktivnosti, B-prsten ima važnu ulogu. B-prsten donira vodik i elektron hidroksilnim, peroksi i peroksinitrit radikalima, stabilizirajući ih i stvarajući relativno stabilne flavonoidne radikale [110]. Razlika u antioksidativnoj aktivnosti između polihidroksiliranih i polimetoksiliranih flavonoida je vjerojatno posljedica hidrofobnosti i molekulske strukture. Metilacija utječe na steričke efekte te na taj način smanjuje antioksidativnu aktivnost [113-115]. Aglikoni su potencijalno jači antioksidansi nego njihovi glikozidi [116, 117]. Plumb i sur. su uvidjeli da se antioksidativna svojstva glikozida flavonola čaja smanjuju s povećanjem broja glikozidnih jedinica. Osim broja, pozicija vezivanja i struktura šećera ima vrlo važnu ulogu [103]. Polimerizacija, također ima utjecaj na antioksidativnu aktivnost. Dimeri i trimeri procijanidina su učinkovitiji od monomernih flavonoida, ali razlika u aktivnosti između dimera i trimera je vrlo mala [107].

2. 8. 3. Promjene antioksidanasa tijekom procesiranja i skladištenja hrane

Poznato je da se mnogi antioksidansi hrane značajno gube tijekom procesiranja hrane (sterilizacije, pasterizacije, dehidracije), ali i tijekom skladištenja te rukovanjem hrane kod kuće i kuhanjem. Tijekom termičkog tretiranja hrane, osim što dolazi do gubitka nutritivne vrijednosti hrane, dolazi i do različitih kemijskih reakcija između sastojaka hrane, odnosno do kemijskih promjena koji su rezultat i Maillardove reakcije. Ove reakcije, koje se dešavaju kondenzacijom šećera sa slobodnim amino kiselinama, proteinima ili peptidima, dovode do formiranja vrlo različitih smeđih melanoidina. Razvoj određenog stupnja posmeđivanja kao posljedice zagrijavanja je poželjno za mnoge prehrambene proizvode. Iako su produkti Maillardove reakcije (PMR) već dugo godina poznati, nije poznato da li je njihov efekat mutagen ili anti mutagen [118-120]. Antimutagena aktivnost se odnosi na činjenicu da PMR mogu djelovati kao antioksidansi odnosno mogu prekidati lance, uklanjati kisik i djelovati kao metalni helatori [121-123]. Gubitak prirodnih antioksidanasa u hrani može biti nadoknađen stvaranjem nenutritivnih antioksidanasa kao što su PMR. Procesiranje, kao i kemijske reakcije koje mogu ali i ne moraju biti izazvane termičkim tretiranjem hrane mogu izazvati gubitak prirodnih antioksidansa u prehrambenim proizvodima. Iako se prirodni antioksidansi gube tijekom zagrijavanja, sveukupna antioksidativna aktivnost nekog proizvoda se može zadržati ili čak i povećati stvaranjem novih antioksidanasa kao što su npr. PMR [124].

Sirovine koje se koriste za pripremu hrane već sadrže tvari koje inhibiraju oksidaciju lipida, ali se i drugi prirodni antioksidansi mogu dodati prije samog procesiranja. Tijekom posljednjih desetljeća razvio se veliki interes za prirodne antioksidanse zbog tendencije da se izbjegava upotreba umjetnih aditiva. Jedno od nepoželjnih svojstava prirodnih antioksidanasa jest njihova osjetljivost na kisik, a posebno prilikom izlaganja svjetlu, visokoj temperaturi i sušenju. Promjene antioksidansa se nastavljaju i tijekom skladištenja prehrambenih proizvoda.

Usprkos velikoj važnosti antioksidansa, malo je objavljenih podataka o njihovim promjenama, interakcijama s drugim sastojcima hrane i utjecaju tih promjena na otpornost hrane na oksidaciju. Općenito, aktivnost prirodnih antioksidansa uvelike ovisi o kompleksnosti hrane.

Evaporacija je, gledano kroz povijest, bila najznačajniji proces za koncentriranje tekućina u prehrambenoj industriji. Provodi se na visokim temperaturama što je u suprotnosti s drugim metodama koncentriranja (kao što su membranska filtracija i koncentriranje zamrzavanjem) kod kojih je glavni cilj smanjenje degradacije proizvoda uzrokovano toplinom. Tijekom evaporacije dolazi do promjene boje proizvoda, npr. mlijeka, djelomično zbog povećanja koncentracije topljivih tvari, ali i do smanjenja aktiviteta vode što dovodi do kemijskih promjena kao što su karamelizacija šećera, Maillardovih reakcija posmeđivanja ili interakcija između lipida i proteina. Također, zbog visoke temperature, dolazi do degradacije nekih termolabilnih vitamina, smanjenja biološke vrijednosti proteina, te oksidacije lipida. Dolazi i do smanjenja antioksidativne učinkovitosti zbog termičke degradacije. Kako bi se degradacija svela na minimum, uzrokovana toplinom tijekom evaporacije, potrebno je smanjiti vrijeme tretiranja proizvoda na povišenoj temperaturi, te vrijeme potrebno za postizanje temperature evaporacije.

Sušenje je operacija tijekom koje dolazi do smanjenja sadržaja vode na 6 – 12 % (zavisno o vrsti hrane), tako da se dobije kruti proizvod. U hrani su lipidi, liposomi ili membrane zaštićene omotačem proteina kako bi se zaštitili od kisika iz zraka. Zbog dehidratacije zaštitni omotači se oštećuju, te su lipidi dostupni kisiku. Na taj način dolazi do brže oksidacije lipida u sušenim proizvodima nego u proizvodima s normalnim sadržajem vode. Visoka koncentracija slobodnih radikala lipida uzrokuje gubitak antioksidanasa i smanjenje njihove učinkovitosti.

Prilikom *zamrzavanja* dolazi do uklanjanja vode u obliku kristala leda. Oksidativne promjene lipida i antioksidanasa mogu biti veće u zamrznutoj hrani, nego u ohlađenoj.

Kako bi se ostvarila ravnoteža između prooksidanasa i antioksidanasa u hrani može se primijeniti pakiranje u modificiranoj atmosferi, vakuum pakiranje kako bi se omogućila kontrola sadržaja kisika. Najbitnije je da se prije samog pakiranja kisik brzo ukloni [125].



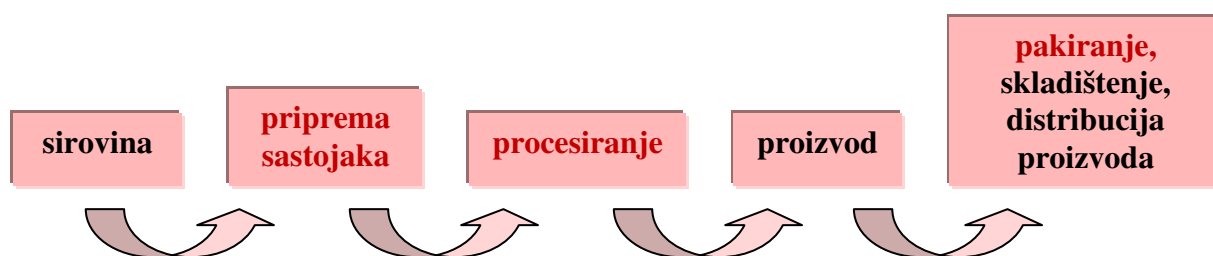
EKSPERIMENTALNI DIO

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. 1. DEFINIRANJE ZADATKA

Prema slici 2. iz sirovine je potrebno proizvesti što kvalitetniji finalni proizvod. Pretpostavka je da je sirovina dobre kvalitete, te je iz nje potrebno proizvesti što kvalitetniji poluproizvod odnosno poluproizvod s poboljšanim svojstvima (aroma, tekstura, boja) u odnosu na uobičajeni poluproizvod kako bi finalni proizvod bio što kvalitetniji, a samim time i prihvaćeniji od strane potrošača.

Iz slike 2. vidimo koji su najbitniji dijelovi u lancu od sirovine do distribucije proizvoda do potrošača, a cilj prehrambene industrije je udovoljiti zahtjevima potrošača. U ovom radu se je pokušao dobiti proizvod, pasta od jagode, bolji od onog koji se dobiva industrijskim postupkom.



Slika 14. Shematski prikaz lanca od sirovine do distribucije proizvoda do potrošača s označenim dijelovima (crveno) na koje se je pokušalo utjecati kako bi se dobio što kvalitetniji proizvod.

Na slici 14. naznačeni (crveno) su dijelovi koji su mijenjani kako bi se postigao što kvalitetniji proizvod. S obzirom da se pretpostavlja da je kvaliteta sirovine konstantna, za poboljšanje kvalitete proizvoda mijenjala se je priprema smjese za pripremu paste od jagode, primijenjeni su različiti procesi pripremanja paste od jagode, te je mijenjan način pakiranja uzoraka dok su vrijeme i temperatura skladištenja ostali isti.

Pasta od jagode se koristi kao punilo za energetske pločice, čokolade i druge proizvode koji sadrže voće. U industrijskoj praksi, pasta od jagode se priprema evaporacijom na 80 °C uz dodatak umjetne arome jagode nakon hlađenja paste. S obzirom da se evaporacija provodi na visokoj temperaturi dolazi do degradacije proizvoda odnosno do gubitka hlapljivih spojeva arome, boje, degradacije antocijana itd. Kako bi se nadoknadio gubitak spojeva

arome, u industriji se dodaje umjetna aroma jagode. Dobiveni poluproizvod je takve teksture da se lako nanosi na pločice (bazu proizvoda) pomoću valjaka zagrijanih na oko 30 °C.

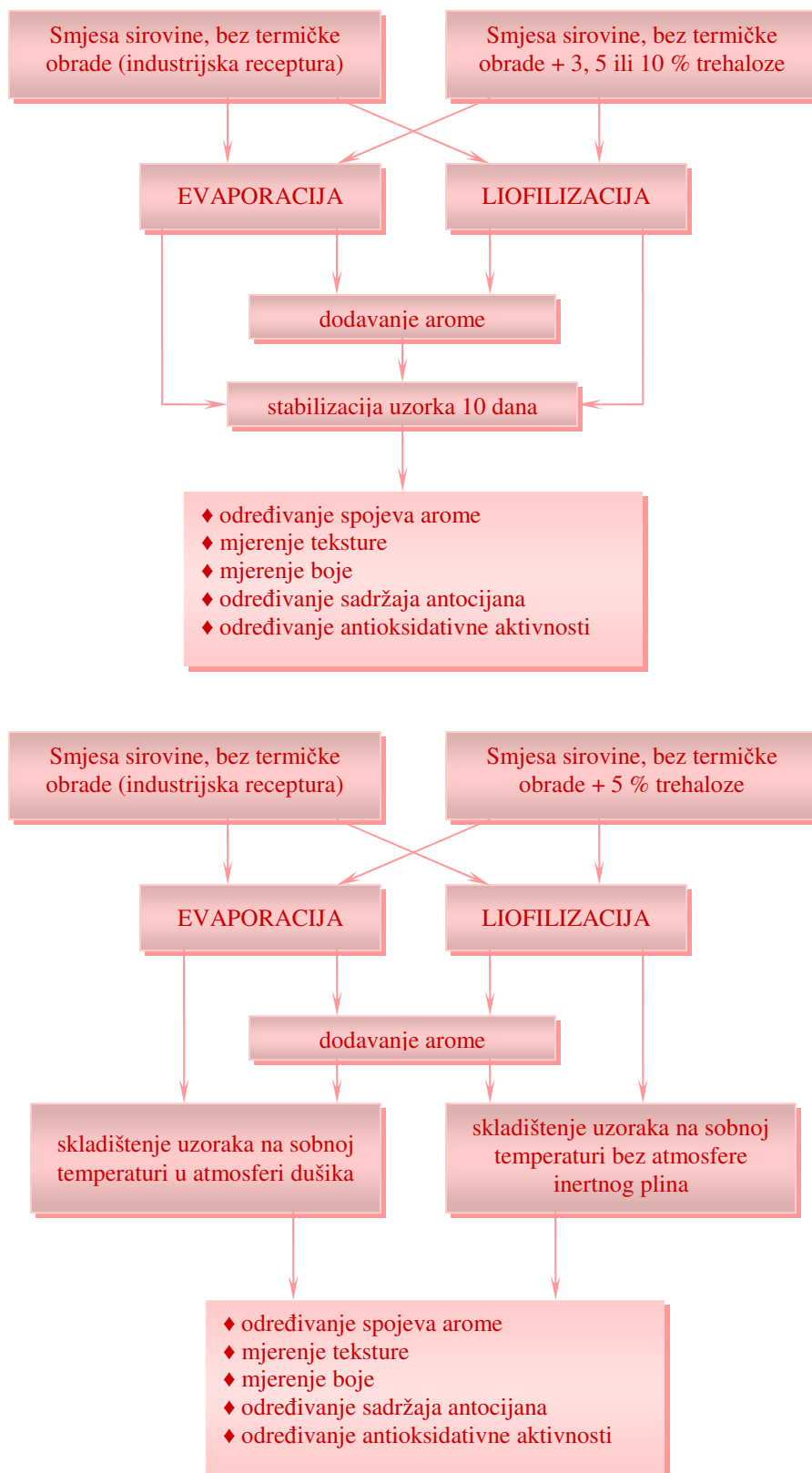
Za poboljšanje kvalitete ovakvog poluproizvoda, a samim time i finalnog proizvoda, u ovom radu uzorci paste od jagode osim evaporacijom pripremljeni su i liofilizacijom. S obzirom da se liofilizacija provodi na niskim temperaturama zbog primjene sniženog tlaka pretpostavilo se je da će doći do manjeg gubitka spojeva arome i manje degradacije boje. Također se je želio utvrditi utjecaj liofilizacije na teksturu paste od jagoda.

Komes i sur. (2004.) su istraživali utjecaj dodatka trehaloze na zadržavanje spojeva arome u kaši jagode sušene liofilizacijom i sušenjem u pjeni, te su ustanovili pozitivan učinak dodatka trehaloze na zadržavanje spojeva arome [2]. U pripremi uzoraka 3, 5 i 10 % saharoze zamijenjeno je dodatkom iste količine trehaloze kako bi se ispitao utjecaj dodatka trehaloze na zadržavanje spojeva arome, te kako bi se utvrdilo ima li pozitivan učinak i u kompleksnom matriksu, kao što je pasta jagode, a ne samo u kaši jagode. Također se je želio utvrditi i utjecaj dodatka trehaloze na teksturu, boju i stabilnost antocijana. Željelo se utvrditi i ima li trehaloza isti učinak na ispitivana svojstva paste od jagode pripremljene na dva različita načina dehidratacije, evaporacijom i liofilizacijom. Kao kontrolni uzorak za usporedbu je pripremljena pasta od jagode bez dodatka trehaloze.

Uzorci su pripremani sa dodatkom i bez dodatka arome jagode kako bi se utvrdio stupanj zadržavanja spojeva arome u uzorcima s različitim dodatkom trehaloze odnosno ima li trehaloza veći utjecaj na uzorke s prirodnom aromom ili s dodatkom umjetne arome jagode, te kakav je utjecaj same pripreme uzoraka (evaporacije i liofilizacije).

Nakon pripreme uzoraka provedene su odgovarajuće analize, a iz dobivenih rezultata odlučeno je koji će se uzorci skladištiti. Utvrđeno je da dodatak 5 % trehaloze ima najbolji učinak na sveukupnu kvalitetu. Za skladištenje su pripremljeni uzorci bez dodatka trehaloze i sa dodatkom 5 % trehaloze. Uzorci su pripremljeni evaporacijom i liofilizacijom, sa i bez dodatka umjetne arome. Uzorci su skladišteni na sobnoj temperaturi, stoga što i sam finalni proizvod stoji na policama u trgovini na sobnoj temperaturi i ne zahtjeva posebne temperature skladištenja.

Uzorci su skladišteni u atmosferi inertnog plina, dušika i u zraku, te su nakon 5 mjeseci skladištenja provedene analize određivanja spojeva arome, teksture, boje, antocijana.



Slika 15. Shematski prikaz rada.

3. 2. MATERIJALI I METODE

3. 2. 1. Materijali

Sirovine potrebne za pripremu pasta od jagoda dobivene su u *Fructalu* (Ajdovščina, Slovenija). U istraživačkom laboratoriju *Fructala* sirovine (kaša jagode, šećer, škrob, hidrogenirana biljna mast, glukozni sirup, sorbitol) za pripremu pasta od jagode su bile pomiješane prema industrijskoj recepturi. Kako bi se mogao pratiti utjecaj dodatka trehaloze na kvalitetu pasta od jagode, dio saharoze zamijenili su istom količinom trehaloze. Tako dobivene smjese sirovina korištene su za pripremu pasta od jagode evaporacijom i liofilizacijom.

Kemikalije

- Trehaloza, $M = 342,3$ g/mol – Merck (Njemačka).
- Kalij-klorid, natrij-acetat, methanol, klorovodična kiselina – Kemika (Zagreb, Hrvatska).
- 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazil (DPPH) – Fluka (Njemačka).
- Aroma jagode – *Fructal* (Ajdovščina, Slovenija).

3. 2. 2. Metode

3. 2. 2. 1. Postupci dehidracije

Smjesa sirovine za dehidraciju imala je $40 \pm 0,2$ % suhe tvari mjereno refraktometrom (Refracto 30P, Mettler Toledo), te je dehidracija početne smjese provedena do sadržaja suhe tvari od $76 \pm 0,2$ %.

3. 2. 2. 1. 1. *Evaporacija*

Postupak evaporacije proveden je na laboratorijskom rotavaporu (Büchi Rotavapor R-114, Švicarska) pod vakuumom (Büchi Vac V-500 i Büchi Vacuum Controller B-721, Švicarska) na 80 °C. Rotavapor je opremljen s vodenom kupelji (Büchi Watherbath B-480, Švicarska) pomoću koje se je temperatura evaporacije održavala konstantnom. Sam proces evaporacije do željene suhe tvari trajao je 1 h 40 min.

Napravljene su tri paralele za svaku dodanu količinu trehaloze (0, 3, 5 i 10 %).

3. 2. 2. 1. 2. Liofilizacija

Dehidracija smjese sirovina liofilizacijom provedena je u liofilizatoru GAMMA 2-20, tvrtke Martin Christ (Njemačka) prema procesnim uvjetima prikazanim u tablici 6. Proces liofilizacije trajao oko 50 h.

Tablica 6. Prikaz procesnih parametra za liofilizaciju uzoraka.

operacija	temperatura (°C)	vrijeme	vakuum (mbar)
<i>zamrzavanje</i>	- 20	2 h	-
<i>sublimacija</i>	- 20	28 h	0,630
	- 10	15 h	0,630
	- 10	15 min	0,1
	0	2 h	0,01
<i>izotermna desorpcija</i>	10	2 h	0,01
	20	1 h	0,01

Napravljene su tri paralele za svaku dodanu količinu trehaloze (0, 3, 5 i 10 %).

Nakon evaporacije i liofilizacije, u uzorke je dodana aroma jagode nakon čega su uzorci dobro promiješani i ostavljeni stajati 10 dana kako bi došlo do stabilizacije uzoraka, a zatim su provedena ispitivanja spojeva arome, teksture i boje.

3. 2. 2. 2. Analiza spojeva arome

Analiza spojeva arome provedena je plinsko-kromatografskom metodom uz upotrebu plinskog kromatografa s maseno-selektivnim detektorom (GC/MS). Ova metoda plinske kromatografije primijenjena je sa svrhom potvrde pojedinačnih spojeva arome i to na osnovi usporedbe spektra pojedinog sastojka uzoraka sa spektrom iz baze podataka pohranjene u software-u.

U radu je korišten GC 6890N (Agilent, SAD), opremljen s masenim detektorom MS 5971A (Hewlett Packard, SAD) i autosemplerom.

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

temperatura ekstrakcije: 50 °C

vrijeme ekstrakcije: 40 min

tip mikroekstrakcijske igle: 85 µm Carboxen/PDMS (Supelco)

GC-MS analitički uvjeti:

kolona: ZB-WAX; 60 m x 0,32 mm x 0,5 µm (Phenomenex)

početna temperatura: 40 °C (5 min)

temperaturni gradijent: 4 °C/min

plin nosač: helij (čistoće 6,0) s protokom 1 mL/min pri 40 °C

konačna temperatura: 230 °C

injektor: zatvoren 0,5 min

temperatura: 270 °C

vrijeme desorpcije vlakna: 5 min

detektor: maseni

tok ionizacije molekula s elektronima energije: 70 eV

temperatura ionskog izvora: 180 °C

maseni spektar: full-scan mode (30/300 m/z)

Određivani su odabrani voćni esteri, furaneol i γ -dodekalakton.

Tablica 7. Prikaza retencijskih vremena i kvantifikacijskih iona za određivanje odabranih spojeva arome

spoj	retencijsko vrijeme/ min	kvantifikacijski ion
<i>etil-butanoat</i>	17,1	71
<i>2-metil-etil-butanoat</i>	17,7	57
<i>3-metil-etil-butanoat</i>	18,5	88
<i>etil-heksanoat</i>	25,3	88/101
<i>metil-heksanoat</i>	23,5	74
<i>heksil-acetat</i>	26,8	43
<i>etil-pentanoat</i>	21,36	88
<i>metil-butanoat</i>	15,05	74
<i>γ-dekalakton</i>	54,4	-
<i>furaneol</i>	51,04	-

3. 2. 2. 3. Određivanje aktiviteta vode

Oko 2 g uzorka stavljeno je u staklene posude s poklopcem. Uzorci su ostavljeni tako stajati 24 h prije mjerenja aktiviteta vode na DECAGON CX-1 (SAD) instrumentu za određivanje aktiviteta vode.

3. 2. 2. 4. Analiza teksture

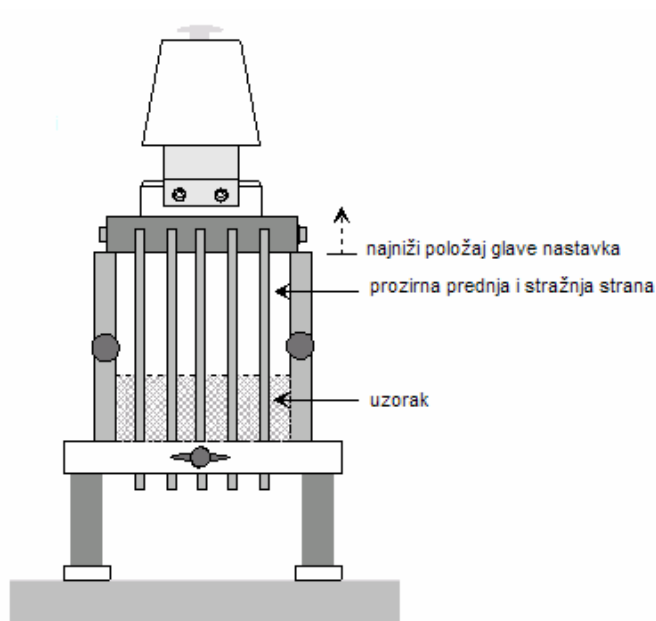
Za određivanje teksture korišten je Texture analyser TA.XTplus (Stable Mycro System, Velika Britanija). Dobiveni podaci su analizirani s Texture expert Version 1.22 Software (Stable Micro System, Velika Britanija).

3. 2. 2. 4. 1. Određivanje čvrstoće i indeksa teksture pomoću Kramer-ovog nastavka

Određivanje čvrstoće i indeksa teksture koristi se za analizu uzoraka sastavljenih od više komponenata ili nehomogenih uzoraka, kao što su liofilizirano voće i povrće, pašete, punjenja za kolače, pekarski proizvodi itd.

Kako bi se izbjegle razlike u rezultatima za isti uzorak koristi se Kramer-ov nastavak za smicanje koji ima 5 ili 10 rezača. Na taj način se dobiju ponovljivi rezultati za promjenjive uzorke.

Spuštanjem rezača Kramerovog nastavka za smicanje, uzorak hrane se tlači. Kako se deformacija nastavlja dolazi do istiskanja uzorka prema gore među rezačima i prema dolje kroz otvore na dnu nastavka. Kada rezači dođu do otvora nastavka na donjem dijelu, uzorak se počne smicati. Sila potrebna za pomicanje rezača u direktnoj je vezi s teksturom. Sile pri različitim stadijima mjerenja (kompresija, ekstruzija, smicanje) osiguravaju dodatne informacije o teksturalnim svojstvima.



Slika 16. Prikaz Kramerovog nastavka za mjerenje čvrstoće uzoraka.

Na temelju preliminarnih mjerenja određeni su uvjeti za provedbu Kramer-ovog testa. Pomoću metalnog modela pripremljene su pločice dimenzija 6 x 8 x 1 cm, na kojima je proveden Kramer-ov test. Pripremljene pločice uzoraka ostavljene su na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 sata, nakon vađenja iz zamrzivača uzorci su stavljeni u okvir Kramer-ovog nastavka te ostavljeni sat vremena da se temperiraju na $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Parametri mjerenja pomoću Kramer-ovog nastavka (HDPKS5):

Tip mjerenja: Sila prilikom kompresije

Brzina prije mjerenja: 10,0 mm/s

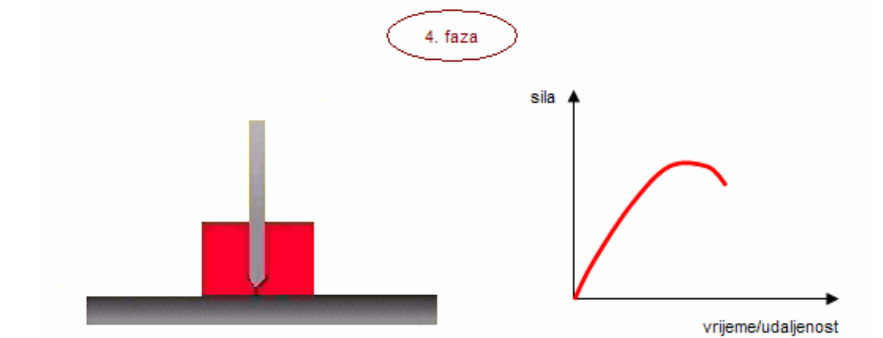
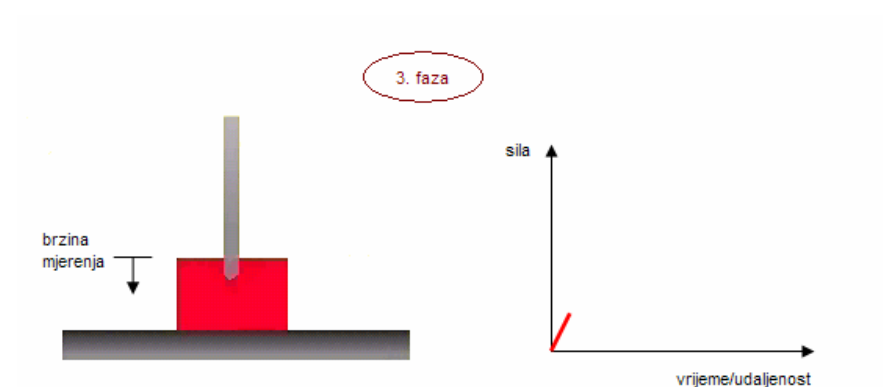
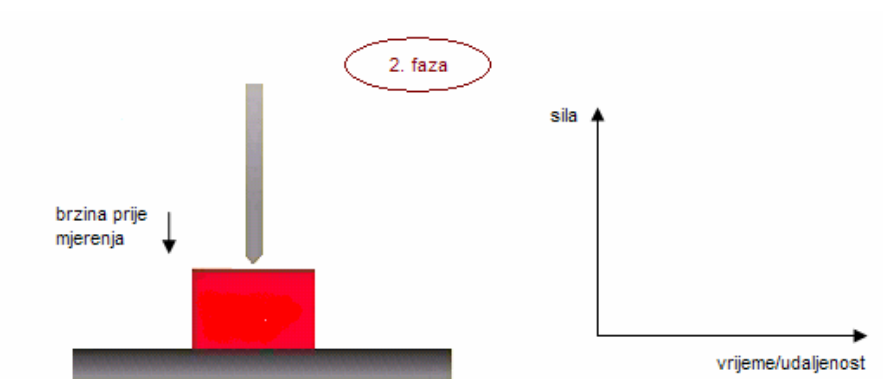
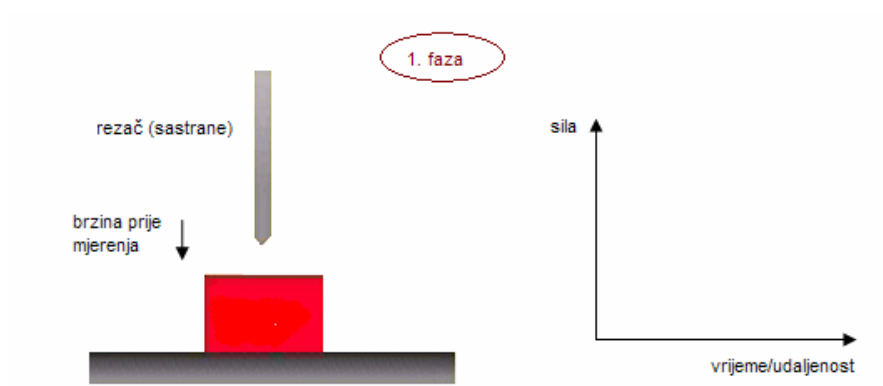
Brzina mjerenja: 3,0 mm/s

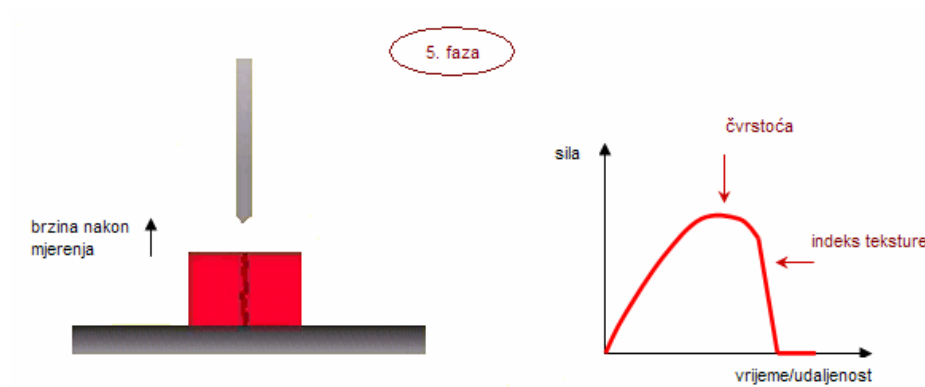
Brzina nakon mjerenja: 10,0 mm/s

Dubina prodiranja rezača: 48 mm

Način reagiranja: Dno uzorka

Nakon prodiranja uzorka: Povratak u prvobitan položaj

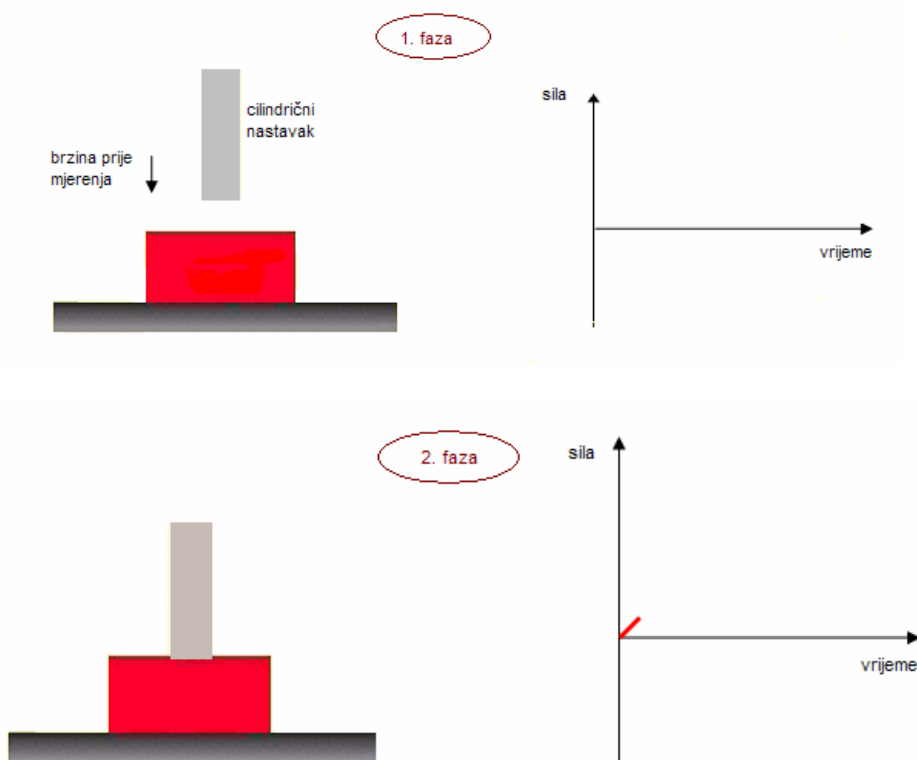


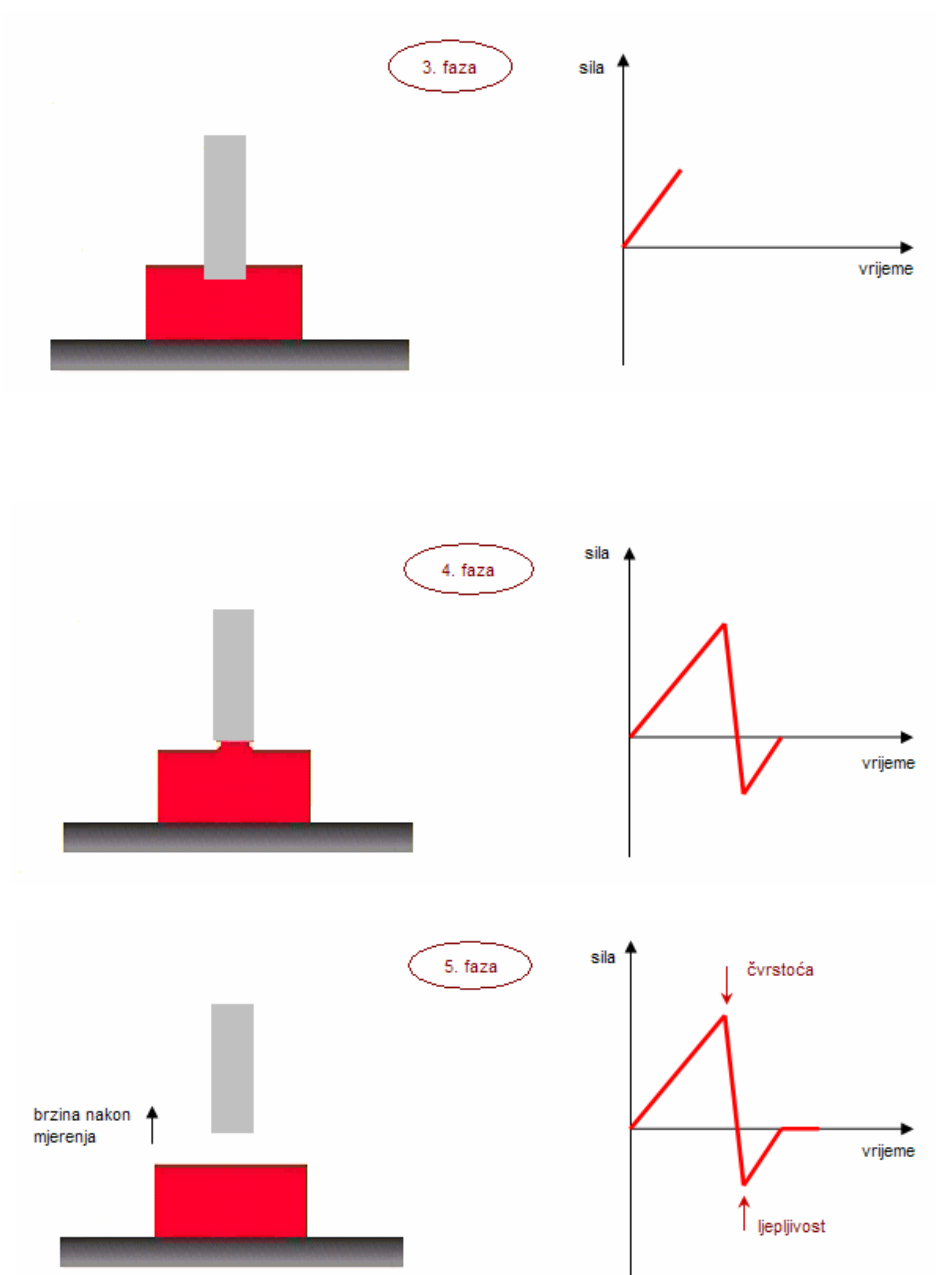


Slika 17. Prikaz mjerenja čvrstoće uzorka pomoću Kramer-ovog nastavka po fazama.

3. 2. 2. 4. 2. *Određivanje ljepljivosti*

Ljepljivost (adhezija) je sila otpora odvajanju dvaju tijela u kontaktu. Obično se mjeri pomoću cilindričnog nastavka koji se spušta na površinu uzorka (nije uobičajena velika deformacija) nakon čega se mjeri sila potrebna za odvajanje nastavka od uzorka.





Slika 18. Prikaz mjerenja čvrstoće uzorka pomoću cilindričnog nastavka.

Parametri mjerenja pomoću cilindričnog nastavka promjera 1 cm:

Tip mjerenja: Penetracija

Brzina prije mjerenja: 2,0 mm/s

Brzina mjerenja: 1,0 mm/s

Brzina nakon mjerenja: 10,0 mm/s

Dubina prodiranja cilindra: 6 mm

Način reagiranja: Sila 1 g

Nakon prodiranja uzorka: Povratak u prvobitan položaj

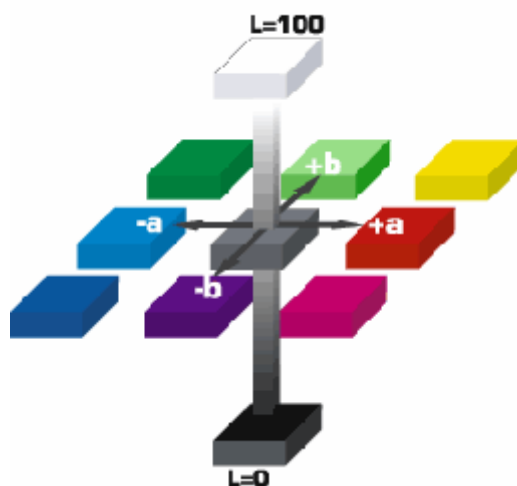
3. 2. 2. 5. Određivanje i praćenje promjene boje

Mjerenje boje kao i promjena boje praćeni su pomoću kromametra (Minolta CR-300). Ovaj tip kromametra mjeri reflektiranu svjetlost s površine predmeta. Svjetlost se reflektira, te takvu svjetlost mjeri šest jako osjetljivih silikonskih fotočelija. Podatke zapisuje računalo i izražava ih u pet različitih sustava (X, Y, Z; Yxy; LCH; Lab; Hunter Lab). U radu je korišten Lab sustav koji daje približne vrijednosti kao i ljudsko oko.

Pomoću L^* vrijednosti određuje se je li neki predmet taman ili svijetao. Ako je $L^* = 0$ tada je predmet crne boje, a ako je $L^* = 100$ predmet je bijel.

a^* vrijednost određuje je li neki predmet crvene ili zelene boje. Ako je a^* pozitivan predmet je crvene boje, a ako je a^* negativan predmet je zelen.

b^* vrijednost određuje je li neki predmet žute ili plave boje. Ako je b^* pozitivan predmet je žute boje, a ako je b^* negativan predmet je plav.



Slika 19. Prikaz načina očitavanja boje u Lab sustavu [126].

Udaljenost između dvije točke u koordinatnom sustavu boje se izražava kao ΔE . Veza između izračunate promjene boje, ΔE , i ljudske percepcije boje dana je u tablici 8.

Tablica 8. Veza između izračunate promjene boje, ΔE , i ljudske percepcije boje [127].

ΔE	Vidljivost razlike ljudskim okom
< 0,2	Nije vidljiva razlika
0,2 – 1	Vrlo mala vidljivost razlike
1 – 3	Mala vidljivost razlike
3 – 6	Prosječna vidljivost razlike
> 6	Velika vidljivost razlike

Mjerenje boje provedeno je na uzorcima nakon pripreme, te nakon 4 mjeseca skladištenja.

Nakon pripreme pločica (6 x 8 x 1 cm) za mjerenje teksture, napravljeno je mjerenje boje svake od njih pomoću kolorimetra Minolta CR - 300, primjenom Lab sustava. Na svakoj pločici provedeno je 10 mjerenja.

Na temelju dobivenih vrijednosti izračunata je:

- promjena boje ΔE ,

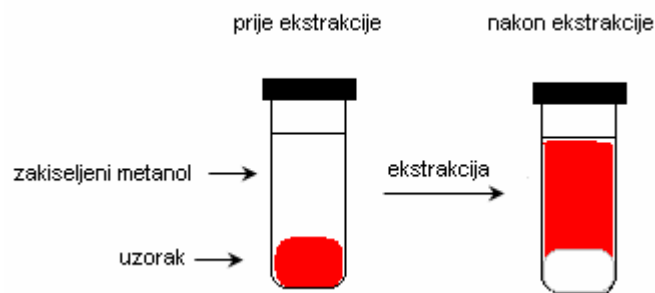
$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

- intenzitet boje C ili «chroma»

$$C = \sqrt{a^2 + b^2}$$

3. 2. 2. 6. Ekstrakcija uzoraka

Uzorci su ekstrahirani sa zakiseljenim metanolom (metanol : koncentrirana HCl = 49 : 1). Izvagano je 0,2 g uzorka u eppendorff kivetu, te je dodano 1,2 mL zakiseljenog metanola. Kivete su zatim stavljene u ultrazvučnu kupelj na sobnoj temperaturi 20 minuta. Nakon toga su uzorci centrifugirani 5 minuta pri 12000 okretaja. Ekstrakt je korišten za određivanje antocijana, degradacijskog indeksa i antioksidativne aktivnosti.



Slika 20. Prikaz ekstrakcije uzorka paste od jagode.

3. 2. 2. 7. Određivanje sadržaja antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda. pH-diferencijalna metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra absorbancije. pH-diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati.

Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom modifikacijom [128]. Otpipetirano je 0,2 mL ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 mL pufera pH 1, a u drugu 1 mL pufera pH 4,5. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena apsorbanca pri valnim duljinama od 503 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$C_{(antocijana)} (mg/kg) = (A \times M \times FR \times 1000) / \epsilon \times l$$

gdje je:

A - absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{503} - A_{700})_{pH 1} - (A_{503} - A_{700})_{pH 4,5}$$

M - 449,2

FR - faktor razrjeđenja

ϵ - molarna absorptivnost; 26 900

l - duljina kivete; 1 cm

(M i ϵ su uzeti za dominantnu vrstu antocijanina odnosno za cijanidin-3-glukozida).

3. 2. 2. 8. Određivanje degradacijskog indeksa (DI)

Degradacijski indeks (DI) predstavlja degradaciju antocijana odnosno smanjenje intenziteta crvene boje (A_{503}) i povećanje posmeđivanja (A_{420}). DI se izračunava prema formuli [129]:

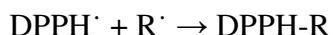
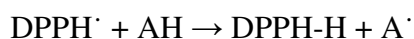
$$DI = (A_{420}) / (A_{503})$$

3. 2. 2. 9. Određivanje antioksidativne aktivnosti

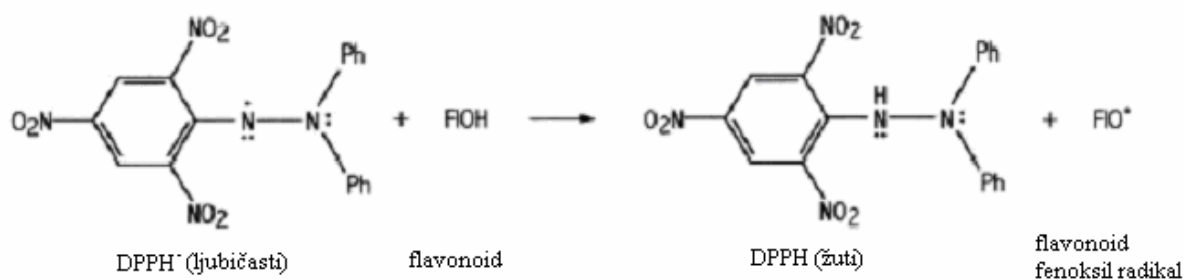
Antioksidativna aktivnost je određivana primjenom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa.

Uklanjanje radikala je glavni mehanizam djelovanja antioksidansa u hrani. Nekoliko metoda je razvijeno za određivanje antioksidativne aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. One koje su najčešće, koriste 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

Kod DPPH testa, uklanjanje DPPH radikala je praćeno smanjenjem absorbancije na 515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa (AH) ili reakcije s radikalima ($R^\cdot$) [130].



Prva reakcija s DPPH radikalima odvija se s nekom od fenolnih tvari, ali spora sekundarna reakcija može izazvati progresivno smanjenje absorbance, te se ravnotežno stanje ne može postići nekoliko sati.



Slika 21. Prikaz reakcije DPPH radikala s flavonoidima [112].

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primjenjena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) [131] s malim modifikacijama. U kivetu je odpipetirano 0,1 mL ekstrakta, 0,6 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Reakcijska smjesa je ostavljena stajati 30 minuta te je absorbancija mjerena na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol. Antioksidativna aktivnost je izračunata prema slijedećem izrazu:

$$aa \text{ (\%)} = (1 - A_1/A_0) \times 100$$

gdje je:

A_0 - absorbancija slijepe probe

A_1 - absorbancija uzorka.

3. 2. 2. 10. Priprema uzoraka za skladištenje

Uzorci bez dodatka trehaloze i odabrani uzorci s dodatkom 5 % trehaloze pakirani su u atmosferi inertnog plina-dušika i u zraku, kako bi se pratila promjena kvalitete paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja pri sobnoj temperature.

Za pakiranje su korištene poliamid/polietilen (PA/PE) vrećice (Amba Co. d.o.o., Ljubljana) debljine 0,09 mm s propusnošću za kisik $57 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \times 24 \text{ h} \times \text{bar}$ pri temperaturi od 23°C . Pakiranje je provedeno na vakuum pakirnom stroju Kramer-Grebe Quick Automatik.

3. 2. 2. 11. Statistička obrada podataka

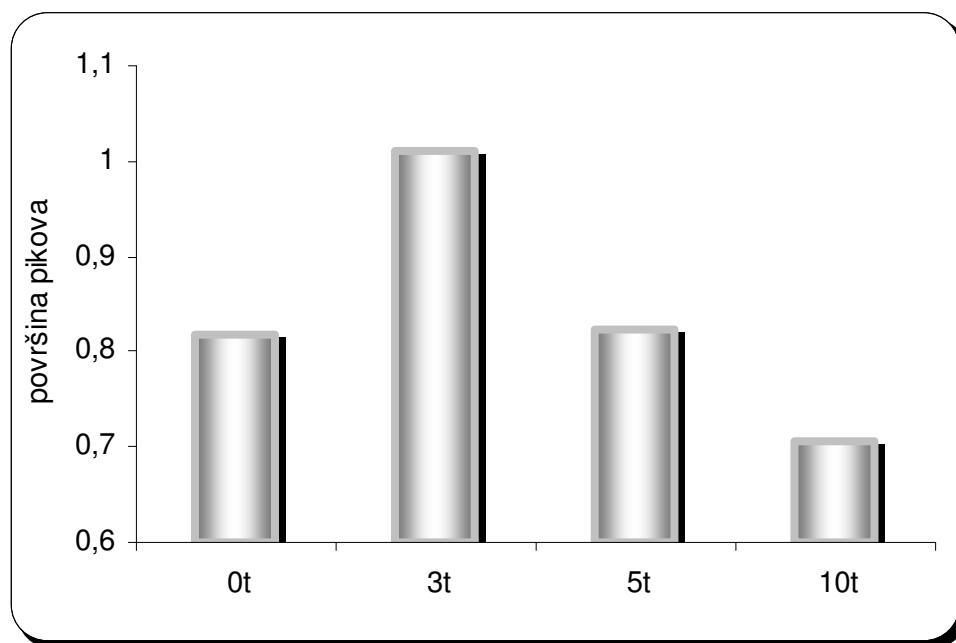
Pri obradi rezultata izračunate su srednje vrijednosti i standardna devijacija izmjerenih, odnosno izračunatih parametara u uzorcima. Rezultati su statistički obrađeni pomoću Fisher LSD testa ($P < 0,05$). Za obradu podataka korišteni su programi Microsoft Excel 2000 i Statistica 6.0.



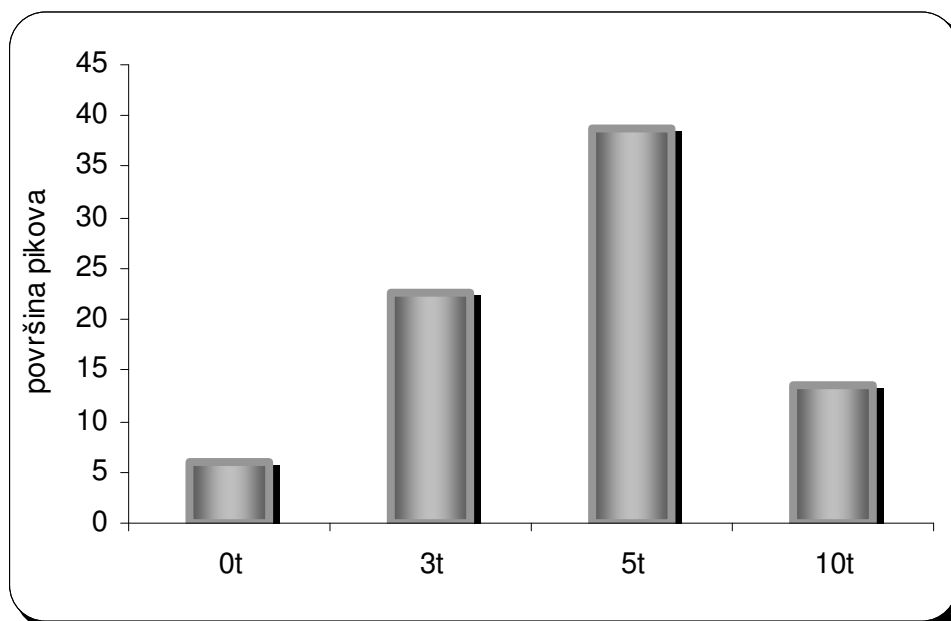
REZULTATI

4. REZULTATI

4. 1. Rezultati nakon pripreme uzoraka



Slika 22. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u evaporiranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



Slika 23. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 9. Usporedba zadržavanja voćnih estera u liofiliziranim uzorcima u odnosu na evaporirane uzorke, bez dodatka arome jagode

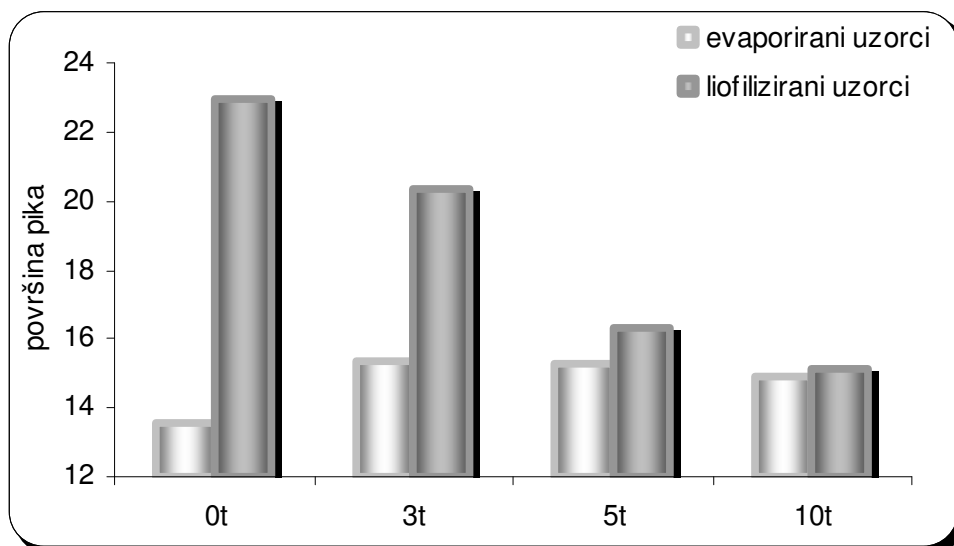
uzorci	0t	3t	5t	10t
	7,21	22,44	47,08	19,11

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 10. Usporedba zadržavanja voćnih estera u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima (bez dodatka arome jagode) s dodatkom trehaloze te uzoraka bez dodatka trehaloze

uzorci	3t	5t	10t
<i>evaporirani</i>	1,23	1,01	0,86
<i>liofilizirani</i>	3,84	6,57	2,29

(3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

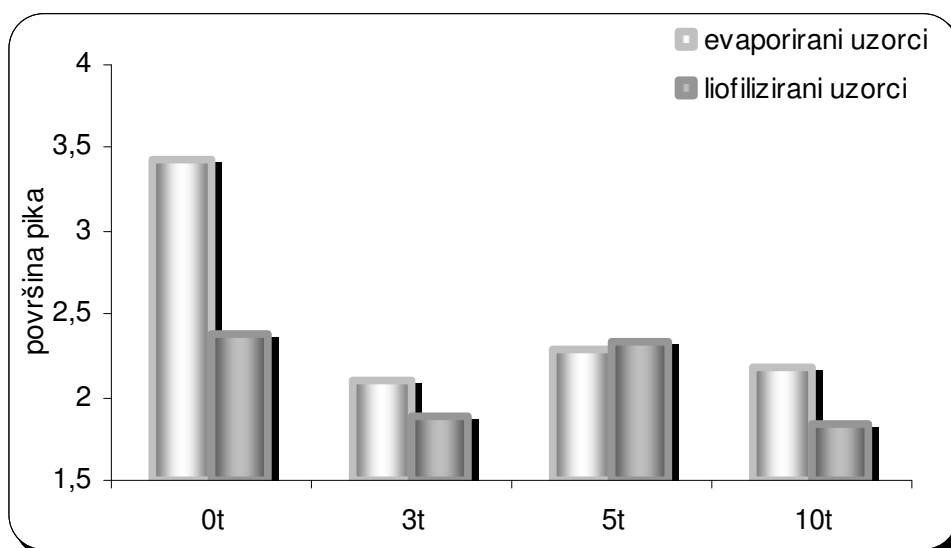


Slika 24. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 11. Usporedba zadržavanja γ -dodekalakton u liofiliziranim uzorcima u odnosu na evaporirane uzorake, bez dodatka arome jagode

uzorci	0t	3t	5t	10t
	1,69	1,33	1,07	1,02

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

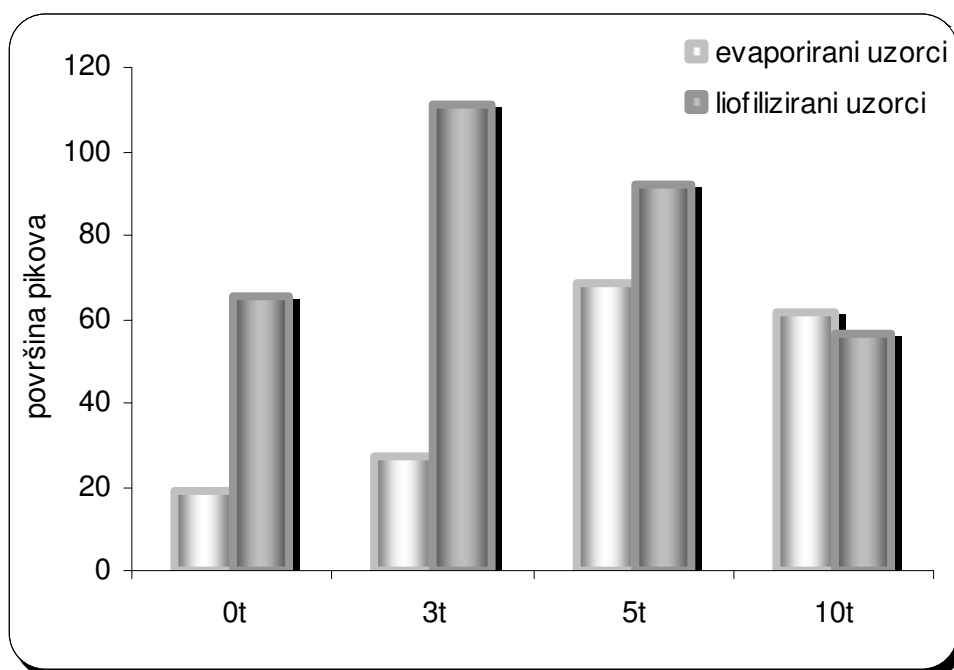


Slika 25. Prikaz sadržaja furaneola u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 12. Usporedba zadržavanja furaneola u liofiliziranim uzorcima u odnosu na evaporirane uzorke, bez dodatka arome jagode

uzorci	0t	3t	5t	10t
	0,70	0,90	1,02	0,84

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



Slika 26. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 13. Usporedba zadržavanja voćnih estera u liofiliziranim uzorcima u odnosu na evaporirane uzorke, sa dodatkom arome jagode

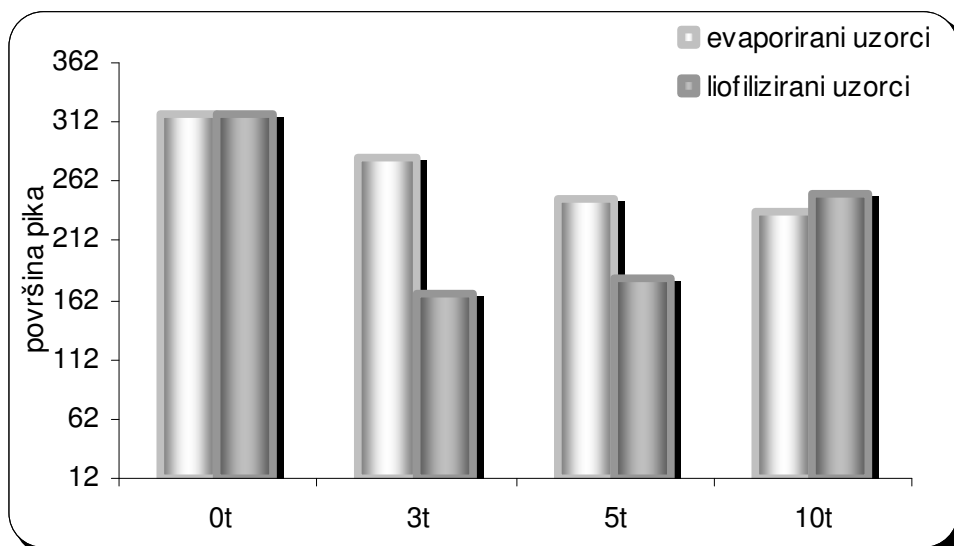
uzorci	0t	3t	5t	10t
	3,42	4,10	1,35	0,92

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

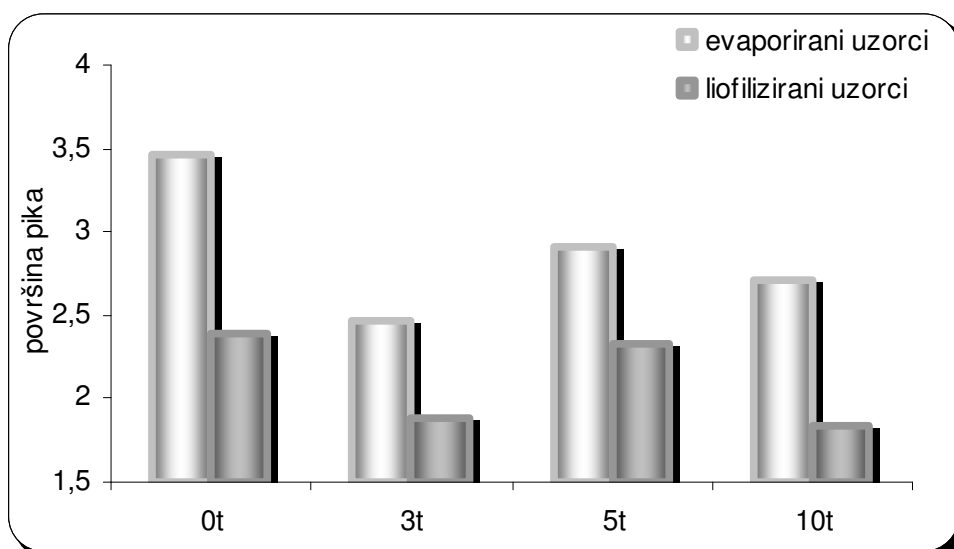
Tablica 14. Usporedba zadržavanja voćnih estera u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima (sa dodatka arome jagode) s dodatkom trehaloze u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze

uzorci	3t	5t	10t
<i>evaporirani</i>	1,41	3,56	3,22
<i>liofilizirani</i>	1,69	1,40	0,87

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



Slika 27. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

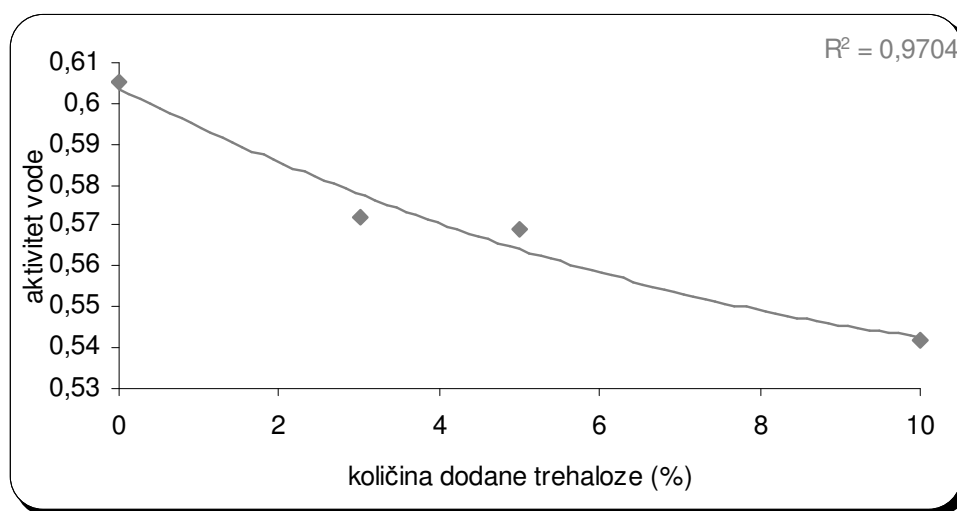


Slika 28. Prikaz sadržaja furaneola u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

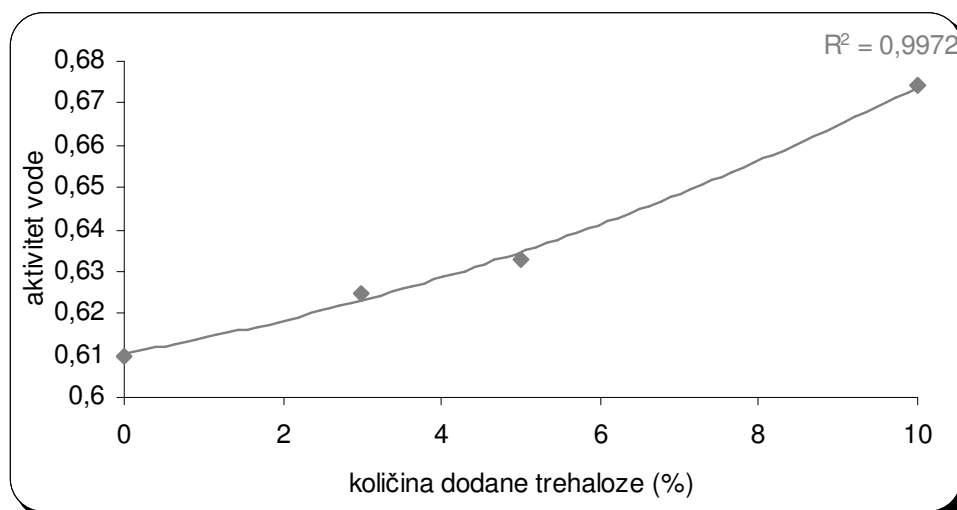
Tablica 15. Aktivitet vode u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode

uzorci	aktivitet vode	
	evaporirani	liofilizirani
0t	0,610	0,605
3t	0,625	0,572
5t	0,633	0,569
10t	0,674	0,542

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



Slika 29. Ovisnost aktiviteta vode o količini dodane trehaloze u liofiliziranim uzorcima paste od jagode



Slika 30. Ovisnost aktiviteta vode o količini dodane trehaloze u evaporiranim uzorcima paste od jagode

Tablica 16. Čvrstoća i indeks teksture evaporiranih uzoraka paste od jagode određivanih pomoću Kramerovog testa

uzorci	čvrstoća (kg)	indeks teksture
evaporirani		
0t	3,048 ^a ± 0,42	11,911 ^a ± 1,58
3t	2,641 ^b ± 0,17	9,965 ^b ± 0,76
5t	2,135 ^c ± 0,35	8,324 ^c ± 0,78
10t	1,501 ^d ± 0,23	6,341 ^d ± 0,67

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite ($P < 0,05$).

Tablica 17. Čvrstoća i indeks teksture liofiliziranih uzoraka paste od jagode određivanih pomoću Kramerovog testa

uzorci	čvrstoća (kg)	indeks teksture
liofilizirani		
0t	18,847 ^a ± 2,13	70,314 ^a ± 6,64
3t	12,357 ^b ± 1,97	47,641 ^b ± 5,47
5t	10,635 ^d ± 1,20	40,793 ^c ± 4,17
10t	4,584 ^d ± 0,46	19,987 ^d ± 3,03

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite ($P < 0,05$).

Tablica 18. Čvrstoća i ljepljivost evaporiranih uzoraka paste od jagode određivanih pomoću testa penetracije

uzorci	čvrstoća (g)	ljepljivost (g)
evaporirani		
0t	2,54 ^a ± 0,21	1,633 ^a ± 0,13
3t	2,41 ^a ± 0,19	1,465 ^b ± 0,17
5t	2,26 ^b ± 0,18	1,393 ^b ± 0,19
10t	1,52 ^c ± 0,20	1,046 ^c ± 0,16

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

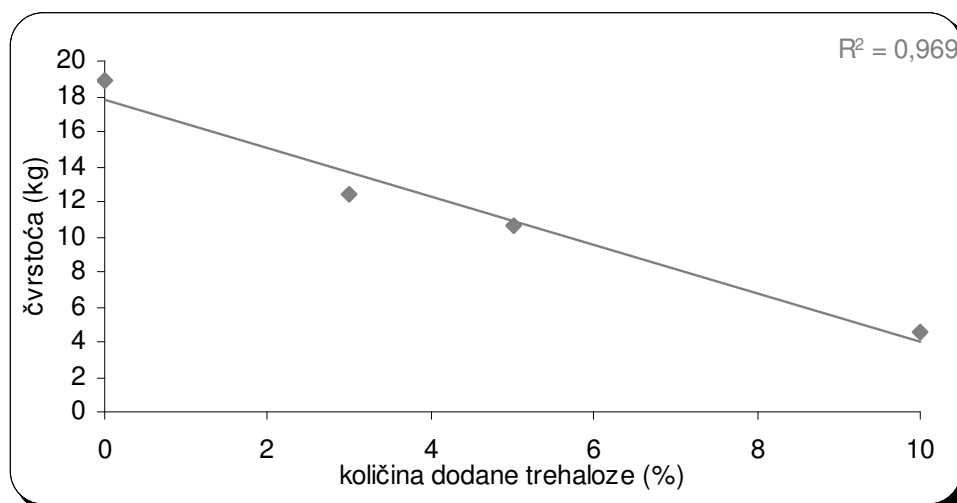
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-c) su statistički značajno različite ($P < 0,05$).

Tablica 19. Čvrstoća i ljepljivost liofiliziranih uzoraka paste od jagode određivanih pomoću testa penetracije

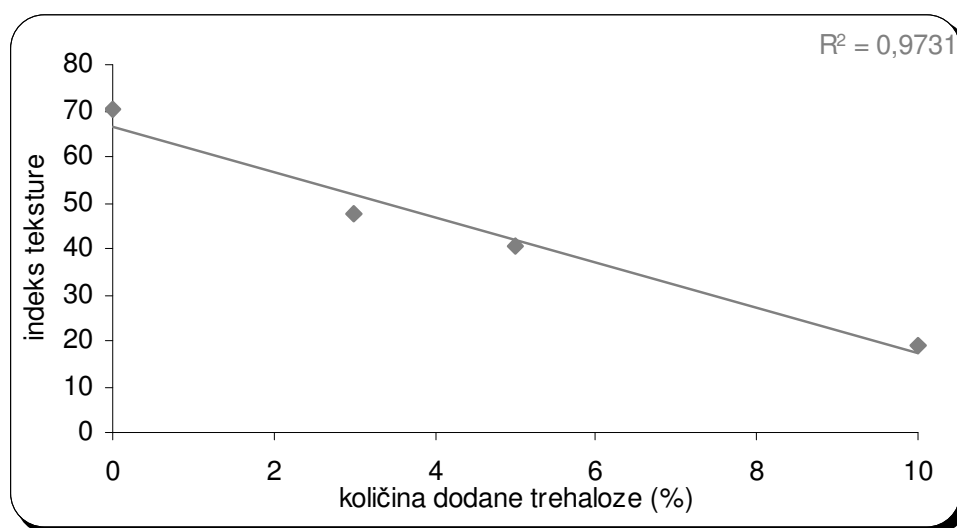
uzorci	čvrstoća (g)	ljepljivost (g)
liofilizirani		
0t	10,682 ^a ± 0,20	6,714 ^a ± 0,19
3t	7,951 ^b ± 0,14	3,025 ^b ± 0,12
5t	6,176 ^c ± 0,15	2,706 ^c ± 0,13
10t	3,102 ^d ± 0,12	1,862 ^d ± 0,11

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

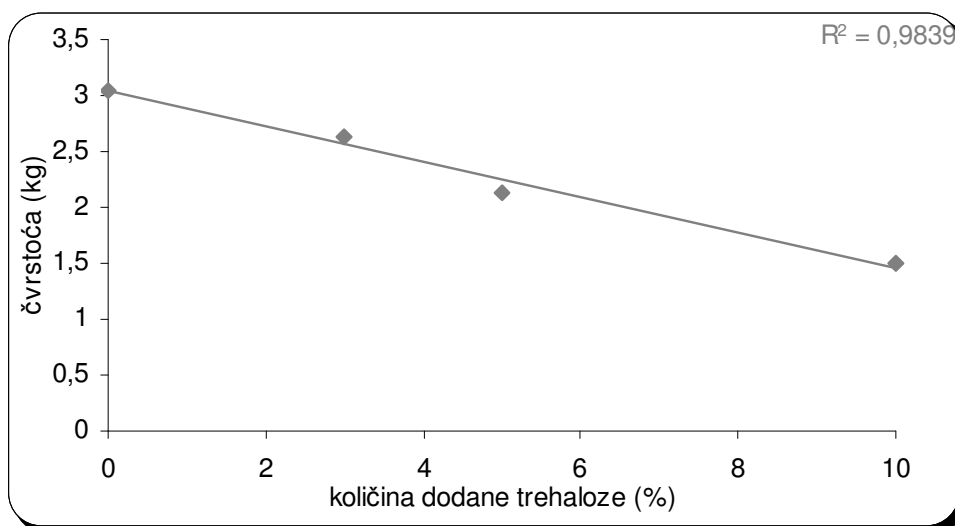
Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite ($P < 0,05$).



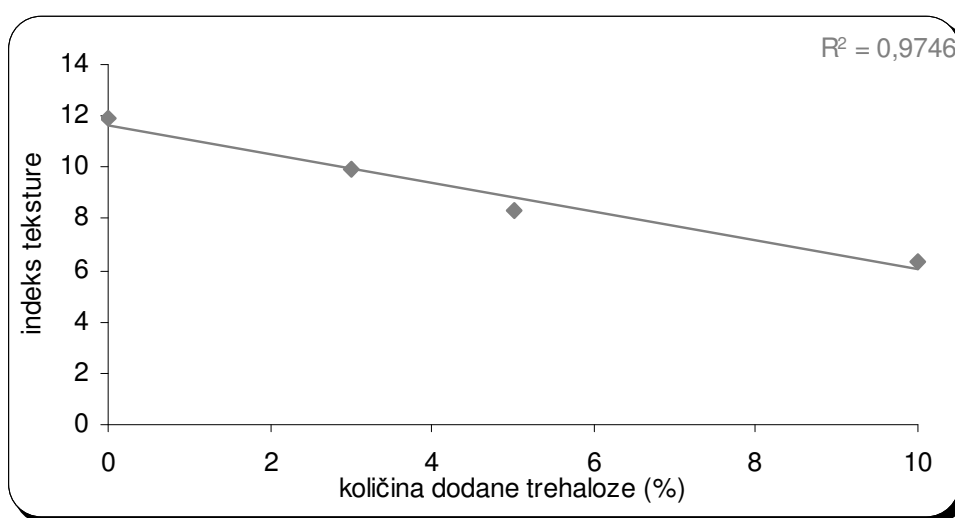
Slika 31. Ovisnost čvrstoće (mjerene Kramer-ovim nastavkom) o količini trehaloze u liofiliziranim uzorcima paste od jagode



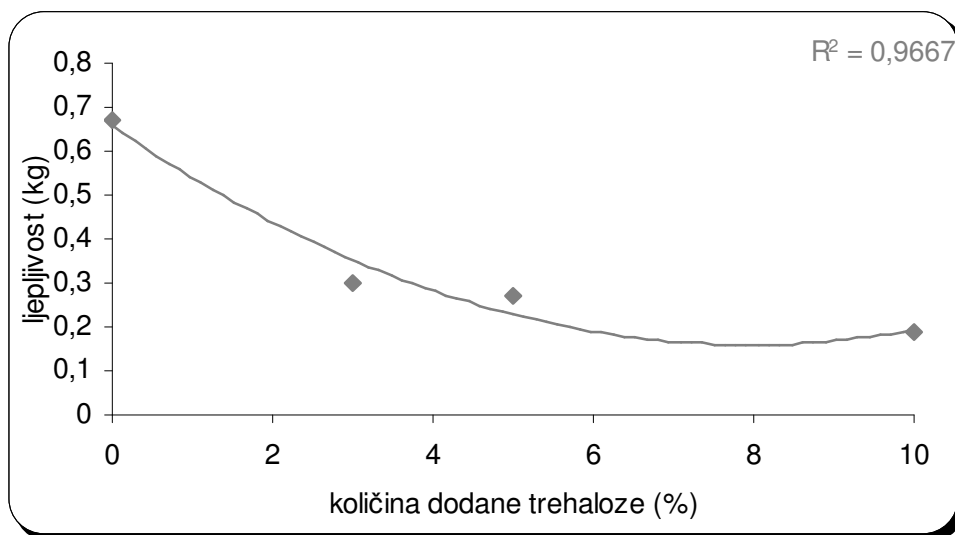
Slika 32. Ovisnost indeksa teksture o količini trehaloze u liofiliziranim uzorcima paste od jagode



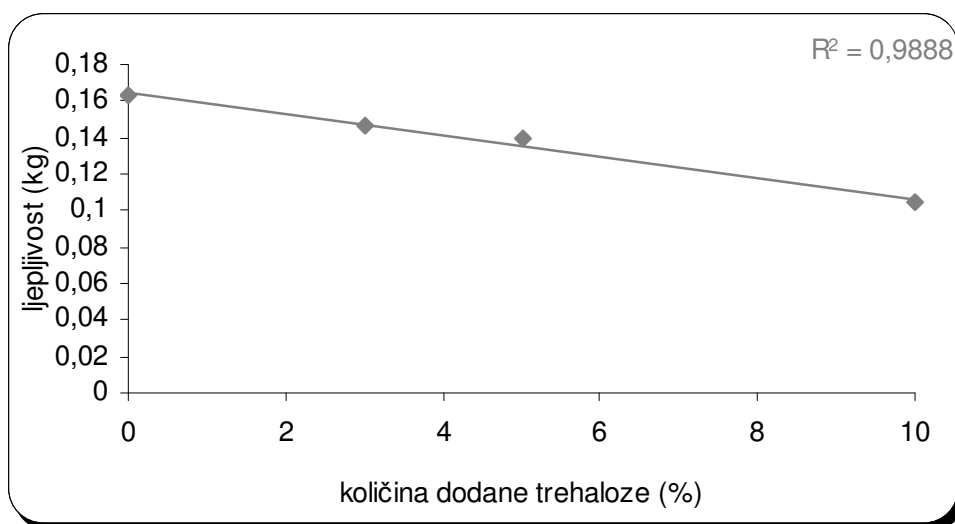
Slika 33. Ovisnost čvrstoće (mjerene Kramer-ovim nastavkom) o količini trehaloze u evaporiranim uzorcima paste od jagode



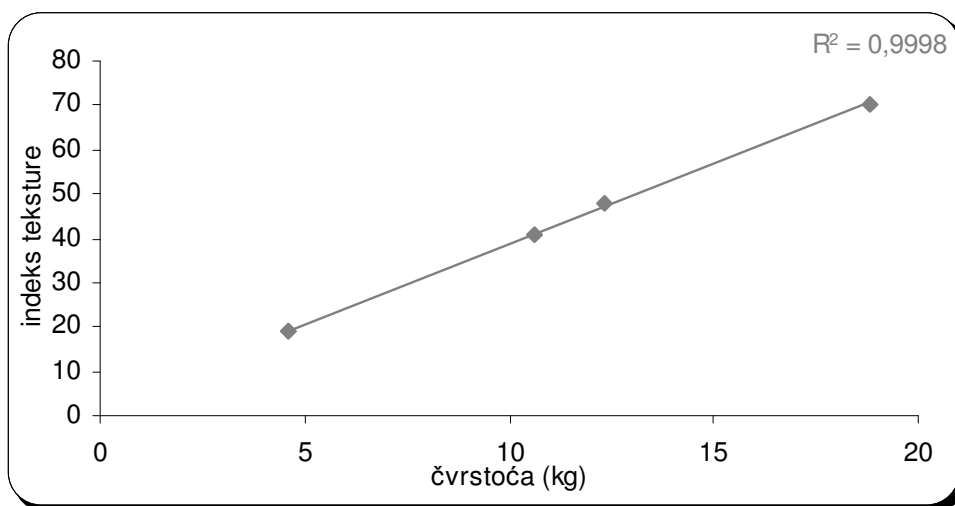
Slika 34. Ovisnost indeksa teksture o količini trehaloze u evaporiranim uzorcima paste od jagode



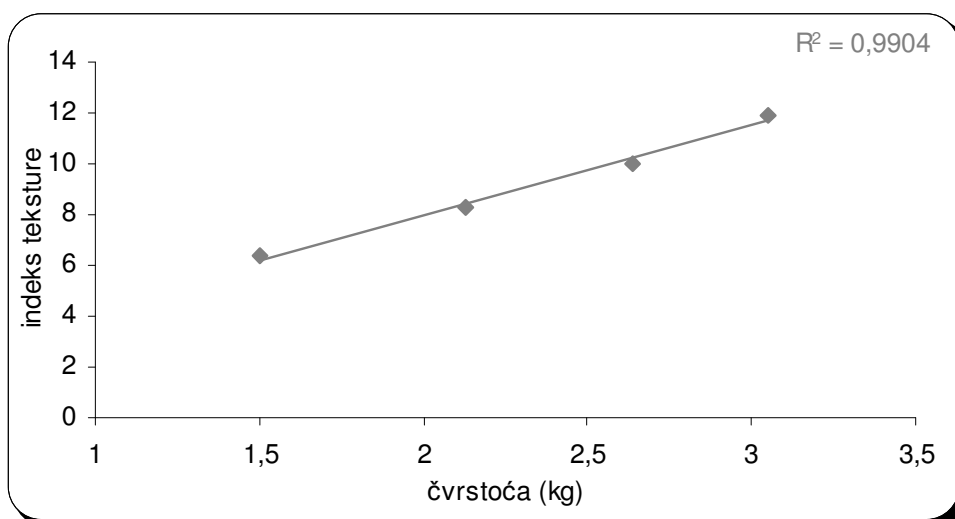
Slika 35. Ovisnost ljepljivosti o količini trehaloze u liofiliziranim uzorcima paste od jagode



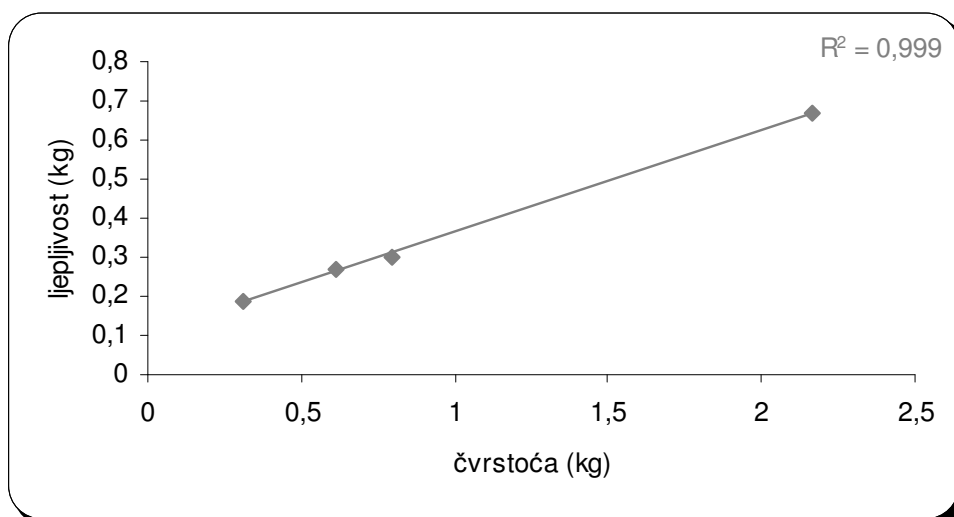
Slika 36. Ovisnost ljepljivosti o količini trehaloze u evaporiranim uzorcima paste od jagode



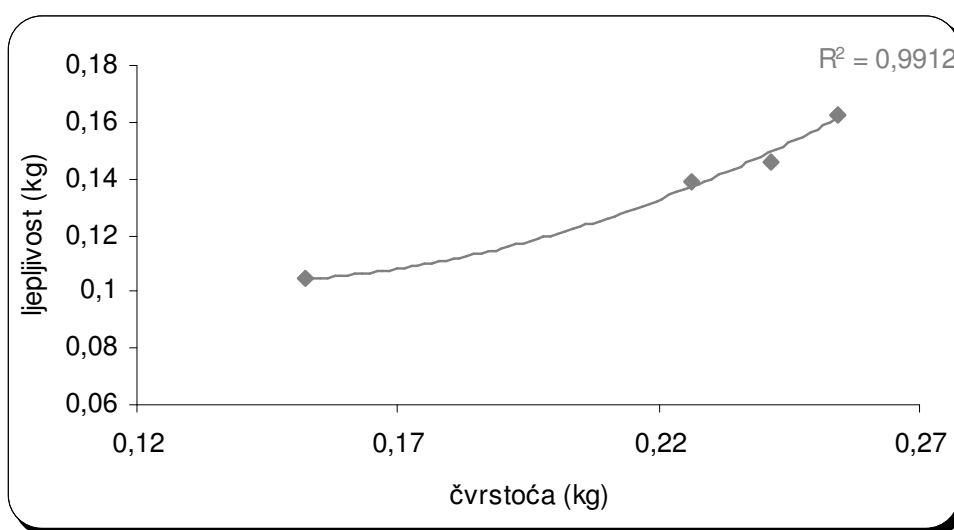
Slika 37. Ovisnost čvrstoće o indeksu teksture kod liofiliziranih uzoraka paste od jagode



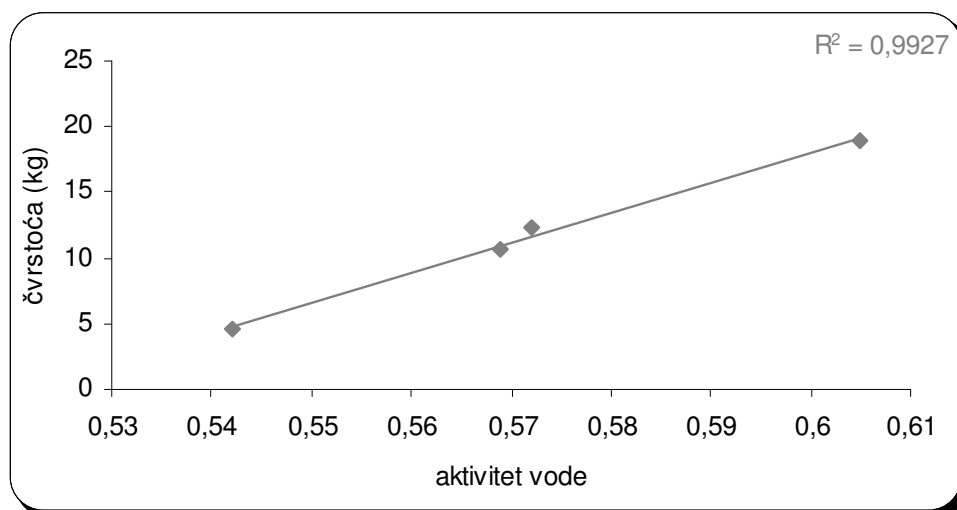
Slika 38. Ovisnost čvrstoće o indeksu teksture kod evaporiranih uzoraka paste od jagode



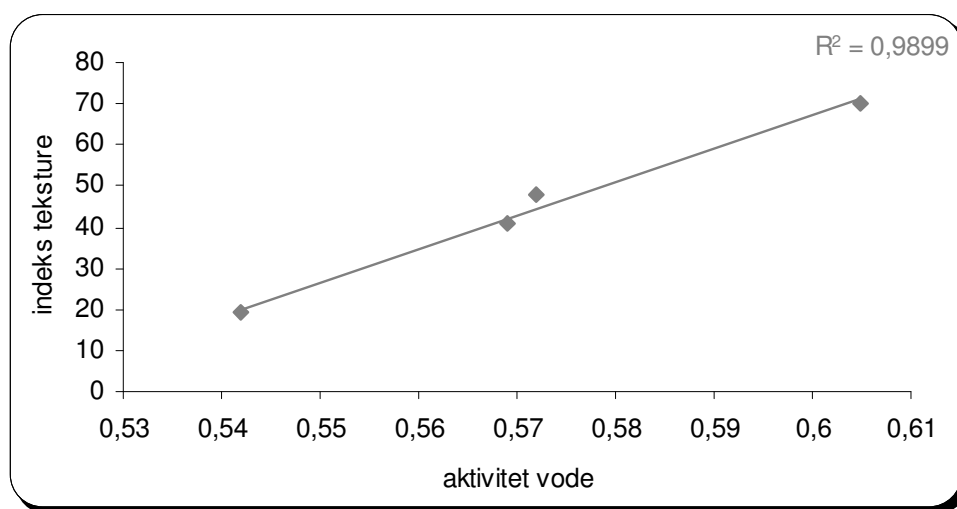
Slika 39. Ovisnost čvrstoće (mjerene penetracijom) o ljepljivosti liofiliziranih uzoraka paste od jagode



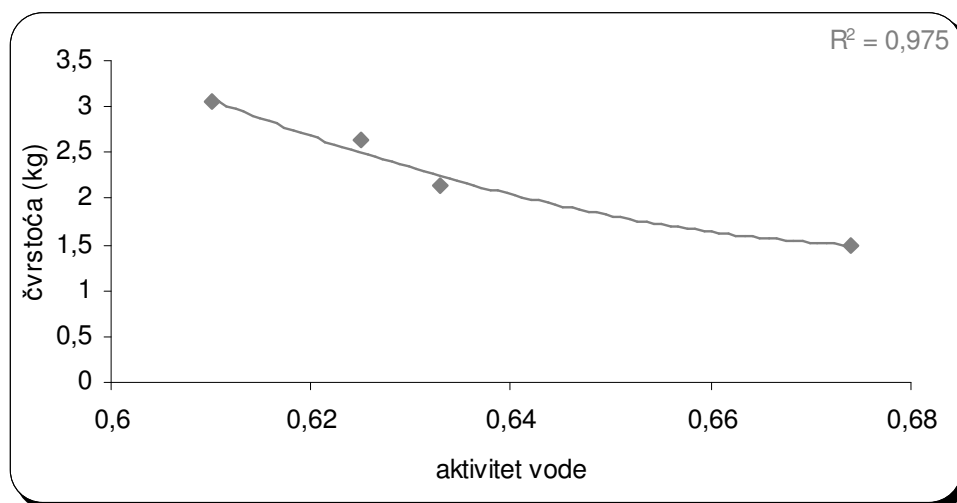
Slika 40. Ovisnost čvrstoće (mjerene penetracijom) o ljepljivosti evaporiranih uzoraka paste od jagode



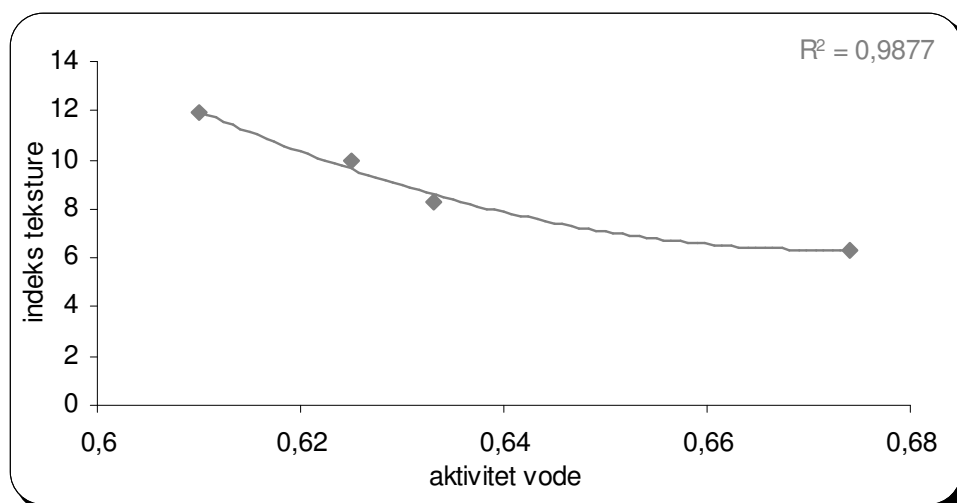
Slika 41. Ovisnost čvrstoće o aktivitetu vode liofiliziranih uzoraka paste od jagode



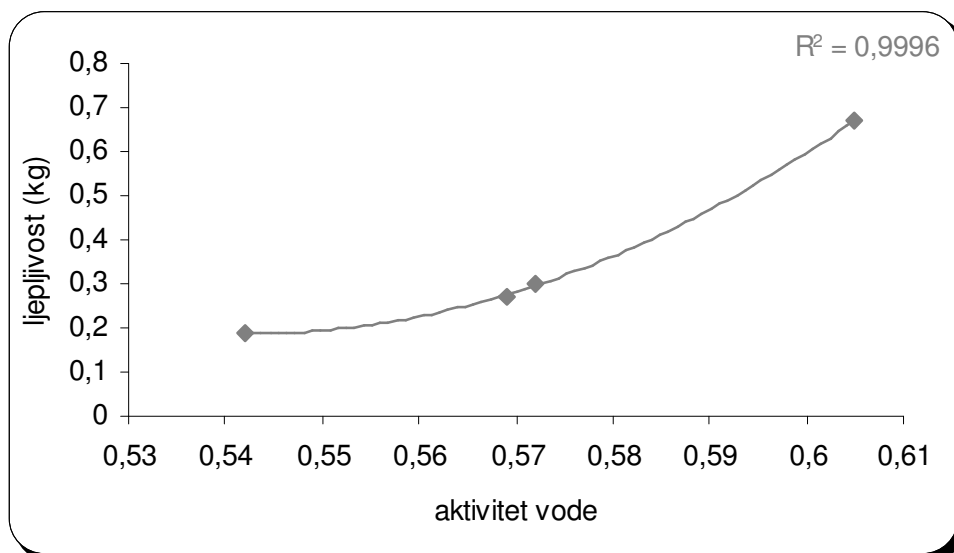
Slika 42. Ovisnost indeksa teksture o aktivitetu vode liofiliziranih uzoraka paste od jagode



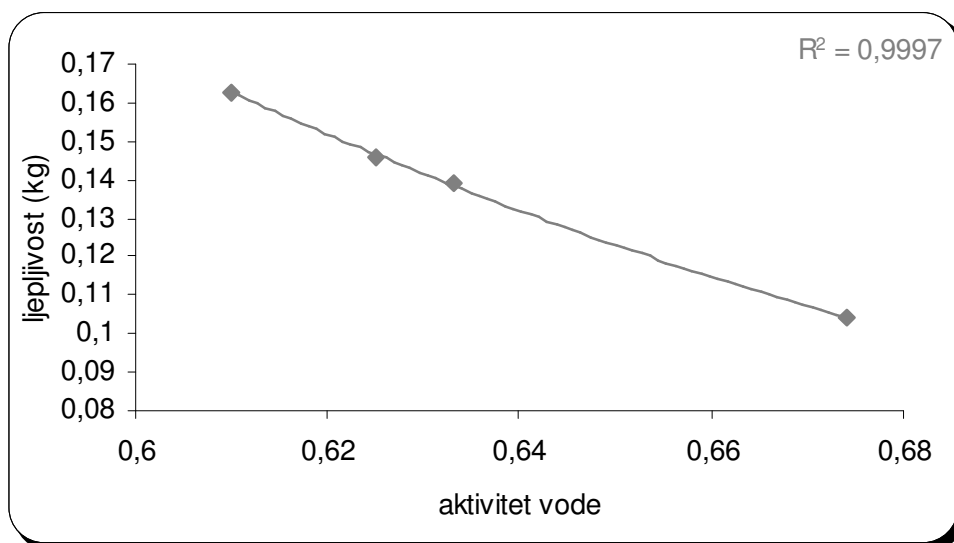
Slika 43. Ovisnost čvrstoće o aktivitetu vode evaporiranih uzoraka paste od jagode



Slika 44. Ovisnost indeksa teksture o aktivitetu vode evaporiranih uzoraka paste od jagode



Slika 45. Ovisnost ljepljivosti o aktivitetu vode u liofiliziranim uzorcima paste jagode

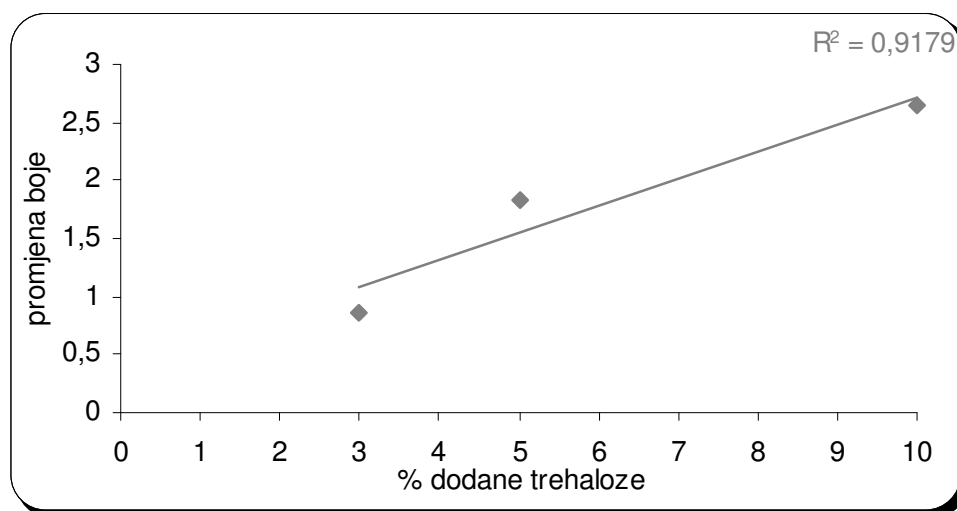


Slika 46. Ovisnost ljepljivosti o aktivitetu vode u evaporiranim uzorcima paste jagode

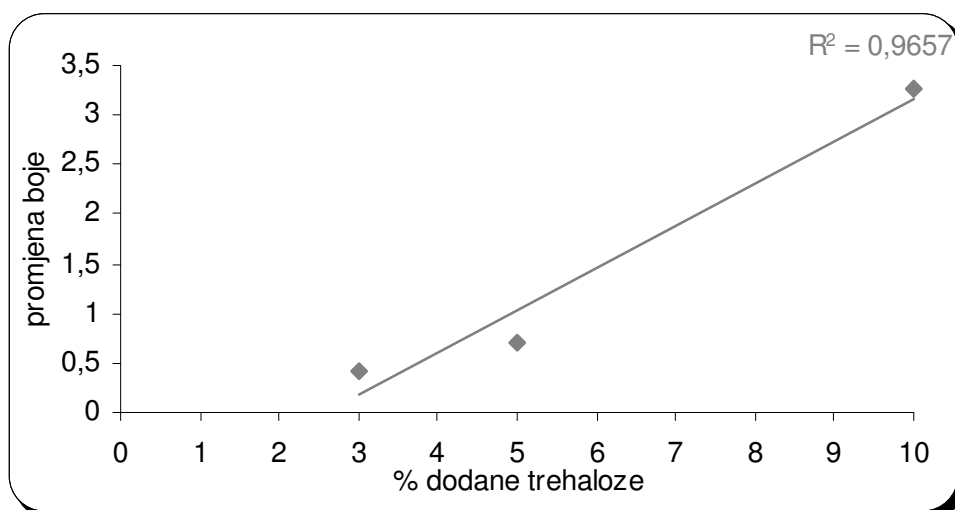
Tablica 20. Parametri boje te promjene boje i «chroma» vrijednosti za evaporirane i liofilizirane uzorke paste od jagode sa i bez dodatka trehaloze

	L	a*	b*	ΔE	chroma
evaporirani uzorci					
<i>0t</i>	32,91 ± 0,76	16,29 ± 0,53	8,43 ± 0,66		18,342
<i>3t</i>	33,40 ± 0,65	16,93 ± 0,56	8,76 ± 0,45	0,871	19,062
<i>5t</i>	33,70 ± 0,89	17,69 ± 0,65	9,30 ± 0,57	1,828	19,986
<i>10t</i>	35,09 ± 0,92	17,50 ± 0,76	9,29 ± 0,78	2,637	19,813
lioofilizirani uzorci					
<i>0t</i>	36,88 ± 0,98	21,38 ± 0,64	12,61 ± 0,76		24,821
<i>3t</i>	36,67 ± 0,89	21,66 ± 0,45	12,38 ± 0,45	0,419	24,948
<i>5t</i>	36,67 ± 0,85	21,75 ± 0,65	12,45 ± 0,39	0,714	25,061
<i>10t</i>	39,58 ± 0,74	22,72 ± 0,76	13,84 ± 0,65	3,255	26,603

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



Slika 47. Prikaz ovisnosti promjene boje o količini trehaloze evaporiranih pasta od jagode



Slika 48. Prikaz ovisnosti promjene boje o količini trehaloze liofiliziranih pasta od jagode

Tablica 21. Usporedba promjene boje liofiliziranih uzoraka paste od jagode u odnosu na evaporirane uzorke

uzorci	ΔE
<i>0t</i>	8,386
<i>3t</i>	6,795
<i>5t</i>	5,754
<i>10t</i>	8,253

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Tablica 22. Promjena koncentracije antocijana, antioksidativne aktivnosti i degradacijskog indeksa s promjenom količine dodane trehaloze u evaporiranim uzorcima

	c (antocijana) (mg/100 g)	antioksidativna aktivnost (%)	degradacijski indeks
evaporirani uzorci			
<i>0t</i>	49,24 ^a ± 1,23	28,19 ^a ± 0,21	1,129
<i>3t</i>	55,37 ^b ± 1,54	29,01 ^b ± 0,12	1,100
<i>5t</i>	59,31 ^c ± 1,03	29,89 ^c ± 0,29	1,088
<i>10t</i>	61,10 ^d ± 1,45	30,14 ^d ± 0,19	1,037

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite (P < 0,05).

Tablica 23. Promjena koncentracije antocijana, antioksidativne aktivnosti i degradacijskog indeksa s promjenom količine dodane trehaloze u liofiliziranim uzorcima

	c (antocijana) (mg/100 g)	antioksidativna aktivnost (%)	degradacijski indeks
liofilizirani uzorci			
<i>0t</i>	54,71 ^a ± 1,56	30,01 ^a ± 0,22	1,106
<i>3t</i>	55,68 ^b ± 1,78	31,34 ^b ± 0,16	1,094
<i>5t</i>	60,49 ^c ± 1,02	32,26 ^c ± 0,23	1,075
<i>10t</i>	62,27 ^d ± 0,98	33,21 ^d ± 0,24	1,011

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

Vrijednosti u istoj koloni s različitim eksponentima (a-d) su statistički značajno različite (P < 0,05).

Tablica 24. Prikaz zadržavanja antocijana u liofiliziranim uzorcima paste od jagode u odnosu na evaporirane uzorake

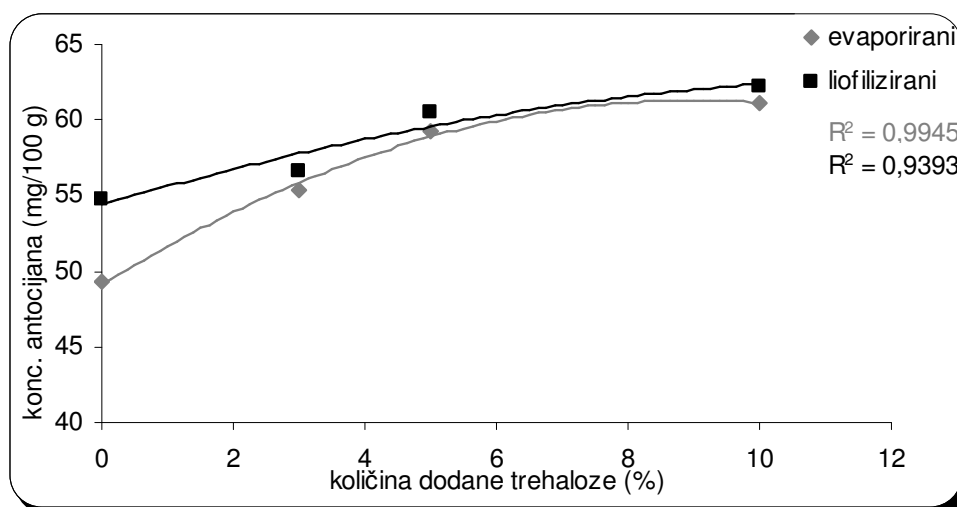
uzorci	0t	3t	5t	10t
<i>% zadržavanja</i>	10,00	2,31	1,98	1,88

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

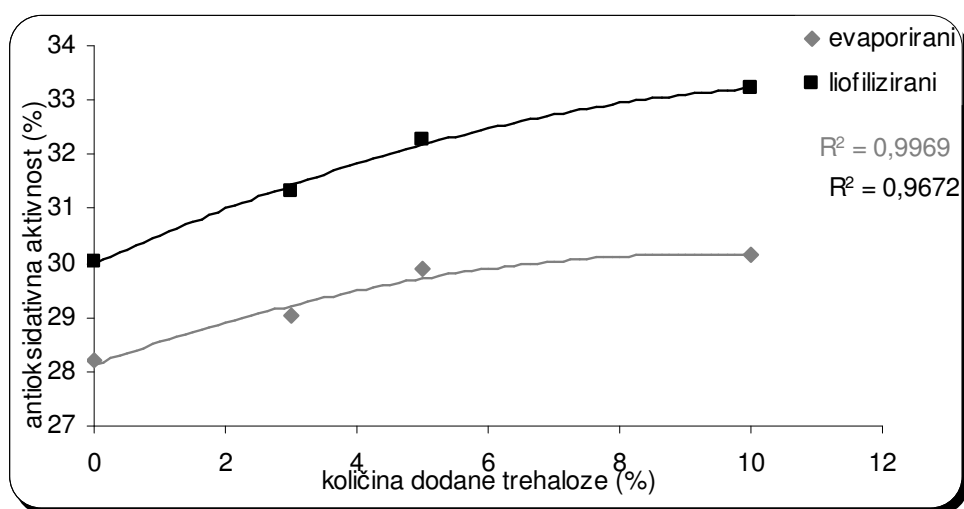
Tablica 25. Prikaz zadržavanja antocijana u liofiliziranim i evaporiranim uzorcima paste od jagode sa dodatkom trehaloze u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze

uzorci	3t	5t	10t
<i>evaporirani</i>	11,07 %	16,98 %	19,41 %
<i>liofilizirani</i>	1,74 %	9,56%	12,14 %

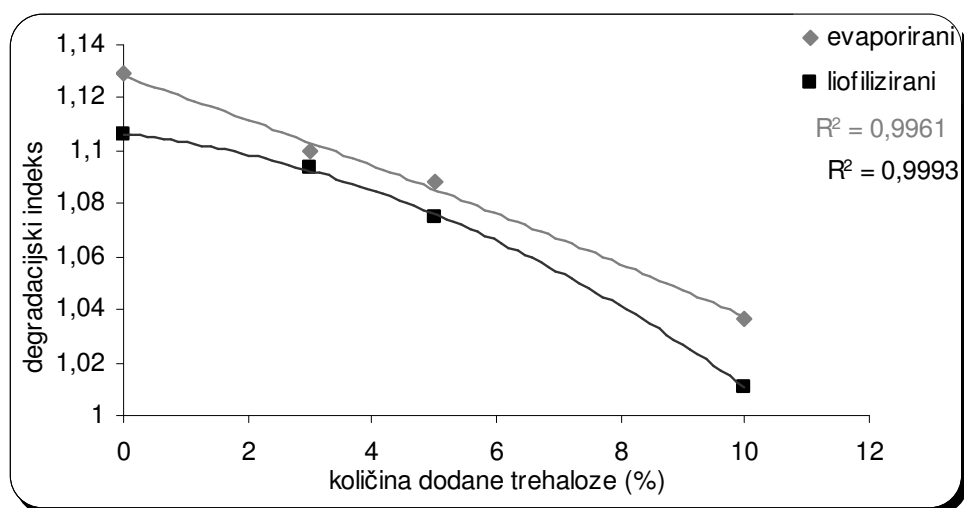
(3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)



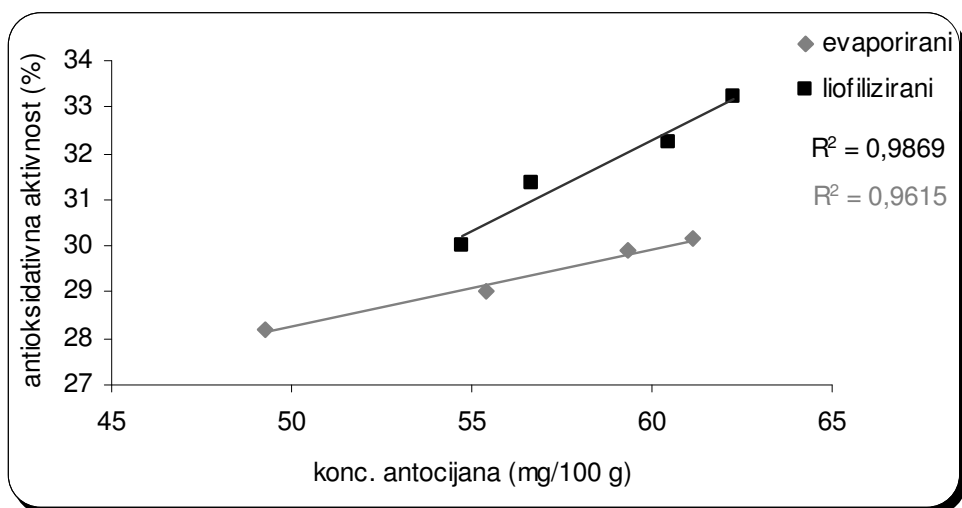
Slika 49. Ovisnost koncentracije antocijana o količini dodane trehaloze evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode



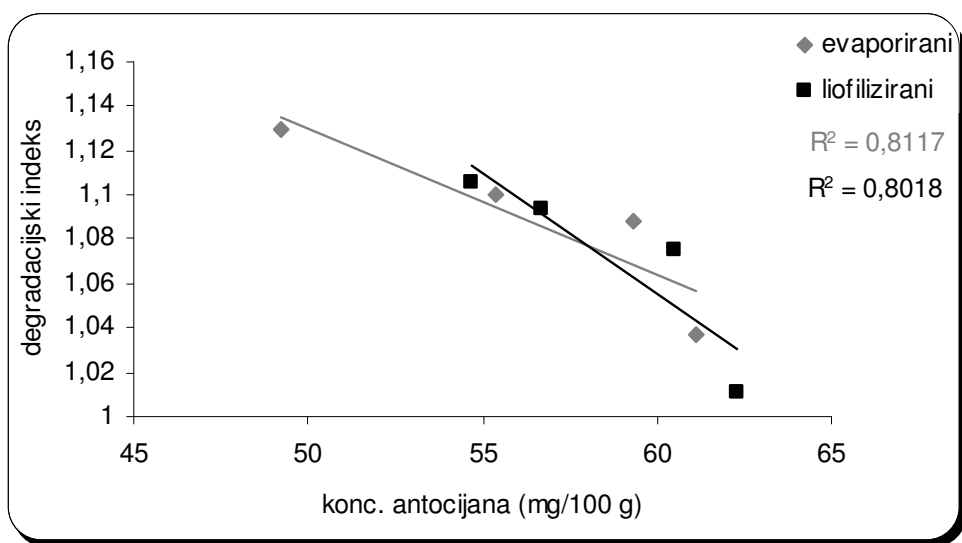
Slika 50. Ovisnost antioksidativne aktivnosti o količini dodane trehaloze u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode



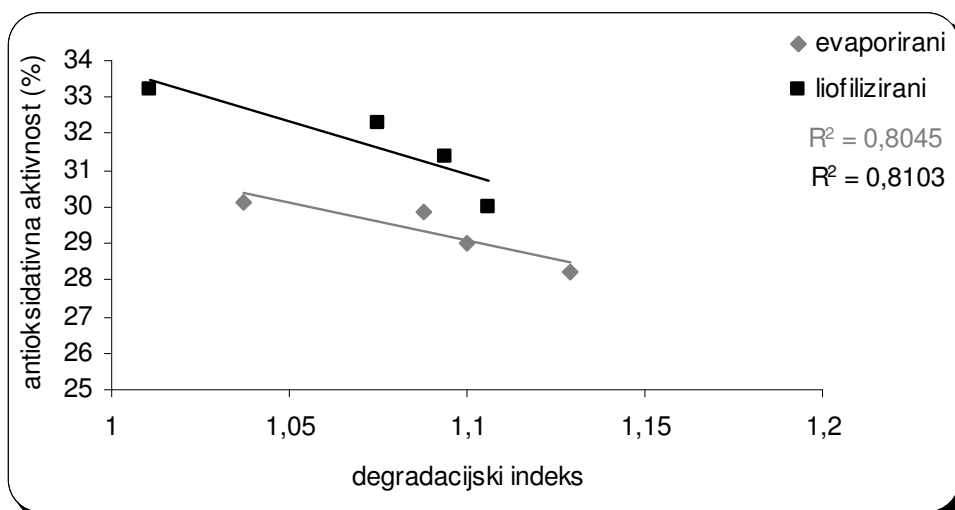
Slika 51. Ovisnost degradacijskog indeksa o količini dodane trehaloze u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode



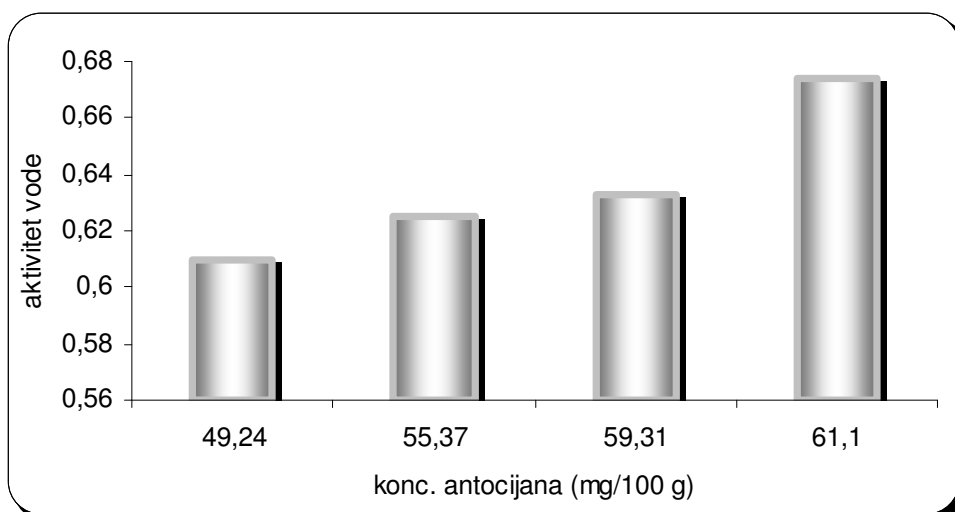
Slika 52. Ovisnost antioksidativne aktivnosti o koncentraciji antocijana u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode



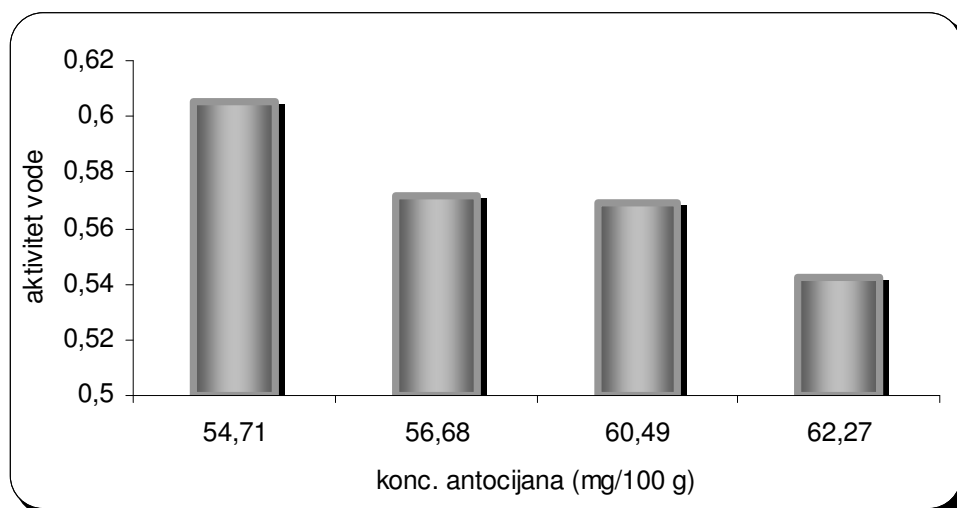
Slika 53. Ovisnost degradacijskog indeksa o koncentraciji antocijana u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode



Slika 54. Ovisnost antioksidativne aktivnosti o degradacijskom indeksu u evapriranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode



Slika 55. Ovisnost koncentracije antocijana o aktivitetu vode evapriranih uzorkaka paste od jagode



Slika 56. Ovisnost koncentracije antocijana o aktivitetu vode liofiliziranih uzorka paste od jagode

Tablica 26. Prikaz utjecaja dodatka različitih količina trehaloze na zadržavanje voćnih estera, teksturu i zadržavanje antocijana nakon pripreme uzoraka

dodatak trehaloze	3 %	5 %	10 %
zadržavanje voćnih estera			
<i>bez dodatka arome jagode</i>			
evaporirani uzorci	+++	++	-
liofilizirani uzorci	++	+++	+
<i>s dodatkom arome jagode</i>			
evaporirani uzorci	++	+++	+
liofilizirani uzorci	+++	++	-
tekstura			
<i>čvrstoća</i>			
evaporirani uzorci	+	++	+++
liofilizirani uzorci	+	++	+++
<i>ljepljivost</i>			
evaporirani uzorci	++	+	-
liofilizirani uzorci	++	+	-
zadržavanje antocijana			
evaporirani uzorci	+	++	+++
liofilizirani uzorci	+	++	+++

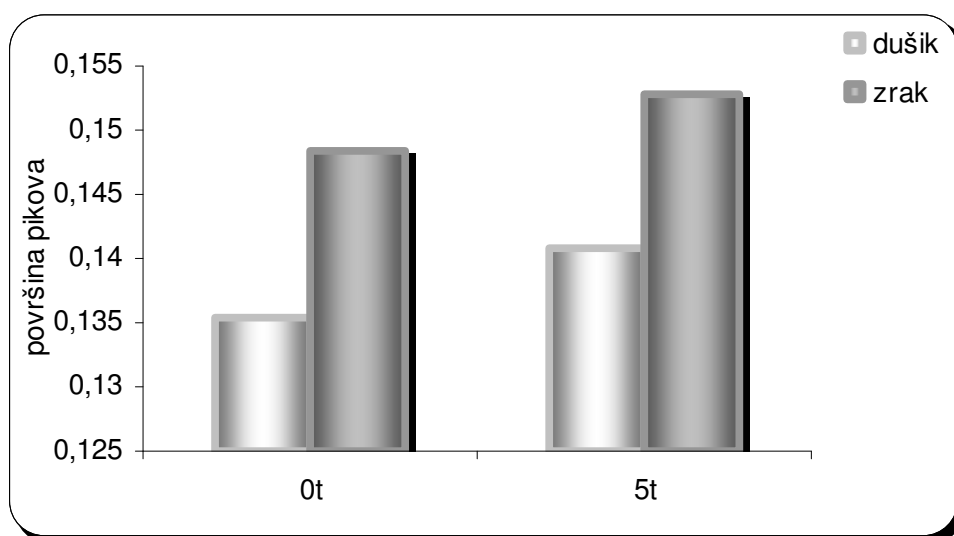
(3t - uzorak s 3 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; 10t - uzorak s 10 % dodane trehaloze)

4. 2. Rezultati nakon skladištenja

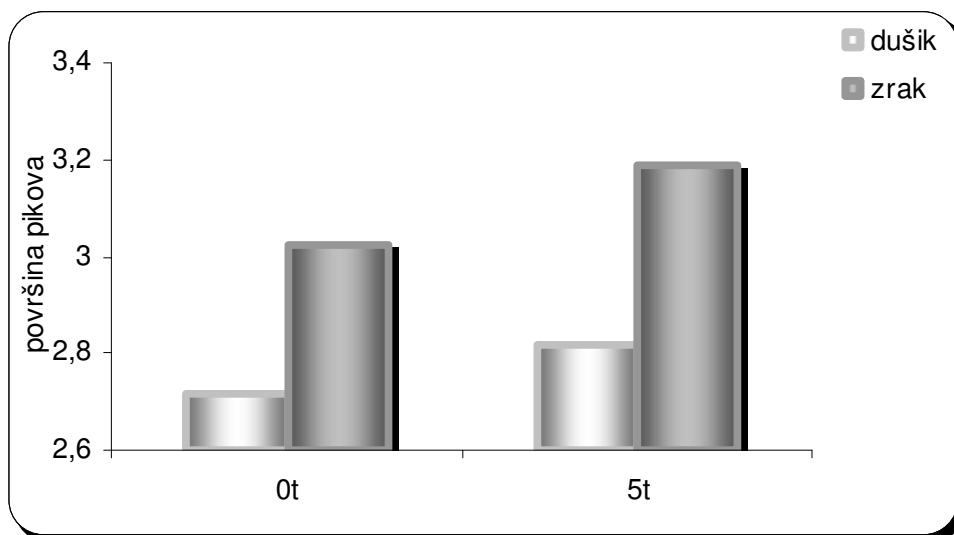
Tablica 27. Suha tvar u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	suha tvar (%)	
	evaporirani	liofilizirani
	u zraku	
0t	79,8	79,9
5t	79,5	78,5
u atmosferi dušika		
0t	78,5	78,6
5t	78,4	78,6

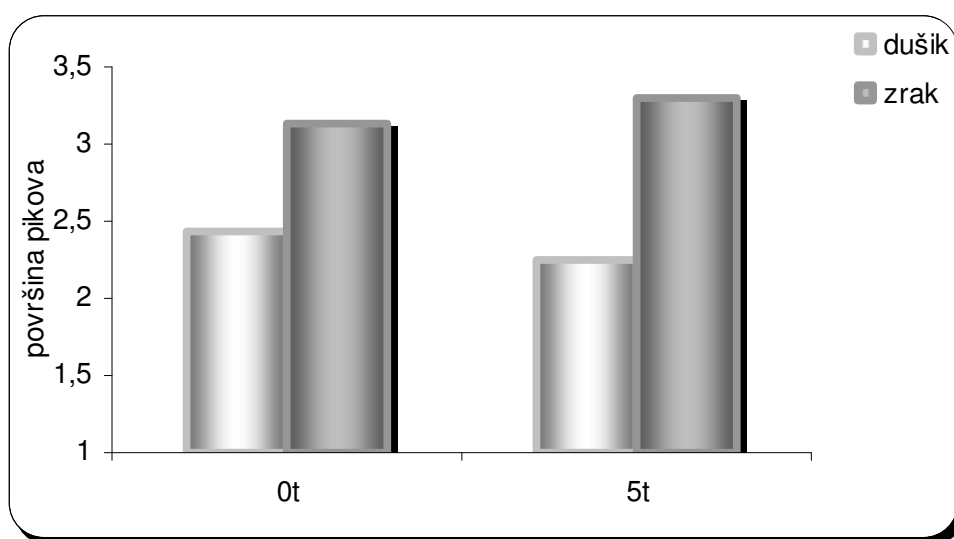
(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



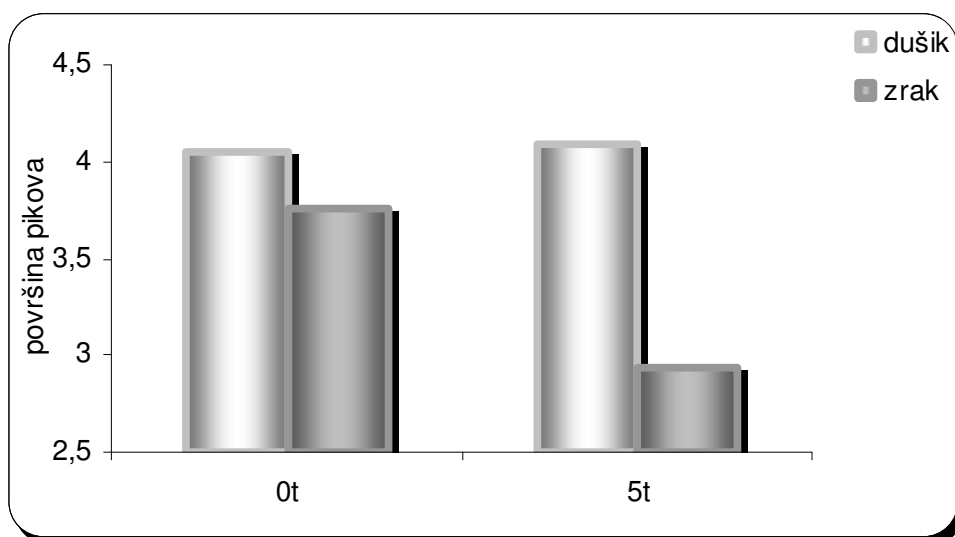
Slika 57. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u evaporiranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



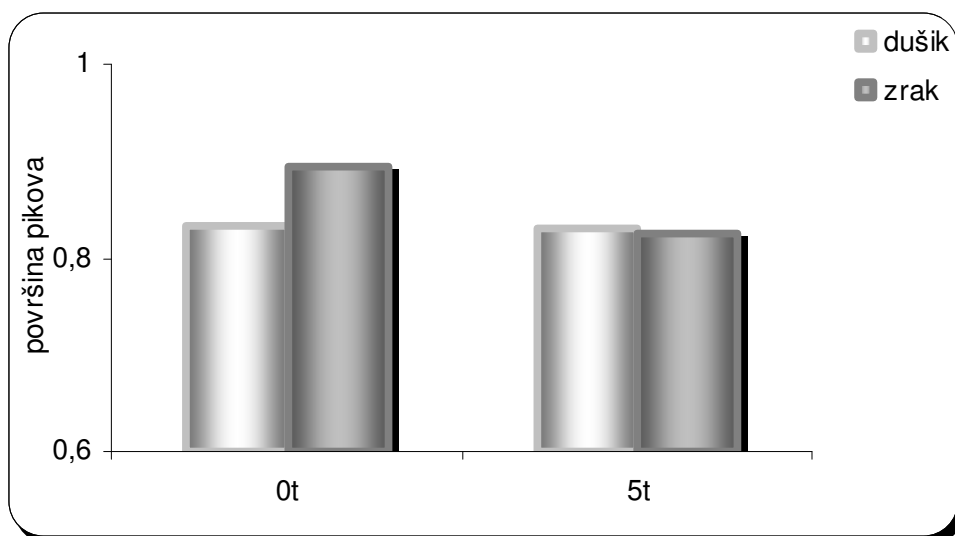
Slika 58. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



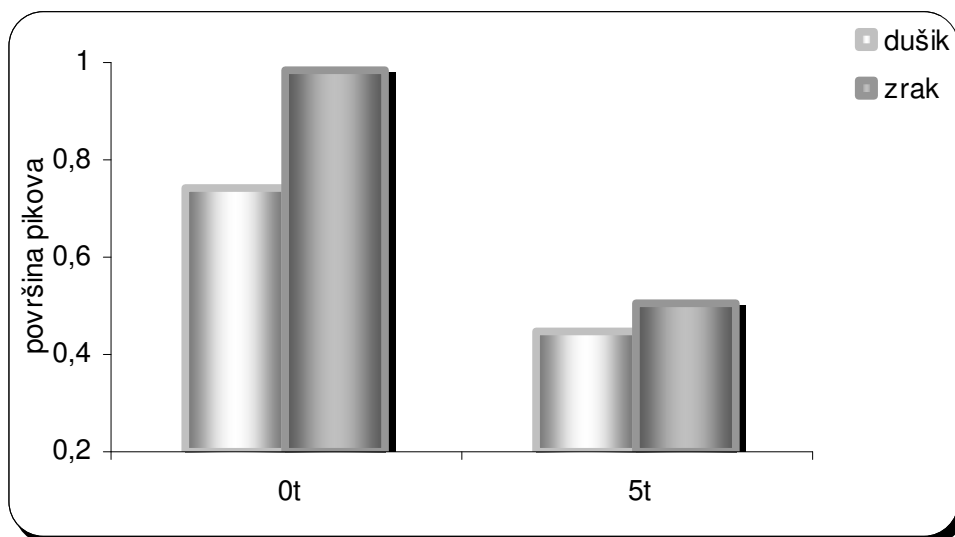
Slika 59. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u evaporiranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



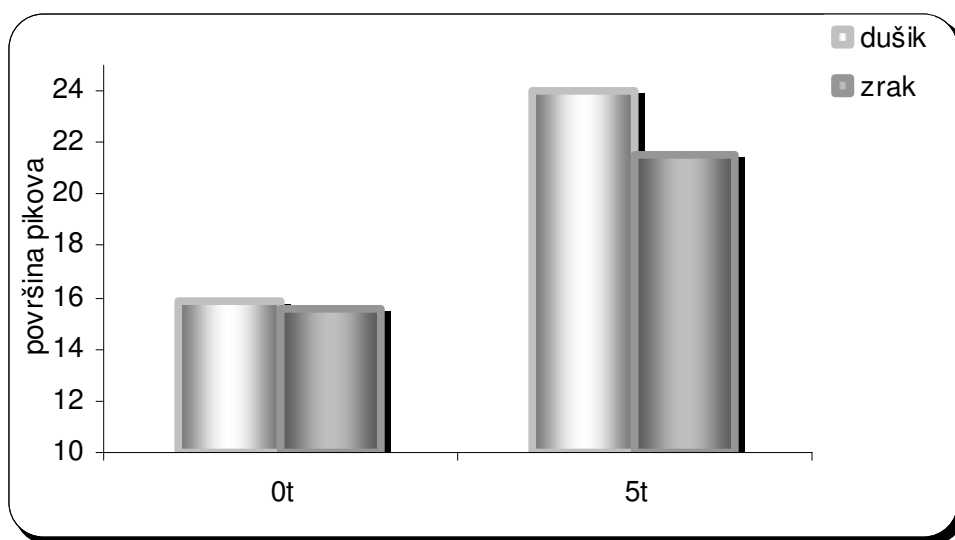
Slika 60. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



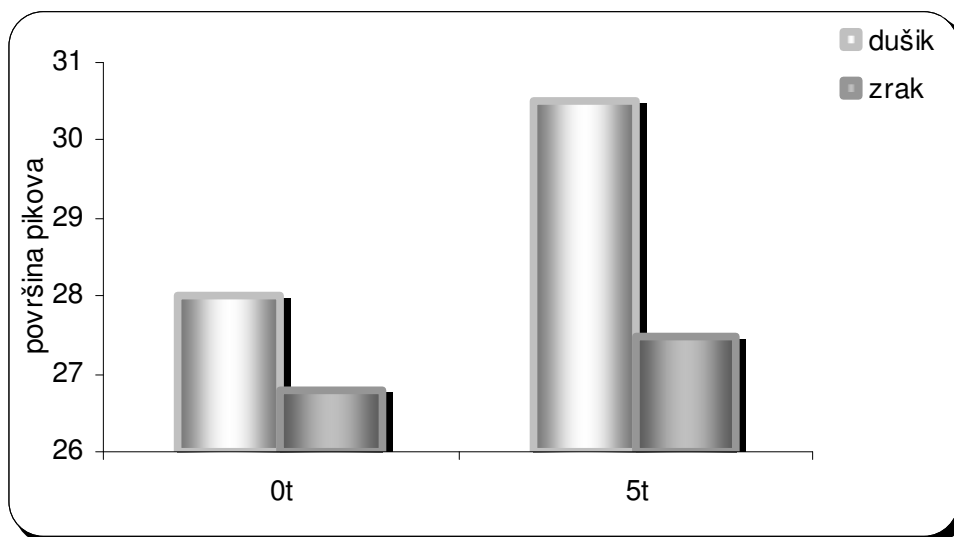
Slika 61. Prikaz sadržaja furaneola u evaporiranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



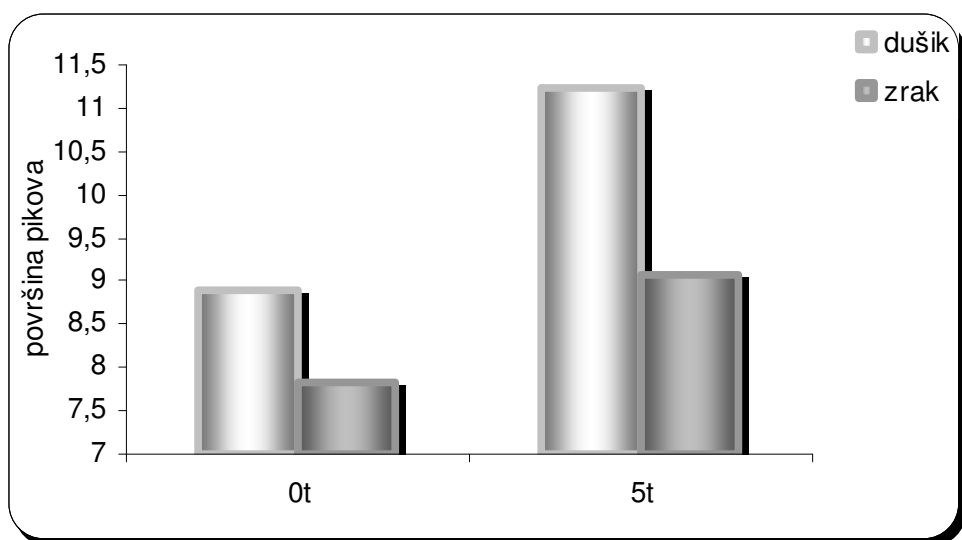
Slika 62. Prikaz sadržaja furaneola u liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



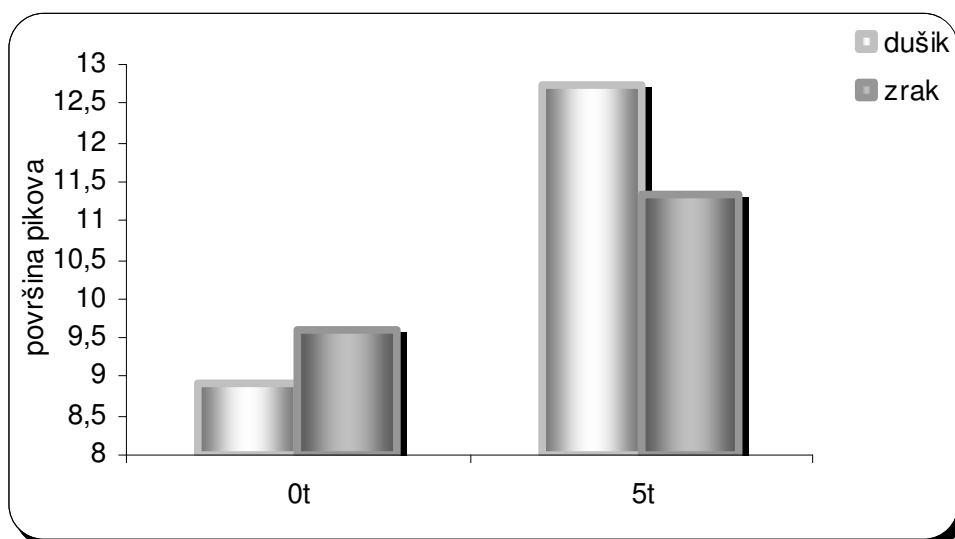
Slika 63. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u evaporiranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



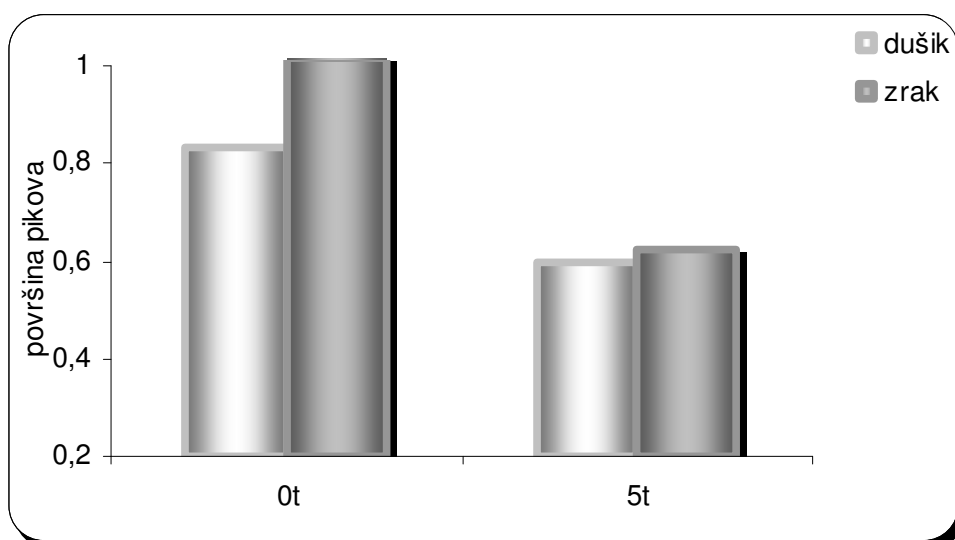
Slika 64. Prikaz sadržaja ukupnih voćnih estera u liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



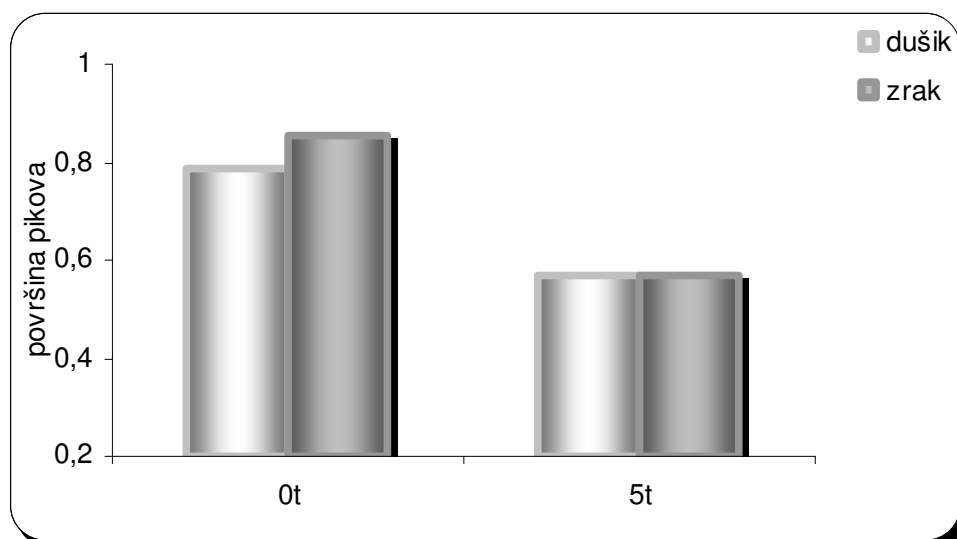
Slika 65. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u evaporiranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



Slika 66. Prikaz sadržaja γ -dodekalaktona u liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



Slika 67. Prikaz sadržaja furaneola u evaporiranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)



Slika 68. Prikaz sadržaja furaneola u liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode (0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 28. Aktivitet vode u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	aktivitet vode	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
0t	0,654	0,614
5t	0,658	0,589
uzorci	<i>u atmosferi dušika</i>	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
0t	0,657	0,625
5t	0,659	0,584

(0t - uzorak bez dodatka trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 29. Čvrstoća evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	čvrstoća (kg)	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
<i>0t</i>	$8,077 \pm 1,36$	$29,817 \pm 2,89$
<i>5t</i>	$7,146 \pm 0,97$	$8,376 \pm 0,48$
	<i>u atmosferi dušika</i>	
	evaporirani	liofilizirani
<i>0t</i>	$7,155 \pm 1,07$	$27,356 \pm 3,21$
<i>5t</i>	$6,171 \pm 0,94$	$5,050 \pm 0,68$

(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 30. Indeks teksture evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	indeks teksture	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
<i>0t</i>	$29,428 \pm 4,46$	$79,552 \pm 5,32$
<i>5t</i>	$27,063 \pm 3,62$	$31,314 \pm 2,43$
	<i>u atmosferi dušika</i>	
	evaporirani	liofilizirani
<i>0t</i>	$27,171 \pm 3,86$	$73,495 \pm 4,99$
<i>5t</i>	$23,829 \pm 3,10$	$19,943 \pm 1,65$

(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 31. Čvrstoća (određivana penetracijom) evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	čvrstoća (g)	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
<i>0t</i>	$5,47 \pm 0,17$	$32,32 \pm 0,98$
<i>5t</i>	$4,71 \pm 0,25$	$7,27 \pm 0,13$
	<i>u atmosferi dušika</i>	
	evaporirani	liofilizirani
<i>0t</i>	$4,49 \pm 0,16$	$29,41 \pm 0,99$
<i>5t</i>	$4,50 \pm 0,17$	$4,30 \pm 0,11$

(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 32. Ljepljivost evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode nakon 5 mjeseci skladištenja u atmosferi dušika i u zraku

uzorci	ljepljivost (g)	
	evaporirani	liofilizirani
	<i>u zraku</i>	
<i>0t</i>	$2,333 \pm 0,13$	$3,746 \pm 0,16$
<i>5t</i>	$2,152 \pm 0,12$	$2,522 \pm 0,15$
	<i>u atmosferi dušika</i>	
	evaporirani	liofilizirani
<i>0t</i>	$1,962 \pm 0,12$	$3,683 \pm 0,14$
<i>5t</i>	$1,994 \pm 0,15$	$1,793 \pm 0,12$

(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze)

Tablica 33. Prikaz parametara boje te promjene boje i chroma vrijednosti za evaporirane i liofilizirane uzorke paste od jagode sa i bez dodatka trehaloze nakon skladištenja u i bez atmosfere inertnog plina

	L	a*	b*	ΔE_1	chroma	ΔE_2
zrak						
<i>Ote</i>	34,17 ± 0,93	10,77 ± 0,56	10,02 ± 0,76	5,881	14,710	5,881
<i>5te</i>	33,73 ± 0,83	10,54 ± 0,72	9,43 ± 0,65	5,894	14,143	7,151
<i>Otl</i>	42,19 ± 0,86	16,07 ± 0,54	19,29 ± 0,34	10,613	25,107	10,613
<i>5tl</i>	33,69 ± 0,98	10,77 ± 0,64	10,20 ± 0,43	12,279	14,833	11,506
dušik						
<i>Ote</i>	34,81 ± 0,79	10,39 ± 0,65	10,96 ± 0,65	6,695	15,102	6,695
<i>5te</i>	34,38 ± 0,87	11,73 ± 0,45	10,18 ± 0,39	5,101	15,531	6,063
<i>Otl</i>	42,87 ± 0,93	15,23 ± 0,63	19,41 ± 0,45	11,543	24,672	11,543
<i>5tl</i>	33,92 ± 0,89	11,88 ± 0,54	11,54 ± 0,54	10,962	16,562	10,191

ΔE_1 – promjena boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme bez dodatka trehaloze

ΔE_2 – promjena boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme s istim dodatkom trehaloze
(0t - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; e – evaporirani uzorci; l – liofilizirani uzorci)

Tablica 34. Usporedbom rezultata parametara boje nakon skladištenja u odnosu na rezultate nakon pripreme uzoraka

	ΔL	Δa^*	Δb^*
zrak			
<i>Ote</i>	1,26 ↑	5,52 ↓	1,59 ↑
<i>5te</i>	0,03 ↑	7,15 ↓	0,13 ↑
<i>Otl</i>	5,31 ↑	6,31 ↓	6,68 ↑
<i>5tl</i>	2,60 ↓	10,98 ↓	2,25 ↓
dušik			
<i>Ote</i>	1,90 ↑	5,90 ↓	2,53 ↑
<i>5te</i>	0,68 ↑	5,96 ↓	0,88 ↑
<i>Otl</i>	5,99 ↑	7,15 ↓	6,80 ↑
<i>5tl</i>	2,37 ↓	9,87 ↓	0,91 ↓

↑ - povećanje vrijednosti nakon skladištenja

↓ - smanjenje vrijednosti nakon skladištenja

Tablica 35. Prikaz rezultat određivanja sadržaja antocijana, antioksidativne aktivnosti i degradacijskog indeksa nakon skladištenja

	c (antocijana) (mg/100 g)	antioksidativna aktivnost (%)	degradacijski indeks
zrak			
<i>Ote</i>	10,89 ± 0,89	41,72 ± 0,44	1,450
<i>5te</i>	12,96 ± 0,74	42,59 ± 0,34	1,416
<i>Otl</i>	12,09 ± 0,74	41,24 ± 0,54	1,491
<i>5tl</i>	13,78 ± 0,78	42,36 ± 0,25	1,455
dušik			
<i>Ote</i>	11,61 ± 0,87	41,44 ± 0,32	1,456
<i>5te</i>	13,39 ± 0,83	42,48 ± 0,45	1,433
<i>Otl</i>	12,91 ± 0,78	41,49 ± 0,74	1,479
<i>5tl</i>	15,31 ± 0,77	43,19 ± 0,54	1,437

(Ot - uzorak s 0 % dodane trehaloze; 5t - uzorak s 5 % dodane trehaloze; e – evaporirani uzorci; l – liofilizirani uzorci)



RASPRAVA

5. RASPRAVA

Kako bi se poboljšao već postojeći proizvod, te potvrdila mogućnost primjene trehaloze u prehrambenoj industriji, u ovom radu ispitivan je utjecaj dodatka različitih količina (3, 5 i 10 %) trehaloze na kvalitetu pasta od jagoda. Primjena trehaloze u prehrambenoj industriji je nakon razvoja enzimskog procesa njezine proizvodnje, prihvatljiva i s ekonomske strane s obzirom da je taj proces uvelike smanjio cijenu trehaloze smanjenjem troškova njene proizvodnje.

Osim dodatkom različitih količina trehaloze, poboljšanje kvalitete pasta od jagoda pokušalo se je postići pripremom paste liofilizacijom. Evaporacija zahtjeva primjenu visokih temperatura te dolazi do degradacije proizvoda, te se je iz tog razloga pokušalo smanjiti degradacijske procese primjenom liofilizacije kod koje se koriste niske temperature prilikom procesiranja.

Za razumijevanje utjecaja trehaloze na kvalitativna svojstva paste od jagoda potrebno je uzeti u obzir da se radi o vrlo kompleksnom, višekomponentnom matriksu kod kojeg su vrlo značajne interakcije između sastojaka, te utjecaj primjene različitih procesa na te interakcije, jer su one te koje u krajnjem slučaju dovode do poboljšanja ili pak smanjenja kvalitete finalnog proizvoda. Nije nužno da u višekomponentnom, kompleksnom matriksu hrane dolazi do istih utjecaja nekih komponenata na određena svojstva kao u modelnim, jednostavnijim sustavima, odnosno da će se ta komponenta jednako ponašati u kompleksnom matriksu kao i u modelnim sustavima.

Nije dovoljno ispitivati utjecaj dodatka trehaloze samo na neka svojstva, već je potrebno ispitati sveukupni utjecaj, te ustanoviti koja je to optimalna količina koja poboljšava sveukupnu kvalitetu proizvoda.

Nakon pripreme uzoraka

Određivanje spojeva arome

Komes i sur. (2003.) su ispitivali utjecaj dodatka saharoze i trehaloze na zadržavanje arome u kaši jagode pripremljene liofilizacijom i sušenjem u pjenu. Utvrdili su da dodatak trehaloze dovodi do zadržavanja spojeva arome u kaši jagode, a posebno je značajno zadržavanje utvrđeno kada je kao proces dehidratacije primijenjena liofilizacija [2]. Komes i sur. (2005.) su, također, ispitivali i utjecaj dodatka saharoze i trehaloze na zadržavanje arome u kaši marelice, te su i u ovom slučaju utvrdili da dodatkom trehaloze dolazi do većeg zadržavanja spojeva arome [132].

U ovom radu ispitivan je utjecaj dodatka različitih količina (3, 5 i 10 %) trehaloze u usporedbi s uzorcima bez dodatka trehaloze. Za pripremu uzoraka korištene su dvije metode procesiranja, evaporacija i liofilizacija, te je napravljena i usporedba uzoraka dobivenih ovim postupcima. Uzorci su također bili pripremani bez i sa dodatka arome jagode. Određivanje arome i sadržaj odabranih voćnih estera, koji su odgovorni za karakterističnu aromu jagode, furaneol i γ -dodekalakton provedeno je GC-MS metodom.

Evaporirani i liofilizirani uzorci bez dodatka arome jagode

Na slikama 2. i 23. prikazani su rezultati sadržaja odabranih voćnih estera u *evaporiranim i liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode*. Iz rezultata se vidi da dodatkom trehaloze dolazi do povećanja sadržaja voćnih estera, osim u slučaju evaporiranih uzoraka s dodatkom 10 % trehaloze. Povećanje sadržaja voćnih estera nije proporcionalno povećanju udjela trehaloze u uzorcima, već je došlo do postizanja optimuma kod određene količine nakon koje ponovno dolazi do opadanja sadržaja voćnih estera. Ovaj trend uočen je i u evaporiranim i u liofiliziranim uzorcima samo što je razlika u optimalnoj količini dodane trehaloze kod koje se najviše zadržava voćnih estera. Za evaporirane uzorke optimalna količina dodane trehaloze je 3 %, dok je ta količina za liofilizirane uzorke 5 %.

Usporedbom rezultata prikazanih na slikama 22. i 23. vidi se da je primjenom liofilizacije, sadržaj voćnih estera znatno veći nego u evaporiranim uzorcima.

U tablici 9. prikazano je koliko puta liofilizirani uzorci više sadržavaju voćnih estera u odnosu na evaporirane uzorke, te se može vidjeti da je sadržaj voćnih estera u liofiliziranim uzorcima 47 puta veći nego u evaporiranim uzorcima kada je dodano 5 % trehaloze. Također

se može vidjeti da liofilizacija ima najmanji utjecaj na liofilizirane uzorke bez dodatka trehaloze jer je u tim uzorcima sadržaj voćnih estera samo 7 puta veći.

U tablici 10. je prikazan utjecaj dodatka trehaloze na sadržaj voćni estera u odnosu na uzorak bez dodatka trehaloze, te se iz rezultata može vidjeti da dodatak trehaloze ima veći utjecaj na liofilizirane uzorke nego li na evaporirane. Najveći utjecaj na sadržaj voćnih estera u evaporiranim uzorcima imao je dodatak 3 % trehaloze, te je sadržaj estera u tim uzorcima bio 1,23 puta veći nego u uzorcima bez dodatka trehaloze. Kod liofiliziranih uzoraka najveći utjecaj imao je dodatak 5 % trehaloze, te je sadržaj voćnih estera u tim uzorcima bio 6,57 puta veći nego u uzorcima bez dodatka trehaloze.

Što se tiče γ -dekalaktona (slika 24., tablica 11.) vidi se da dodatkom trehaloze u evaporiranim uzorcima dolazi do povećanja sadržaja γ -dekalaktona. U liofiliziranim uzorcima dolazi do smanjenja sadržaja γ -dekalaktona povećanjem dodane količine trehaloze. Iz rezultata prikazanih u tablici 11. vidi se da liofilizacija ima najveći učinak na zadržavanje ovog spoja i to kada nije dodana trehaloza.

Na slici 25. prikazani su rezultati sadržaja furaneola, te se iz njih može vidjeti da dodatak trehaloze nema pozitivnog utjecaja na njihov sadržaj bilo da se radi o evaporiranim ili liofiliziranim uzorcima.

Evaporirani i liofilizirani uzorci sa dodatkom arome jagode

Na slici 26. prikazani su rezultati sadržaja odabranih voćnih estera u *evaporiranim i liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode*. I u ovom slučaju vidljivo je da dodatkom trehaloze dolazi do povećanja sadržaja voćnih estera osim kada je riječ o liofiliziranim uzorcima s dodatkom 10 % trehaloze. Kao što je bilo vidljivo i u uzorcima bez dodatka arome jagode, došlo je do postizanja optimuma kod dodatka određene količine trehaloze. Optimalna količina dodane trehaloze za evaporirane uzorke u ovom slučaju bila je 5 %, a za liofilizirane 3 %.

U tablici 13. prikazano je koliko puta liofilizirani uzorci više sadržavaju voćnih estera u odnosu na evaporirane uzorke, te se može vidjeti da je sadržaj voćni estera u liofiliziranim uzorcima 4,1 puta veći nego u evaporiranim uzorcima kada je dodano 3 % trehaloze. Također se može vidjeti da liofilizacija ima najmanji utjecaj na liofilizirane uzorke sa dodatkom 10 % trehaloze jer je u tim uzorcima sadržaj voćnih estera čak manji nego u evaporiranim uzorcima.

U tablici 14. je prikazan utjecaj dodatka trehaloze na sadržaj voćni estera u odnosu na uzorak bez dodatka trehaloze, te se iz rezultata može vidjeti da dodatak trehaloze ima veći

utjecaj na evaporirane uzorke nego na liofilizirane. Najveći utjecaj na sadržaj voćnih estera u evaporiranim uzorcima imao je dodatak 5 % trehaloze, te je sadržaj estera u tim uzorcima bio 3,56 puta veći nego u uzorcima bez dodatka trehaloze. Kod liofiliziranih uzoraka najveći utjecaj imao je dodatak 3 % trehaloze, te je sadržaj voćnih estera u tim uzorcima bio 1,69 puta veći nego u uzorcima bez dodatka trehaloze.

Bitno je naglasiti da na sadržaj voćnih estera u uzorcima ne utječe samo količina dodane trehaloze i način procesiranja, već i njihova koncentracija u uzorcima.

Što se tiče γ -dekalaktona i furaneola (slika 27. i 28.) vidi se da dodatkom trehaloze dolazi do smanjenja njihovog sadržaja. U slučaju γ -dekalaktona povećanjem dodatka trehaloze u evaporiranim uzorcima dolazi do smanjenja sadržaja γ -dekalaktona, a kod liofiliziranih uzoraka dodatkom 3 % trehaloze uočava se naglo smanjenje naspram uzoraka bez dodatka trehaloze, ali daljnjim povećanjem koncentracije trehaloze dolazi do povećanja sadržaja ovog spoja.

Aktivitet vode

Fizikalna, kemijska i mikrobiološka stabilnost prehrambenih proizvoda ovisi o sadržaju vode i njezinim interakcijama s ostalim sastojcima hrane. Koncept aktiviteta vode se koristi kao pouzdani alat za određivanje rasta mikroorganizama, oksidacije lipida, ne-enzimske i enzimске aktivnosti i teksture nakon proizvodnje [133].

Iz tablice 15. i slika 29. i 30. može se vidjeti da liofilizirani i evaporirani uzorci bez dodatka trehaloze imaju vrlo slične vrijednosti za aktivitet vode. Povećanjem količine trehaloze u liofiliziranim uzorcima dolazi do smanjenja aktiviteta vode, dok kod evaporiranih uzoraka dolazi do povećanja aktiviteta vode. U oba slučaja, odnosno i kod liofiliziranih i evaporiranih uzoraka ovisnost aktiviteta vode o koncentraciji dodane trehaloze slijedi polinomnu funkciju s vrlo visokim koeficijentom korelacije, 0,9704 i 0,9972.

Određivanje teksture

Razumijevanje odnosa teksture hrane i strukture hrane je od velike važnosti za sve one koji žele proizvesti prehrambeni proizvod poželjnih teksturalnih svojstava [134].

Tekstura je vrlo važno kvalitativno svojstvo hrane. U voću i povrću, te njihovim proizvodima, tekstura primarno ovisi o kompleksnim ugljikohidratima kao što su pektini,

celuloza, hemiceluloza, škrob i lignin, te njihovim interakcijama s drugim sastojcima unutar matriksa hrane.

Tako je tekstura i vrlo značajno svojstvo pasta od jagoda, s obzirom da se pasta od jagode koristi kao punilo za energetske pločice, ali i različite druge proizvode koji sadrže voće. Čvrstoća i ljepljivost su vrlo značajna teksturalna svojstva pasta od jagoda, s obzirom da ona diktiraju mogućnost i način primjene na bazu finalnog proizvoda. Pasta od jagode se obično nanosi na bazu finalnog proizvoda pomoću lagano zagrijanih (30 °C) valjaka. Stoga ako je pasta od jagode pretvrda ili preljepljiva neće se moći pravilno i ravnomjerno nanijeti na bazu proizvoda.

Čvrstoća i indeks teksture (tablica 16.), mjereni Kramerovim testom, statistički značajno opadaju s povećanjem dodatka trehaloze i u liofiliziranim i u evaporiranim uzorcima. Vrijednosti za čvrstoću i indeks teksture za evaporirane uzorke su statistički značajno niže nego vrijednosti za liofilizirane uzorke. Razlika između dva različita načina pripreme paste od jagode je posljedica različitih uvjeta procesiranja odnosno različitog termičkog tretiranja sirovine tijekom proizvodnje, što dovodi do različitih reakcija komponenata i različitih interakcija između komponenata u ovakvom kompleksnom matriksu. Tijekom evaporacije, dolazi do želatinizacije a tijekom hlađenja uzorka do retrogradacije škroba, dok se tijekom liofilizacije ti procesi ne odvijaju. Želatinizacija i retrogradacija škroba dovode do promjena u strukturi škroba, a samim time i strukturi uzorka te tom promjenom i promjena teksture je neizbježna.

Iz rezultata (tablica 17.) se također može vidjeti da liofilizirani uzorci bez dodatka trehaloze imaju statistički značajno veće vrijednosti čvrstoće, indeksa teksture i ljepljivosti, te je dodatkom trehaloze smanjenje ispitivanih parametara bilo veće nego kod evaporiranih uzoraka. Smanjenje vrijednosti za ljepljivost znači da se ljepljivost samog uzorka povećava, što znači da se dodatkom trehaloze povećava ljepljivost svih ispitivanih uzoraka, što je vjerojatno posljedica interakcija između škroba i trehaloze. Ljepljivost uzoraka je bila jače izražena kod evaporiranih uzoraka zbog drugačije strukture škroba u uzorcima. Može se zaključiti da dodatkom trehaloze čvrstoća i indeks teksture liofiliziranih i evaporiranih pasta od jagode opadaju, dok ljepljivost uzoraka raste.

Prilikom proizvodnje finalnog proizvoda, tehnolog mora obratiti pažnju na utjecaj dodatka različitih koncentracija trehaloze, te odabrati onu koncentraciju koja osigurava željenu čvrstoću proizvoda i odgovarajuću ljepljivost kako bi se izbjegli neželjeni problemi u samoj proizvodnji finalnog proizvoda.

Ovisnost čvrstoće i indeksa teksture o količini trehaloze liofiliziranih uzoraka paste od jagode, ovisnost čvrstoće i indeksa teksture o količini trehaloze evaporiranih uzoraka paste od jagode, te ovisnost ljepljivosti o količini trehaloze evaporiranih uzoraka paste od jagode predstavljaju linearnu ovisnost s visokim koeficijentima korelacije (0,969, 0,9731, 0,9839, 0,9746 i 0,9888, pojedinačno), što znači da čvrstoća i indeks teksture liofiliziranih i evaporiranih uzoraka paste od jagode, te ljepljivost evaporiranih uzoraka paste od jagode linearno ovisi o količini dodane trehaloze (slike 31.-36.). Ovisnost ljepljivosti o količini trehaloze liofiliziranih uzoraka paste od jagode ne slijedi linearnu ovisnost kao u drugim slučajevima već polinomnu ovisnost s koeficijentom korelacije $R^2 = 0,9667$, što dokazuje visoku polinomnu ovisnost količini trehaloze o ljepljivosti liofiliziranih uzoraka paste jagode, odnosno dodatkom trehaloze naglo opadaju vrijednosti za ljepljivost tj, ljepljivost naglo raste kod liofiliziranih uzoraka paste od jagode.

Ovisnost čvrstoće (slika 37. i 38.) o indeksu teksture kod liofiliziranih i evaporiranih uzoraka paste od jagode slijedi linearnu ovisnost s vrlo visokim koeficijentom korelacije odnosno 0,9998 i 0,9904.

Ovisnost čvrstoće o ljepljivosti liofiliziranih uzoraka paste od jagode je linearna s vrlo visokim koeficijentom korelacije koji iznosi 0,999, dok ovisnost čvrstoće o ljepljivosti evaporiranih uzoraka paste od jagode slijedi polinomnu funkciju s također vrlo visokim koeficijentom korelacije koji iznosi 0,9912 (slike 39. i 40.).

Ovisnost čvrstoće i indeksa teksture o aktivitetu vode liofiliziranih uzoraka paste od jagode su linearne ovisnosti s vrlo visokim koeficijentom korelacije 0,9927 i 0,9899 (slike 41. i 42.). Ovisnost čvrstoće i indeksa teksture o aktivitetu vode evaporiranih uzoraka paste od jagode slijede polinomnu ovisnost s visokim koeficijentom korelacije 0,975 i 0,9877 (slike 43. i 44.).

Ovisnost ljepljivosti o aktivitetu vode u liofiliziranim i evaporiranim uzorcima paste jagode slijedi polinomnu funkciju s vrlo visokim koeficijentima korelacije, 0,9996 i 0,9997 (slika 21. i 25.).

Brunnschweiler i sur. (2006.) su određivali teksturu pasta slatkog krumpira s univerzalnim instrumentom (Zwick Z010, Zwick GmbH, DE-Ulm) s opterećenjem od 100 N. Za ispitivanje čvrstoće uzorak je oblikovan u cilindar te tlače između dvije pločice. Maksimalna sila predstavlja čvrstoću paste. Ispitivana čvrstoća i adhezija pripremljenih pasta slatkog krumpira ovisila je o vrsti slatkog krumpira iz kojeg je pripremljena pasta. Rezultati su pokazali da agregacija amiloze ima značajan utjecaj na teksturu pasta i da su te promjene istaknute u prvim satima nakon pripreme paste. Promjene amilozne frakcije utječu i na

teksturu drugih proizvoda bogatih škrobom kao što je tjestenina, kruh itd.. Ipak, što se tiče paste slatkog krumpira, agregacija amiloze ima veći utjecaj na promjenu teksture. U ovom radu je ispitivan utjecaj skladištenja na čvrstoću pasta. Uglavnom skladištenjem paste 5 mjeseci dolazi do povećanja čvrstoće i smanjenja adhezije. Povećanje čvrstoće i smanjenje adhezije rezultat su gubitka vlage i degradacije škroba tijekom skladištenja [135].

Fuchigami i sur. (2002.) su ispitivali utjecaj dodatka trehaloze i hidrostatskog tlaka na strukturu i senzorska svojstva zamrznutog tofu-a. Osim što je na teksturalna i strukturalna svojstva imao utjecaj primijenjeni tlak, dodatak trehaloze (2,5 i 5 %) je također imao utjecaja poboljšavajući teksturu zamrznutog tofu-a [136].

Dermesonlouoglou i sur. (2004.) su ispitivali utjecaj osmotskog predtretiranja rajčice s otopinama glukoze, maltodekstrina, oligofruktoze i trehaloze na kvalitetu i funkcionalna svojstva zamrznutog tkiva rajčice. Osmotsko predtretiranje nije imalo samo pozitivan efekat na teksturu zamrznutog tkiva rajčice nakon skladištenja već i na boju i na zadržavanje vitamina C. Prema rezultatima senzorske analize uzorci rajčice tretirani s maltodekstrinom i smjesom oligofruktoze/trehaloze prije zamrzavanja imali su najpoželjnije senzorske karakteristike (atraktivan izgled, jasno izraženu boju, dobru teksturu i dobro okusa) [137].

Boja

U tablici 20. su prikazani rezultati parametara boje (L , a^* i b^*) za pastu od jagode pripremljenu evaporacijom i liofilizacijom sa i bez dodatka trehaloze. Osim parametara boje prikazane su i vrijednosti za promjenu boje uzoraka kojima je dodana trehaloza u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze, te chroma vrijednosti. Iz rezultata je vidljivo da evaporirani uzorci bez dodatka trehaloze imaju najniže L , a^* i b^* vrijednosti a dodatkom trehaloze te vrijednosti rastu. Dodatkom 3 i 5 % trehaloze dolazi do malog povećanja vrijednosti L vrijednosti, dok je dodatkom 10 % trehaloze taj porast jače izražen. Što se tiče a^* i b^* vrijednosti, dodatkom 3 % trehaloze vidljivo je malo povećanje vrijednosti, dok je dodatkom 5 i 10 % trehaloze to povećanje izraženije i vrijednosti su slične. Promjena boje (ΔE) uzoraka s dodatkom trehaloze u odnosu na uzorak bez dodatka trehaloze je proporcionalna, odnosno povećanjem dodatka trehaloze i promjena boje je veća. Ovisnost promjene boje o koncentraciji dodane trehaloze je linearna kod evaporiranih uzoraka s visokim koeficijentom korelacije, $R^2 = 0,9179$ (slika 47). Chroma vrijednosti su također niže za uzorak bez dodatka trehaloze dok dodatkom trehaloze dolazi do njihovog povećanja, s time da su chroma vrijednosti za uzorke s 5 i 10 % dodane trehaloze slične.

Što se tiče liofiliziranih uzoraka, L vrijednosti slijede isti trend kao i L vrijednosti za evaporirane uzorke. a^* i b^* vrijednost su najveće za uzorak sa dodatkom 10 % trehaloze dok su za ostale uzorke vrijednosti niže i približne. Promjena boje (ΔE) uzoraka s dodatkom trehaloze u odnosu na uzorak bez dodatka trehaloze je proporcionalna, odnosno povećanjem dodatka trehaloze i promjena boje je veća, isto kao i kod evaporiranih uzoraka. Ovisnost promjene boje o koncentraciji dodane trehaloze je linearna kod liofiliziranih uzoraka s visokim koeficijentom korelacije, $R^2 = 0,9658$ (slika 48.). Chroma vrijednost se također dodatkom trehaloze povećava.

Usporedbom parametara boje evaporiranih i liofiliziranih uzoraka vidi se da su vrijednosti veće za liofilizirane uzorke, s time što se može uočiti da i kod evaporiranih i liofiliziranih uzoraka dodatkom 10 % trehaloze dolazi do naglog povećanja L vrijednosti. Promjena boje za liofilizirane uzorke s dodatkom 3 i 5 % trehaloze je manja nego za evaporirane uzorke, dok je s dodatkom 10 % trehaloze promjena boje veća za liofilizirane uzorke. Chroma vrijednosti su veće za liofilizirane uzorke.

Priprema paste od jagode evaporacijom je standardni postupak pripreme ovog poluproizvoda u industriji. Liofilizacija, kao postupak pripreme provedena je kako bi se poboljšala kvaliteta proizvoda, stoga je provedena i usporedba liofiliziranih uzoraka u odnosu na evaporirane uzorke. Iz rezultata prikazanih u tablici 21. se može vidjeti da dodatkom trehaloze dolazi do smanjenja promjene boje u odnosu na uzorke pripremljene bez dodatka trehaloze. To smanjenje promjene nije proporcionalno. Najveće smanjenje promjene boje imaju uzorci s dodatkom 5 % trehaloze, zatim slijede uzorci s 3 % trehaloze, dok uzorci s 10 % trehaloze imaju najmanje smanjenje promjene boje u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze.

Prema tablici 8. u kojoj je prikazana vidljivost razlike u boji uzoraka ljudskim okom, vidi se da je razlika u boji između evaporiranih uzoraka s 3 % dodane trehaloze, i liofiliziranih uzoraka s dodatkom 3 % i 5 % trehaloze u odnosu na uzorke bez dodatka trehaloze vrlo malo vidljiva okom. Vidljivost razlika u boji okom evaporiranih uzoraka s 5 % i 10 % trehaloze u odnosu na uzorke bez dodatka je mala, dok je za liofilizirane uzorke s 10 % trehaloze prosječna. Također se može vidjeti da usporedbom liofiliziranih uzoraka s evaporiranim razlika u boji je vrlo vidljiva ljudskim okom.

Antocijani

U tablicama 22. i 23. prikazana je promjena koncentracije antocijana, antioksidativne aktivnosti i degradacijskog indeksa s promjenom količine dodane trehaloze evaporiranih i liofiliziranih uzoraka. Iz rezultata se vidi da je povećanjem količine dodane trehaloze došlo do povećanja koncentracije antocijana bez obzira da li se radi o uzorcima pripremljenim evaporacijom ili liofilizacijom. Liofilizirani uzorci su sadržavali veću koncentraciju antocijana od evaporiranih uzoraka zbog načina pripreme uzoraka odnosno tijekom evaporacije temperatura procesa je iznosila 80 °C, dok je liofilizacija provedena na niskim temperaturama. S obzirom da visoke temperature utječu na degradaciju antocijana ovakvi su rezultati i bili očekivani.

U tablici 24. prikazani su rezultati zadržavanja antocijana evaporiranih uzoraka naspram liofiliziranih. Povećanjem količine dodane trehaloze došlo je do smanjenja razlike u koncentraciji antocijana između evaporiranih i liofiliziranih uzoraka, što znači da je utjecaj dodane trehaloze bio veći na evaporirane uzorke. Kada trehaloza nije dodana prilikom pripreme paste od jagode, liofilizirani uzorci sadrže 10 % više antocijana od evaporiranih uzoraka. Dodatkom 3 % trehaloze ta razlika naglo je opala s 10 % na 2,31 %, dodatkom 5 % na 1,98 %, a dodatkom 10 % na samo 1,88 %. Iz rezultata je vidljivo da već malim dodatkom trehaloze dolazi do značajnog povećanja zadržavanja antocijana u evaporiranim uzorcima paste od jagode. Također se može vidjeti da dodatak trehaloze ima znatno veći utjecaj na održanje antocijana u evaporiranim uzorcima nego u liofiliziranim (tablica 25.). Povećanje zadržavanja antocijana kod evaporiranih uzoraka u odnosu na liofilizirane uzorke vjerojatno je posljedica načina pripreme uzoraka odnosno različitih interakcija između sastavnih komponenata uzrokovanih različitim načinom pripreme uzoraka. Jedan od značajnih procesa vjerojatno je želatinizacija škroba koja se prilikom evaporacije odvija dok kod liofilizacije ne zbog niskih temperatura pripreme uzorka.

Ovisnost koncentracije antocijana o koncentraciji dodane trehaloze evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode (slika 49.) ne slijedi linearnu funkciju već polinomnu s vrlo visokim stupnjem korelacije, R^2 za evaporirane uzorke iznosi 0,9945, a za liofilizirane uzorke 0,9393. Ovisnost antioksidativne aktivnosti (slika 50.) i degradacijskog indeksa (slika 51.) o koncentraciji dodane trehaloze evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode, također slijedi polinomnu funkciju s vrlo visokim koeficijentima korelacije. Koeficijenti korelacije za ovisnost antioksidativne aktivnosti o koncentraciji dodane trehaloze za evaporirane uzorke iznosi 0,9969, a za liofilizirane 0,9672, dok koeficijenti korelacije za

ovisnost degradacijskog indeksa o koncentraciji dodane trehaloze za evaporirane uzorke iznose 0,9961, te 0,9993 za liofilizirane.

Prikazane su i ovisnost antioksidativne aktivnosti o koncentraciji antocijana, ovisnost degradacijskog indeksa o koncentraciji antocijana i ovisnost antioksidativne aktivnosti o degradacijskom indeksu evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode (slike 52.-54.). Ovisnost antioksidativne aktivnosti o koncentraciji antocijana evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode je linearna s vrlo visokim koeficijentima korelacije. R^2 za evaporirane uzorke iznosi 0,9869, a za liofilizirane 0,9615. Ovisnost degradacijskog indeksa o koncentraciji antocijana i ovisnost antioksidativne aktivnosti o degradacijskom indeksu evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode su također linearne ali s nižim koeficijentima korelacije.

Na slikama 55. i 56. prikazane su ovisnosti koncentracije antocijana o aktivitetu vode evaporiranih i liofiliziranih uzoraka paste od jagode. Iz rezultata je vidljivo da je ovisnost koncentracije antocijana o aktivitetu vode kod evaporiranih uzoraka proporcionalna, odnosno povećanjem aktiviteta vode dolazi do povećanja koncentracije antocijana. Što se tiče liofiliziranih uzoraka situacija je obrnuta, odnosno ovisnost koncentracije antocijana o aktivitetu vode je obrnuto proporcionalna tj. smanjenjem aktiviteta vode dolazi do povećanja koncentracije antocijana.

Duangmal i sur. (2004.) su istraživali utjecaj dodatka trehaloze i maltodekstrina na liofilizirane ekstrakte antocijana iz Rosellee. Maltodekstrin i trehaloza, u koncentracijama od 2 i 3 % su korišteni kao stabilizatori tijekom liofilizacije ekstrakata. Liofilizirani prah bez dodatka stabilizatora je korišten kao kontrolni uzorak. Ustanovili su da dodatak maltodekstrina i trehaloze smanjuje degradaciju antocijana tijekom skladištenja uzoraka na 30 °C u vremenskom periodu od 15 tjedana [138].

Antioksidativna aktivnost

Gubitak nutrijenata kao posljedica procesiranja hrane i skladištenja je dobro dokumentiran, ali postoji vrlo malo dostupnih podataka o potencijalnim interakcijama prirodnih (i naravno sintetskih) antioksidanasa s drugim sastojcima hrane tijekom industrijskog procesiranja hrane, kuhanja i skladištenja [125].

Iz tablice 22. i 23. je također vidljivo da antioksidativna aktivnost i evaporiranih i liofiliziranih uzoraka slijedi trend porasta koncentracije antocijana s povećanjem dodatka

trehaloze. Također, liofilizirani uzorci imaju veću antioksidativnu aktivnost što se podudara s većom koncentracijom antocijana u liofiliziranim uzorcima.

Degradacijski indeks (DI)

Što se tiče degradacijskog indeksa (tablica 22. i 23.) rezultati su obrnuti od rezultata za sadržaj antocijana i antioksidativnu aktivnost. I sadržaj antocijana i antioksidativna aktivnost su proporcionalno rasli s dodatkom trehaloze, dok je degradacijski indeks opadao, odnosno degradacijski indeks ovisi obrnuto proporcionalno o dodatku trehaloze a samim time i o koncentraciji antocijana i antioksidativnoj aktivnosti. Uzrok smanjenja koncentracije antocijana je povećanje degradacije (npr. zbog djelovanja visoke temperature prilikom evaporacije) što se i vidi iz rezultata odnosno degradacijskog indeksa. Kako je koncentracija antocijana u liofiliziranim uzorcima veća, degradacijski indeks je manji u odnosu na evaporirane uzorke što je i bilo za očekivati zbog primijenjenih temperatura prilikom liofilizacije.

Skladištenje

Nakon provedenih mjerenja odnosno određivanja spojeva arome, teksture i boje utvrđeno je da dodatak 5 % trehaloze ima najveći utjecaj na kvalitetu pasta od jagoda (tablica 26).

Sadržaj voćnih estera se nije povećavao s povećanjem koncentracije trehaloze, već je utvrđeno da 5 % trehaloze predstavlja optimalnu koncentraciju kod koje je sadržaj voćnih estera najveći.

Utvrđeno je da povećanjem dodatka trehaloze dolazi do smanjenja čvrstoće uzoraka i povećanja ljepljivosti, tako da ni u ovom slučaju nije poželjno dodavati visoke koncentracije trehaloze. Tekstura, odnosno čvrstoća i ljepljivost pasta od jagoda je posebno važna zbog njezine aplikacije na bazu finalnog proizvoda koja se provodi pomoću valjaka zagrijanih na oko 30 °C. Evaporirani uzorci s dodanih 10 % trehaloze su premekani i preljepljivi tako da bi ih bilo nemoguće nanijeti na bazu finalnog proizvoda.

Sadržaj antocijana u uzorcima raste povećanjem dodane koncentracije trehaloze, te da se uzima u obzir samo boja najpozitivniji utjecaj bi imala koncentracija od 10 % trehaloze.

S obzirom da se treba imati u vidu poboljšanje sveukupne kvalitete pasta od jagode, za skladištenje su odabrani uzorci s 5 % dodane trehaloze, a za usporedbu uzorci bez dodatka trehaloze.

Uzorci su bili skladišteni na sobnoj temperaturi pakirani u atmosferi inertnog plina-dušika i u zraku, kako bi se ispitaio utjecaj atmosfere pakiranja na spomenuta svojstva.

Suha tvar

Suha tvar se je tijekom skladištenja uzoraka na sobnoj temperaturi povećala bez obzira jesu li uzorci skladišteni u zraku ili atmosferi dušika (tablica 27.).

Aroma

Evaporirani i liofilizirani uzorci bez dodatka arome jagode

Na slikama 57. i 58. prikazani su rezultati sadržaja voćnih estera u *evaporiranim i liofiliziranim uzorcima bez dodatka arome jagode*. Iz rezultata je vidljivo da i tijekom skladištenja od 5 mjeseci na sobnoj temperaturi bez obzira na atmosferu pakiranja, uzorci s

dodanom trehalozom imaju veći sadržaj voćnih estera. Što se tiče utjecaja atmosfere pakiranja na sadržaj voćnih estera, vidi se da je njihov sadržaj veći kada se uzorci bili pakirani u zraku.

Isti ovaj trend je zabilježen i za evaporirane uzorke kada je u pitanju sadržaj γ -dekalaktona. Što se tiče liofiliziranih uzoraka pakiranih u zraku, dodatak trehaloze nije pozitivno djelovao na sadržaj γ -dekalaktona, uzorci s dodanom trehalozom imali su znatno niži sadržaj ovog spoja. Uzorci pakirani u atmosferi dušika s dodanom trehalozom imali su gotovo jednaku vrijednost kao i uzorci bez dodatka trehaloze. U ovom slučaju sadržaj γ -dekalaktona je bio niži u uzorcima pakiranim u zraku.

Dodatak trehaloze imao je vrlo mali utjecaj na sadržaj furaneola u evaporiranim uzorcima, dok je u liofiliziranim uzorcima imao negativan utjecaj. I u ovom slučaju sadržaj ovog spoja bio je veći kada su uzorci bili pakirani u dušiku.

Evaporirani i liofilizirani uzorci sa dodatkom arome jagode

Slike 64. i 63. prikazuju sadržaj voćni estera u *evaporiranim i liofiliziranim uzorcima sa dodatkom arome jagode*. Iz prikazanih rezultata je vidljivo da uzorci s dodanom trehalozom imaju veći sadržaj estera nego uzorci bez dodatka trehaloze. U ovom slučaju sadržaj spojeva arome je veći u uzorcima koji su pakirani u atmosferi dušika.

U slučaju γ -dekalaktona dodatak trehaloze također uzrokuje veći sadržaj i u evaporiranim i u liofiliziranim uzorcima.

Što se tiče furaneola, dodatak trehaloze nema pozitivan učinak već je sadržaj u tim uzorcima manji nego u uzorcima bez dodane trehaloze.

Aktivitet vode

Nakon skladištenja na sobnoj temperaturi u trajanju od 5 mjeseci u atmosferi dušika i u zraku došlo je do povećanja aktiviteta vode i kod liofiliziranih i evaporiranih uzoraka bez obzira da li je trehaloza dodana ili ne (tablica 28.).

Tekstura

Nakon skladištenja uzorci s dodanom trehalozom zadržali su vrijednosti za čvrstoću i indeks teksture manje od uzoraka bez dodane trehaloze bez obzira na način skladištenja. Vrijednosti za čvrstoću i indeks teksture i za evaporirane i liofilizirane uzorke skladištene u

zraku nešto su više nego kod uzoraka skladištenih u atmosferi dušika, odnosno promjena ovih parametara izraženija je kod uzoraka skladištenih u zraku.

Tijekom skladištenja evaporiranih uzoraka i u zraku i u atmosferi dušika došlo je do značajnog povećanja čvrstoće uzoraka bez obzira da je li dodana trehaloza ili ne. Kod liofiliziranih uzoraka stanje je nešto drugačije, uzorci bez dodatka trehaloze, skladišteni u zraku i u atmosferi dušika, imali su značajno povećanje čvrstoće dok je kod uzoraka s dodanom trehalozom došlo do smanjenja čvrstoće (tablica 29.).

Što se tiče indeksa teksture (tablica 30.), vrijednosti prate isti trend kao i kod čvrstoće, odnosno liofilizirani uzorci s dodatkom trehaloze imaju manju vrijednost indeksa teksture nego na početku bez obzira na način skladištenja, dok evaporirani uzorci i liofilizirani bez dodatka trehaloze imaju veće vrijednosti od početnih.

Uzorci skladišteni u atmosferi dušika imaju niže vrijednosti za čvrstoću i indeks teksture u odnosu na uzorke čuvane u zraku.

Svi liofilizirani uzorci, osim uzoraka s dodatkom trehaloze i skladištenih u atmosferi dušika, imaju statistički značajno veće vrijednosti od evaporiranih uzoraka.

Određivanjem čvrstoće pomoću testa penetracije (tablica 31.) u odnosu na početne vrijednosti uočen je isti trend kao i mjerenjem čvrstoće Kramer-ovim testom što znači da su nakon skladištenja uzorci s dodanom trehalozom zadržali vrijednosti za čvrstoću manje od uzoraka bez dodane trehaloze bez obzira na način skladištenja. Vrijednosti za čvrstoću i za evaporirane i liofilizirane uzorke skladištene u zraku nešto su više nego kod uzoraka skladištenih u atmosferi dušika, odnosno promjena ovih parametara izraženija je kod uzoraka skladištenih u zraku. Tijekom skladištenja evaporiranih uzoraka i u zraku i u atmosferi dušika došlo je do značajnog povećanja čvrstoće uzoraka bez obzira da li je dodana trehaloza ili ne. Kod liofiliziranih uzoraka stanje je nešto drugačije, uzorci bez dodatka trehaloze, skladišteni u zraku i u atmosferi dušika, imali su značajno povećanje čvrstoće dok je kod uzoraka s dodanom trehalozom došlo do smanjenja čvrstoće. Bitno je uočiti da je ovim načinom mjerenja utvrđeno da je čvrstoća evaporiranih uzoraka sa i bez dodane trehaloze skladištenih u atmosferi dušika gotovo jednaka.

Što se tiče ljepljivosti uzoraka (tablica 32.), kod evaporiranih uzoraka došlo je do povećanja vrijednosti za ljepljivost odnosno do smanjenja ljepljivosti, dok je kod liofiliziranih uzoraka situacija obrnuta, vrijednosti za ljepljivost su se smanjile što znači da se je ljepljivost povećala, bez obzira na način skladištenja. Kod evaporiranih i liofiliziranih uzoraka bez obzira na način skladištenja, te kod liofiliziranih uzoraka skladištenih u atmosferi dušika s dodanom trehalozom uzorci su ljepljiviji u odnosu na uzorke bez dodane trehaloze. Kod

evaporiranih uzoraka skladištenih u zraku nema razlike između uzoraka s i bez dodane trehaloze.

Boja

Usporedbom rezultata za parametre boje u tablici 33. može se vidjeti da je došlo do promjene parametara L , a^* i b^* . Nakon skladištenja evaporiranih uzoraka na zraku i u atmosferi dušika došlo je do malog porasta L vrijednosti, s time da je promjena izraženija kod uzoraka bez dodatka trehaloze. b^* vrijednosti je također porasla, te je promjena izraženija kod uzoraka bez dodatka trehaloze kao i za L vrijednost. Promjena a^* vrijednosti je izraženija nego promjena L i b^* vrijednosti, ali za razliku od L i b^* vrijednosti a^* vrijednost se je nakon skladištenja smanjila. Što se tiče liofiliziranih uzoraka promjena parametara boje za uzorke bez dodatka trehaloze slijedi trend promjene parametara boje evaporiranih uzoraka za razliku od uzoraka s dodatkom 5 % trehaloze. L , a^* i b^* vrijednosti liofiliziranih uzoraka s dodatkom 5 % trehaloze značajno opada nakon skladištenja.

Iz tablice 33. možemo vidjeti i rezultate promjene boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme bez dodatka trehaloze (ΔE_1) i promjene boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme s istim dodatkom trehaloze (ΔE_2). Promjena boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme bez dodatka trehaloze (ΔE_1) u pola je manja za evaporirane uzorke nego za liofilizirane uzorke bez obzira na način skladištenja. Vrijednosti za ΔE_1 za evaporirane uzorke skladištene na zraku su jednake bez obzira na dodatak trehaloze, dok je ta ista vrijednost za uzorke skladištene u atmosferi dušika veća za uzorke bez dodatka trehaloze. Kod liofiliziranih uzoraka skladištenih na zraku ΔE_1 je veća za uzorke s dodatkom 5 % trehaloze, dok je prilikom skladištenja uzoraka u atmosferi dušika situacija obrnuta. Što se tiče promjene boje uzoraka nakon skladištenja u odnosu na uzorke nakon pripreme s istim dodatkom trehaloze (ΔE_2), prilikom skladištenja na zraku veća promjena boje uočena je za uzorke skladištene na zraku. Kod uzoraka skladištenih u atmosferi dušika situacija je obrnuta, odnosno manja je promjena boje za uzorke s dodatkom 5 % trehaloze.

Antocijani

U tablici 35. prikazani su rezultati određivanja sadržaja antocijana nakon skladištenja u različitim atmosferama. Tijekom skladištenja uzoraka došlo je do degradacije antocijana što je i jasno vidljivo iz rezultata.

Iz rezultata se vidi da dodatkom trehaloze bez obzira radi li se o evaporiranim ili liofiliziranim uzorcima dolazi do većeg zadržavanja antocijana. Liofilizirani uzorci su imali veći sadržaj antocijana nakon skladištenja nego evaporirani. Degradacija antocijana u uzorcima skladištenim u atmosferi dušika bila je manja nego u uzorcima skladištenim u zraku.

Antioksidativna aktivnost

Antioksidativna aktivnost (tablica 35.) prati sadržaj antocijana, odnosno dodatkom trehaloze antioksidativna aktivnost je veća, nego u uzorcima bez dodatka trehaloze. Porast antioksidativne aktivnosti nakon skladištenja može se objasniti nastajanjem produkata degradacije antocijana [139] i produkta Maillardove reakcije [121, 124, 140] s obzirom da je dokazano da ti produkti pokazuju antioksidativnu aktivnost. Antioksidativnoj aktivnosti određivanoj pomoću DPPH doprinose i produkti Maillardove reakcije a ne samo fenolne komponente, jer oni sudjeluju u zarobljavanju radikala [141].

Degradacijski indeks

Iz rezultata (tablica 35.) je vidljivo da je degradacijski indeks dodatkom trehaloze bio manji nego u uzorcima bez dodatka trehaloze, bez obzira na način primjene i tip atmosfere pakiranja.

Kao što se može vidjeti, iz prikazanih rezultata, dodatak trehaloze imao je utjecaj na sveukupnu kvalitetu pasta od jagoda, odnosno na zadržavanje spojeva arome, teksturu i boju.

Paste od jagoda su vrlo kompleksan matriks unutar kojeg dolazi do raznih, kompleksnih interakcija između njenih sastojaka. Na interakcije između sastojaka ne utječu samo sastojci već i način procesiranja smjese sirovina. Mehanizam djelovanja trehaloze još uvijek nije poznat, ali postoje tri teorije pomoću koji se objašnjava njezin pozitivan učinak na svojstva prehrambenih proizvoda.

Dodatkom sve većih koncentracija trehaloze došlo je do povećanja zadržavanja antocijana u pastama od jagode, te je pretpostavka je da je došlo do vezivanja antocijana na trehalozu. Što se pak tiče spojeva arome, povećanjem koncentracije dodane trehaloze nije došlo do povećanja njihovog zadržavanja, već je došlo do povećanja njihovog zadržavanja do određene, optimalne koncentracije trehaloze a zatim do opadanja. To bi se moglo objasniti stvaranjem kompleksa između trehaloze i škroba, odnosno amiloze škroba. Do jedne određene koncentracije trehaloze dolazi do formiranja takvih kompleksa koji stvaraju mjesta na koja se spojevi arome mogu vezati odnosno struktura kompleksa je takva da se dozvoljava vezivanje spojeva arome. S obzirom da su vjerojatno na trehalozu vezani antocijani i njihovo prisustvo utječe na formiranje kompleksa, odnosno na prostorni raspored, te vjerojatno kako se povećanjem koncentracije trehaloze veže sve više antocijana, oni blokiraju pristup mjestima na koja bi se mogli vezati spojevi arome.

S obzirom da dodatkom trehaloze dolazi do raznih interakcija unutar matriksa, dolazi i do promjene strukture pa tako i teksture što je vidljivo iz rezultata mjerenja parametara teksture (čvrstoće, indeksa teksture i ljepljivosti).



ZAKLJUČAK

6. ZAKLJUČAK

Zahtjevi potrošača za što kvalitetnijim prehrambenim proizvodima danas su izraženiji nego ikada. Kako bi se udovoljilo zahtjevima potrošača, velika pažnja se posvećuje razvoju novih proizvoda ili pak poboljšavanju već postojećih proizvoda dodatkom sastojaka koji bi omogućili poboljšanje kvalitete.

U ovom radu ispitivan je dodatak različitih količina trehaloze i različitih načina procesiranja sastojaka na sveukupnu kvalitetu pasta od jagoda.

Dodatkom trehaloze došlo je do promjene svojstava (sadržaja spojeva arome, teksture i boje) pasta od jagoda u odnosu na uzorke pripremljene bez dodatka trehaloze.

Dodatkom trehaloze došlo je do povećanja sadržaja voćnih estera (spojeva koji su odgovorni za karakterističnu aromu jagoda), ali to povećanje nije bilo proporcionalno dodatku trehaloze odnosno povećanjem količine trehaloze nije došlo do povećanja sadržaja estera. Kod uzoraka bez dodatka arome jagode, optimalna količina dodane trehaloze za evaporirane uzorke bila je 3 %, a za liofilizirane uzorke 5 %. U slučaju uzoraka sa dodatkom arome jagode, optimalna količina dodane trehaloze za evaporirane uzorke bila je 5 %, a za liofilizirane uzorke 3 %. Vrlo bitno je uočiti da se kod određene količine dodane trehaloze postiže maksimalan sadržaj voćnih estera a daljnjim povećanjem koncentracije arome dolazi do opadanja sadržaja voćnih estera.

Što se tiče parametara teksture, dodatak trehaloze ima značajan utjecaj. I u slučaju evaporiranih i liofiliziranih uzoraka dodatkom trehaloze dolazi do smanjenja čvrstoće i povećanja ljepljivosti uzoraka. S obzirom da su liofilizirani uzorci čvršći i manje ljepljivi nego evaporirani, utjecaj dodatka trehaloze u evaporirane uzorke je značajniji. Evaporirani uzorci s dodatkom 10 % trehaloze su najmekši, a ljepljivost uzoraka je vrlo izražena. Zbog velike promjene u teksturi, uzorci s 10 % trehaloze bi se vrlo teško nanijeli pomoću valjaka na bazu proizvoda.

Povećanjem dodane količine trehaloze dolazi do povećanja sadržaja antocijana i očuvanja boje i u evaporiranim i liofiliziranim uzorcima.

Iako dolazi do povećanja sadržaja antocijana i očuvanja boje dodatkom sve većih količina trehaloze, moraju se uzeti u obzir promjene koje uzrokuje dodatak trehaloze na

aromu i teksturu tj. mora se odrediti optimalna količina odnosno količina kod koje trehaloza djeluje pozitivno na sva svojstva. Optimalna količina dodane trehaloze koja djeluje pozitivno tj. na poboljšanje kvalitete paste od jagoda je 5 %. Iz tog razloga su ti uzorci i odabrani za daljnje skladištenje.

Primjenom liofilizacije kao procesa pripreme paste od jagode umjesto evaporacije (uobičajenog postupka u industrijskoj praksi) došlo je do promjene kvalitativnih svojstava proizvoda u odnosu na proizvod pripremljen evaporacijom. Sadržaj voćnih estera u liofiliziranim uzorcima je bio značajno veći. Degradacija boje, te antocijana je bila izraženija u evaporiranim uzorcima, te bi se iz tog razloga liofilizacija mogla koristiti kao način pripreme paste. Bitno je uzeti u obzir promjenu teksture liofiliziranih uzoraka jer je došlo do značajnog povećanja čvrstoće uzoraka što znatno utječe na nanošenje paste na bazu finalnog proizvoda. Dodatkom trehaloze čvrstoća liofiliziranih uzoraka se smanjuje što olakšava njeno nanošenje na bazu proizvoda. Osim promjene svojstava odnosno kvalitete paste, treba uzeti u obzir i financijsku isplativost primjene liofilizacije koja je dugotrajan proces.

Nakon skladištenja pozitivan utjecaj liofilizacije i dodatka trehaloze je zadržan, odnosno sadržaj voćnih estera, sadržaj antocijana i očuvanje boje je bilo izraženije u uzorcima kojima je dodana trehaloza.

Što se tiče utjecaja atmosfere pakiranja, sadržaj voćnih estera kod uzoraka bez dodatka arome jagode bio je veći kada su uzorci pakirani u zraku, dok kod uzoraka sa dodatkom arome jagode rezultat je bio obrnut odnosno sadržaj voćnih estera je bio veći kod uzoraka skladištenih u atmosferi dušika. Vrijednosti za određivane parametre teksture (čvrstoća, indeks teksture i ljepljivost) su bile niže kod uzoraka skladištenih u atmosferi dušika. Sadržaj antocijana je također bio veći kod uzoraka pakiranih u atmosferi dušika.



LITERATURA

7. LITERATURA

1. M. C. Bourne: Food Texture and Viscosity Second Edition: Concept and Measurement. Academic Press, New York, 2002.
2. D. Komes, T. Lovrić, K. Kovačević Ganić, L. Gracin: Study of Trehalose Addition on Aroma Retention in Dehydrated Straweberry Puree. *Food Tech. Biotech.*, 41 (2), 111-119, 2003.
3. P. Buera, C. Schebor, B. Elizadle: Effects of carbohydrate crystallization on stability of dehydrated foods and ingredient formulation. *J. Food Eng.*, 67, 157-165, 2005.
4. A. Hansson, J. Andersson, A. Leufven: The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model systems. *Food Chem.*, 72, 363-368, 2001.
5. Patist, H. Zoerb: Preservation mechanisms of trehalose in food and biosystems. *Colloid Surfaces B*, 40, 107-113, 2005.
6. <http://www.foodqualitynews.com/news/ng.asp?n=42178-trehalose-gains-eu>
7. http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2001/l_269/l_26920011010en00170019.pdf
8. C. A. L. S. Colacço, B. Roser: Trehalose-a multifunctional additive for food preservation. In: Mathlouthi, M. (Ed.), Food Packaging and Preservation. Blackie Professional, London, str. 123–140, 1995.
9. http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A453%20Trehalose%20FAR.pdf
10. B. Richardsa, S. Krakowkab, L. B. Dexterc, H. Schmid, A. P. M. Wolterbeeke, D. H. Waalkens-Berendsene, A. Shigoyukif, M. Kurimotof: Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem. Tox.*, 40, 871–898, 2002.
11. http://wc.pima.edu/~bfiero/tucsonecology/plants/others_repl.htm
12. S. B. Leslie, E. Israeli, B. Lighthart, J. H. Crowe, L. M. Crowe: Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. *Applied Env. Microbio.*, 61, 3592–3597, 1995.
13. M. C. Donnamaria, E. I. Howard, J. R. Grigera: Interaction of water with α,α -trehalose in solution: molecular dynamics simulation approach. *J. Chemical Society Faraday Transactions*, 90, 2731–2735, 1994. cit. u A.B. Richardsa, S. Krakowkab, L. B. Dexterc, H. Schmid, A. P. M. Wolterbeeke, D. H. Waalkens-Berendsene, A. Shigoyukif, M. Kurimotof: Trehalose: a review of properties, history of use and

human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem. Tox.*, 40, 871–898, 2002.

14. H. Kawai, M. Sakurai, Y. Inoue, R. Chujo, S. Kobayashi: Hydration of oligosaccharides: anomalous hydration ability of trehalose. *Cryobio.*, 29, 599–606, 1992.
15. J. H. Crowe, J. F. Carpenter, L. M. Crowe, T. J. Anchordoguy: Are freezing and dehydration similar stress vectors? A comparison of modes of interaction of stabilizing solutes with biomolecules. *Cryobio.*, 27, 219–231, 1990.
16. J. H. Crowe, L. M. Crowe: Preservation of mammalian cells — learning nature's tricks. *Nature Biotechnol.*, 18, 145–147, 2000.
17. J. L. Green, C. A. Angell: Phase relations and vitrification in saccharide-water solutions and the trehalose anomaly. *J. Phy. Chem.*, 93, 2880–2882, 1989.
18. Y. Roos: Melting and glass transitions of low molecular weight carbohydrates. *Carbohy. Res.*, 238, 39–48, 1993.
19. Saleki-Gerhardt, G. Zogra.: Non-isothermal crystallization of sucrose from the amorphous state. *Pharm. Res.*, 11, 1166–1173, 1994.
20. F. Sussich, F. Princivalle, A. Cesáro: The interplay of the rate of water removal in the dehydration of α,α -trehalose. *Carbohy. Res.*, 322, 113–119, 1999.
21. P. Miller, J. J. de Pablo, H. Corti: Thermophysical properties of trehalose and its concentrated aqueous solutions. *Pharm. Res.*, 14, 578–590, 1997.
22. J. H. Crowe, L. M. Crowe, J. F. Carpenter, A. S. Rudolph, C. A. Wistrom, B. J. Spargo, T. J. Anchordoguy: Interactions of sugars with membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 947, 367–384, 1988. cit. u A. B. Richardsa, S. Krakowkab, L. B. Dexter, H. Schmid, A. P. M. Wolterbeeke, D. H. Waalkens-Berendsene, A. Shigoyukif, M. Kurimotof: Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem. Tox.*, 40, 871–898, 2002.
23. S. D. Allison, B. Chang, T. W. Randolph, J. F. Carpenter: Hydrogen bonding between sugar and protein is responsible for inhibition of dehydration-induced protein unfolding. *Arch. Biochem. Biophys.*, 365, 289–298, 1999.
24. M. F. Mazzobre, M. Del Pilar Buera: Combined effects of trehalose and cations on thermal resistance of beta-galactosidase in freeze-dried systems. *Biochim. Biophys. Acta*, 1473, 337–344, 1999.

25. W. Q. Sun, P. Davidson: Protein inactivation in amorphous sucrose and trehalose matrices: effects of phase separation and crystallization. *Biochim. Biophys. Acta*, 1425, 235–244, 1998.
26. P. Van Dijck, D. Colavizza, P. Smet, J. M. Thevelein,: Differential importance of trehalose in stress resistance in fermenting and nonfermenting *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Applied Envir. Microbio.*, 61, 109–115, 1995.
27. S. Bhandal, R. M. Hauptmann, J. M. Widholm: Trehalose as cryoprotectant for the freeze preservation of carrot and tobacco cells. *Plant Physiology*, 78, 430–432, 1985.
28. http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A453%20Trehalose%20FAR.pdf
29. G. Pkez, R. Olias, J. Olias, M. Olias, C. Sanz: Strawberry quality as a function of the ‘high pressure fast cooling’ design. *Food Chem.*, 62, 2, 161-168, 1998.
30. J. F. Ayala Zavala, S. Y. Wang, C. Y. Wang, G. A. Gonzales-Aguiler: Effect of storage on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensm.-Wissen. Techn.*, 37, 687-695, 2004.
31. <http://hrana.com/pt/voce.htm>
32. W. H. McFadden, R. Teranishi, J. Corse, D. R. Black, T. R. Mon: Volatiles from strawberries. II. Combined mass spectrometry and gas chromatography on complex mixtures. *J. Chromatog.*, 18, 10-19, 1965. cit. u E. Kafkas, S. Kafkas, M. Koch-Dean, W. Schwab, O. Larkov, N. Lavid, E. Bar, U. Ravid, E. Lewinsohn: Comparison of Methodologies for the Identification of Aroma Compounds in Strawberry. *Turk. J. Agric. For.*, 29 383-390, 2005.
33. M. Larsen, L. Poll: Odour tresholds of some important aroma compounds in strawberries. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 195, 120-123, 1992.
34. M. Larsen, L. Poll., C.E. Olsen.: Evaluation of the aroma composition of some strawberry (*Fragaria ananassa*, Duch) cultivars by use of odour treshold values. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 195, 536-539, 1992.
35. P. J. Dirinck, H. L. De Pooter, G. A. Willaert, N. M. Schamp: Flavor of Cultivated Strawberries: The Role of the Sulfur Compunds. *J. Sci. Food Agric.*, 29, 316-321, 1981.
36. P. Schreier: Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries, *Fragaria ananassa* cv. Senga Sengana, Senga Litessa and Senga Gourmella. *J. Sci. Food Agric.*, 31, 487-494, 1980.
37. R. G. Buttery: Vegetable and fruit flavours. In: R. Teranishi, R.A. Flath, and H. Sugisawa (eds.). *Flavour research: Recent advances*, Marcel Dekker, New York, str.

- 175-216, 1981. cit. u E. Kafkas, S. Kafkas, M. Koch-Dean, W. Schwab, O. Larkov, N. Lavid, E. Bar, U. Ravid, E. Lewinsohn: Comparison of Methodologies for the Identification of Aroma Compounds in Strawberry. *Turk. J. Agric. For.*, 29, 383-390, 2005.
38. C. Douillard, E. Guichard: The aroma of strawberry (*Fragaria ananassa*): characterisation of some cultivars and influence of freezing. *J. Sci. Food Agr.*, 50, 517-531, 1990.
39. M. Larsen, C. B. Watkins: Firmness and concentration of acetaldehyde, ethyl acetate, and ethanol in strawberries stored in controlled and modified atmosphere. *Postharvest Biol. Tech.*, 5, 39-50, 1995.
40. I. Yamashita, Y. Nemoto, S. Yoshikawa: Formation of volatile alcohols and esters from aldehydes in strawberries. *Phytochem.*, 15, 1633-1637, 1976. cit. u I. Zabetakis, M. A. Holden: Strawberry flavour: Analyses and Biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 421-434, 1997.
41. I. Yamashita, K. Iino, Y. Nemoto, S. Yoshikawa: Studies on flavor development in strawberries. 4. Biosynthesis of volatile alcohols and esters from aldehydes during ripening. *J. Agric. Food. Chem.*, 25, 1165-1168, 1977. cit. u I. Zabetakis, M. A. Holden: Strawberry flavour: Analyses and Biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* 74, 421-434, 1997.
42. W. C. Mitchell, G. Jelenkovic: Characterizing NAD- and NADP-dependent alcohol dehydrogenase enzymes of strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 120, 798-801, 1995.
43. F. Pisarnitskii, A. G. Demechenko, I. A. Egorov, R. K. Gvelesiani: Methylpentoses are probable precursors of furanones in fruits. *Appl. Biochem. Microbio.*, 28, 97-100, 1992.
44. P. E. Shaw, R. E. Berry: Hexose-amino acid degradation studies involving formation of pyrroles, furans and other low molecular weight products. *J. Agric. Food. Chem.*, 25, 641-644, 1977. cit. u I. Zabetakis, M. A. Holden: Strawberry flavour: Analyses and Biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 421-434, 1997.
45. T. M. Reynolds: Chemistry of nonenzymic browning: II. *Adv. Food. Res.*, 14, 167-283, 1963. cit. u I. Zabetakis, M. A. Holden: Strawberry flavour: Analyses and Biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* 74, 421-434, 1997.
46. I. Yamashita, Y. Nemoto, S. Yoshikawa: Formation of volatile esters in strawberries. *J. Agric. Biol. Chem.*, 39, 2303-2307, 1975. cit. u I. Zabetakis, M. A. Holden: Strawberry flavour: Analyses and Biosynthesis. *J. Sci. Food Agric.* 74, 421-434, 1997.

47. Y. C. Hong, L. C. Huang, G. A. Reineccius, S. K. Harlander, T. P. Labuza: Production of aroma compounds from strawberry cell suspension cultures by addition of precursors. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.*, 21, 245-251, 1990.
48. A. Madene, M. Jacquot, J. Scher, S. Desobry: Flavour encapsulation and controlled release-a review. *Int. J. Food Sci. Techn.*, 41, 1-21, 2006.
49. C. Druaux, A. Voilley: Effect of food composition and microstructure on volatile flavour release. Review. *Trends Food Sci. Tech.*, 8, 364-368, 1997.
50. A. Boutboul, F. Lenfant, P. Giampaoli, A. Feigenbaum, V. Ducruet: Use of inverse gas chromatography to determine thermodynamic parameters of aroma–starch interactions. *J. Chromatog. A*, 969, 9–16, 2002.
51. M. Seuvre, M. A. Espinosa Diaz, A. Voilley: Influence of the Food Matrix Structure on the Retention of Aroma compounds. *J. Agr. Food Chem.*, 48, 4296-4300, 2000.
52. Y. M. Gunning, P. A. Gunning, E. K. Kemsley, R. Parker, S. G. Ring, R. H. Wilson, A. Blake: Factors Affecting the Release of Flavor Encapsulated in Carbohydrate Matrixes. *J. Agr. Food Chem.*, 47, 5198-5205, 1999.
53. J. A. Lopes da Silva, S. M. Castro, I. Delgadillo: Effect of Gelatinization and Starch-Emulsifier Interactions on Aroma Release from Starch-Rich Model Systems. *J. Agr. Food Chem.*, 50, 1976-1984, 2002.
54. I. Goubet, J.-L. Le Quere, A. J. Voilley: Retention of aroma compounds by carbohydrates: Influence of their Physicochemical characteristics and of their physical state. *J. Agr. Food Chem.*, 46, 1981-1990, 1998.
55. F.E. Escher, J. Nuessli, B. Conde-Petit: Interactions of flavor compounds with starch in food processing cit. u D.D. Roberts, A.J. Taylor: Flavor Release. ACS symposium series, New Orleans, Louisiana, 1999.
56. C. Heinemann, M. Zinsli, A. Renggli, F. Escher, B. Conde-Petit: Influence of amylose-flavor complexation on build-up and breakdown of starch structures in aqueous food model systems. *Lebensm.-Wissen. Techn.*, 38, 885–894, 2005.
57. <http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta.html>
58. S. M. Van Ruth, C. King: Effect of starch and amylopectin concentrations on volatile flavour release from aqueous model food systems. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 407–416, 2003.
59. A. Boutboul, P. Giampaoli, A. Feigenbaum, V. Ducruet: Influence of nature and treatment of starch on aroma retention. *Carbohy. polymers*, 47, 73–82, 2002.
60. <http://www.powderanalyser.co.uk/why%20texture.htm>

61. R. Azodanlou, C. Darbellay, J. Luisier, J.-C. Villettaz, R. Amad: Changes in flavour and texture during the ripening of strawberries. *Eur. Food. Res. Technol.*, 218, 167–172, 2004.
62. B. Otegbayo, J. Aina, Asiedu, M. Bokanga: Microstructure of boiled yam (*Dioscorea* spp.) and its implication for assessment of textual quality. *J. Tex. Stud.*, 36, 324–332, 2005.
63. J. Giese: Texture Measurement in Foods. *Food Tech.*, 57, 3, 2003.
64. M. S. Peterson, A. H. Johnson: Encyclopedia of Food Science. The Avi publishing company, Inc., Vestport, Conneticut, 1978.
65. J. H. Von Elbe, S. J. Schwartz: Colorants in Fennema, O.R.: Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.
66. <http://www.ktf-split.hr/periodni/abc/s.html>
67. N. N. Potter: Food science. The Avi publishing company, Inc., Vestport, Conneticut, 1978.
68. R. Brouillard: Chemical structure of anthocyanins. In: Anthocyanins as Food Colors. Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc., New York, str. 1-38, 1982.
69. J. Francis: Food colorants: anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 28, 273-314, 1989.
70. R. Robinson, A. Leon: Comparison of the stability of certain anthocyanins and anthocyanidins in the presence of dilute solutions of ferric chloride. *Rev. Acad. Cienc.*, 28, 202-208, 1931. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
71. B. De Ancos, E. Gonzalez, M. P. Cano: Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Food Res. Tech.*, 208, 33-38. 1999.
72. M. P. Kähkönen, J. Heinämäki, V. Ollilainen, M. Heinonen: Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. *J. Sci. Food Agric.*, 83, 1403-1411, 2003.
73. L. Cabrita, T. Fossen, O. M. Andersen: Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem.*, 68, 101-107, 2000.
74. L. T. Dao, G. R. Takeoka, R. H. Edwards, J. D. J. Berrios: Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3564-3569, 1998.
75. G. Mazza, R. Brouillard: Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chem.*, 25, 207-225, 1987.

76. F. Timberlake, P. Bridle: Effects of substituents on the ionization of flavylum salts and anthocyanins and their reactions with sulfur dioxide. *Chem. & Ind.*, 1965-1966, 1966. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
77. F. Timberlake, P. Bridle: Spectral studies of anthocyanin and anthocyanidin equilibrium in aqueous solution. *Nature*, 212, 158-159, 1966. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
78. M. S. Starr, F. J. Francis: Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Tech.*, 22, 1293-1295, 1968. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
79. K. Broennum-Hansen, J. M. Flink: Anthocyanin colorants from elderberry (*Sambucus nigra* L.). 3. Storage stability of the freeze dried product. *J. Food Techn.*, 20, 725-733, 1985.
80. M. M. Giusti, L. E. Rodriguez-Saona, R. E. Wrolstad: Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4631-4637, 1999.
81. R. L. Jackman, R. Y. Yada, M. A. Tung, R. A. Speers: Anthocyanins as food colorants - review. *J. Food Biochem.*, 11, 201-247, 1987.
82. N. Palamidis, P. Markakis: Stability of grape anthocyanin in carbonated beverages. *Semana Vitivinicola*, 33, 2633, 2635, 2637-2639, 1978. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
83. E. Maccarone, A. Maccarrone, P. Rapisarda: Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *J. Food Sci.*, 50, 901-904, 1985.
84. J. B. Adams: Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin. I. In acidified aqueous solution at 100.deg. *J. Sci. Food Agric.*, 24, 747-762, 1973.

85. P. Markakis, G. E. Livingston, C. R. Fellers. Quantitative aspects of strawberry-pigment degradation. *Food Res.*, 22, 117-130, 1957. cit. u M. J. Rein: Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Doktorska dizertacija. Odjel za primjenjenu kemiju i mikrobiologiju. Kemija hrane. Sveučilište Helsinki. 2005.
86. H. Matsufuji, T. Otsuki, T. Takeda, M. Chino, M. Takeda: Identification of reactionproducts of acylated anthocyanins from red radish with peroxy radicals. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3157-3161, 2003.
87. M. Rossetto, P. Vanzani, L. Zennaro, F. Mattivi, U. Vrhovsek, M. Scarpa, A. Rigo: Stable free radicals and peroxy radical trapping capacity in red wines. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 6151-6155, 2004.
88. M. Garcia-Alonso, G. Rimbach, J. C. Rivas-Gonzalo, S. De Pascual-Teresa: Antioxidant and cellular activities of anthocyanins and their corresponding vitisins A. Studies in platelets, monocytes, and human endothelial cells. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3378-3384, 2004.
89. P. Markakis: Stability of anthocyanins in foods. In: Anthocyanins as Food Colors. Markakis P (ed.), Academic Press Inc., New York, str. 163-178, 1982.
90. A. Garcia-Palazon, W. Suthanthangjai, P. Kajda, I. Zabetakis: The effects of high hydrostatic pressure on b-glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria ananassa*). *Food Chem.*, 88, 7-10. 2004.
91. F. Kader, B. Rovel, M. Girardin, M. Metche: Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L). Partial purification and characterization of blueberry polyphenol oxidase. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 513-516, 1997
92. P. G. Pifferi, R. Cultrera: Enzymic degradation of anthocyanins. Role of sweet cherry polyphenol oxidase. *J. Food Sci.*, 39, 786-791, 1974.
93. M. S. Poei-Langston, R. E. Wrolstad: Color degradation in an ascorbic acid anthocyaninflavanol model system. *J. Food Sci.*, 46, 1218, 1222, 1236, 1981.
94. B. Krifi, F. Chouteau, J. Boudrant, M. Metche: Degradation of anthocyanins from blood orange juices. *Int. J. Food Sci. Techn.*, 35, 275-283, 2000.
95. R. E. Wrolstad, G. Skrede, P. Lea, G. Enersen: Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *J. Food Sci.*, 55, 1064-1065, 1072, 1990.

96. B. De Ancos, M. P. Cano, A. Hernandez, M. Monreal: Effects of microwave heating on pigment composition and color of fruit purees. *J. Sci. Food Agric.*, 79, 663-670, 1999.
97. J. Wilska-Jeszka, A. Korzuchowska: Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation. Influence on the color of strawberry and chokeberry juices. *Food Res. Tech.*, 203, 38-42, 1996.
98. K. Skupien, J. Oszmainski: Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. *Eur. Food Res. Techn.*, 219, 66-70, 2004.
99. H. Shi, N. Noguchi, E. Niki: Introducing naturale antioxidants, u Antioxidants in food: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, Woodhead Publishing Ltd, str. 147-158, 2001.
100. M. J. Thomas: The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35 (1/2), 21-39, 1995.
101. N. V. Yanishlieva-Maslarova, I. M. Heinonen: Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas u Antioxidants in food: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, Woodhead Publishing Ltd, 210-263, 2001.
102. L. S. Einbond, K. A. Reynertson, Xiao-DongLuo, M. J. Basile, E. J. Kennelly: Anthocyanin antioxidants from edible fruits. Rapid communication. *Food Chem.*, 84, 23-28, 2004.
103. M. H. Gordon: The development of oxidative rancidity in foods u Antioxidants in food. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, Woodhead Publishing Ltd, 6-21, 2001.
104. J. Pokorny: Antioxidants in food: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, Woodhead Publishing Ltd, 1-3, 2001.
105. M. Ferrali, C. Signorini, B. Caciotti, L. Sugherini, L. Ciccoli, D. Giachetti, M. Comporti: Protection against oxidative damage of erythrocyte membranes by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett.*, 416, 123-129, 1997. cit. u Kelly E. Heim, Anthony R. Tagliaferro, Dennis J. Bobilya: Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. Reviews: Current Topic. *J. Nutritional Biochem.*, 13, 572-584, 2002.
106. J. Elliott, S. A. Scheiber, C. Thomas, R. S. Pardini: Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 44, 1603-1608, 1992.
107. R. Hirano, W. Sasamoto, A. Matsumoto, H. Itakura, O. Igarashi, K. Kondo: Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 47, 357-362, 2001.

108. P. Cos, L. Ying, M. Calomme, J. P. Hu, K. Cimanga, B. Van Poel, L. Pieters, A. J. Vlietnck, D. Vanden Berghe: Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.*, 61, 71–76, 1998.
109. D. Amić, D. Davidović-Amić, D. Bešlo, N. Trinajstić: Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Cro. Chem. Acta*, 76 (1), 55-61, 2003.
110. G. Cao, E. Sofic, R. L. Prior, Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic. Biol. Med.*, 22, 749–760, 1997.
111. A. Sekher Pannala, T. S. Chan, P. J. O'Brien, C. A. Rice-Evans: Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 282, 1161–1168, 2001.
112. R. Haenen, J. B. Paquay, R. E. Korthouwer, A. Bast: Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 236, 591–593, 1997.
113. S. Burda, W. Oleszek: Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2774–2779, 2001.
114. J. Dugas Jr., J. Castaneda-Acosta, G. C. Bonin, K. L. Price, N. H. Fischer, G. W. Winston: Evaluation of the total peroxyl radical scavenging capacity of flavonoids: structure-activity relationships. *J. Nat. Products*, 63, 327–331, 2000.
115. A. Arora, M. G. Nair, G. M. Strasburg: Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic. Biol. Med.*, 24, 1355–1363, 1998.
116. K. Ratty, N. P. Das: Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. *Biochem. Med. Metab. Biol.*, 39, 69–79, 1988.
117. Z. Gao, K. Huang, X. Yang, H. Xu: Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi., *Biochim. Biophys. Acta*, 472, 643–650, 1999.
118. G. Gazzani, P. Vagnarell, M.T. Cuzzoni, P. Mazza: Mutagenic activity of the Maillard reaction products of ribose with different amino acids. *J. Food Sci.*, 52 (3), 756-760, 1987.
119. G. C. Yen, C. F. Chau, J. D. Lii: Isolation and characterization of most antimutagenic Maillard reaction products derived from xylose and lysine. *J. Agr. Food Chem.*, 41, 771-776, 1993.
120. G. C. Yan, L. C. Tsai: Antimutagenicity of partially fractionated Maillard reaction products. *Food Chem.*, 47, 11-15, 1993.

121. H. Lingnert, G. R. Waller: Stability of antioxidants formed from histidine and glucose by Maillard reaction. *J. Agr. Food Chem.*, 31, 27-30, 1983.
122. M. Anesse, P. Pittia, M. C. Nicolli: Oxygen consuming properties of heated glucose-glycin aqueous solutions. *Italian J. Food Sci.*, 3, 75-79, 1993.
123. M. Anesse, M. C. Nicolli, C. R. Lerici: Influence of pH on the oxygen scavenging properties of heat-treated glucose-glycine systems. *J. Food Sci.*, 4, 421-432, 1994.
124. M. C. Nicoli, M. Anese, M. T. Parpinel, S. Franceschi, C. R. Lerici: Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Lett.*, 114, 71-74, 1997.
125. J. Pokorny: Natural antioxidant functionality during food processing u Antioxidants in food: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, Woodhead Publishing Ltd, 331-354, 2001.
126. <http://www.zeiss.de/c12567bb00549f37/ContentsFrame/8aec6d588f3feef241256d660048c12f>
127. <http://www.graphometronic.com/pdf/cq3.pdf#search='L%20a%20b%20system%20CI E'>
128. M. M. Giusti, R. E. Wrolstad: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Unit F1.2. In Current Protocols in Food Analytical Chemistry. R. E. Wrolstad, S. J. Schwartz (Ed.). John Wiley & Sons, Inc. New York, NY. Pp. F1.2.1 – F1.2.13., 2001.
129. G. Mazza, L. Fukumoto, P. Delaquis, B. Girard, B. Ewert: Anthocyanins, phenolics and color of cabernet franc, merlot and pinot noir wines from British Columbia. *J. Agr. Food Chem.*, 41, 4009–4017, 1999,
130. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wissen. Techn.*, 28, 25–30, 1995.
131. K. Shimada, K. Fujikawa, Yahara, T. Nakamura: Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agr. Food Chem.*, 40, 945–948, 1992.
132. D. Komes, T. Lovrić, K. Kovačević Ganić, J. Gajdoš Kljusurić, M. Banović: Trehalose improves flavour retention in dehydrated apricot puree. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 40, 425–435, 2005.
133. S. S. Sablani, S. Kasapis, M. S. Rahman: Evaluating water activity and glass transition concept for food stability. *J. Food Eng.*, 78, 266-271, 2007.

134. C. Wilkinson, G. B. Dijksterhuis, M. Minekus: From food structure to texture. *Trends Food Sci. Tech.*, 11, 442-450, 2000.
135. J. Brunnschweiler, D. Mang, Z. Farah, F. Escher, B. Conde-Petit: Structure–texture relationships of fresh pastes prepared from different yam (*Dioscorea* spp.) varieties. *Lebensm.-Wissen. Techn.*, 39 (7), 762-769, 2006.
136. M. Fuchigami, N. Ogawa, A. Teramoto: Trehalose and hydrostatic pressure effects on the structure and sensory properties of frozen tofu (soybean curd). *Innovative Food Sci. Emerging Tech.*, 3, 139-147, 2002.
137. K. Dermesonlouoglou, M. C. Giannakourou, P. Taoukis: Stability of dehydrofrozen tomatoes pretreated with alternative osmotic solutes. *J. Food Eng.*, 78, 272–280, 2007.
138. K. Duangmal, B. Saicheua, S. Sueeprasan: Roselle anthocyanins as a natural food colorant and improvement of its colour stability. AIC 2004 Color and Paints, Interim Meeting of the International Color Association, Proceedings, 155-158, 2004.
139. P. J. Tsai, H. P. Huang: Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in roselle. *Food Res. Int.*, 37, 313–318, 2004.
140. L. Manzocco, S. Calligaris, D. Mastrocola, M. C. Nicoli, C. R. Lerici: Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Tech.*, 11, 340 – 346, 2001.
141. P. Siddhuraju, K. Becker: The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chem.*, 101, 10–19, 2007.

Mirela Kopjar, dipl. ing.

ŽIVOTOPIS

Rođena je 24. prosinca 1976. godine u Varaždinu, Republika Hrvatska. Nakon završene osnovne škole upisala je srednju školu (Medicinska škola - farmaceutski tehničar) u Varaždinu na kojoj je maturirala 1995. godine s odličnim uspjehom. Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku upisala je 1996./97. akademske godine.

Diplomirala je 05. veljače 2002. godine kao prva iz generacije 1996./97. Tema diplomskog rada joj je bila "Utjecaj hidrokoloida na reološka i senzorna svojstva kašastog soka breskve".

U ožujku 2002. godine zasnovala je radni odnos u svojstvu znanstvenog novaka na Prehrambeno tehnološkom fakultetu u Osijeku, na znanstvenom projektu financiranom od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske "Razvoj procesa proizvodnje visokovrijednih proizvoda", na kojem je glavni istraživač prof. dr. sc. Vlasta Piližota. Iste godine izabrana je u istraživačko zvanje mlađeg asistenta na kolegiju *Tehnologija konzerviranja i prerade voća i povrća*. Poslijediplomski znanstveni studij Prehrambeno inženjerstvo upisala je na Prehrambeno-tehnološkom fakultetu u Osijeku akademske 2002./03. godine. Trenutno sudjeluje kao istraživač na hrvatsko-slovenskom projektu "Utjecaj trehaloze na zadržavanje spojeva arome u kaši jagode" (2006.-2007.). Od 1. siječnja 2007. sudjeluje kao istraživač na novom nacionalnom projektu „Razvoj procesa proizvodnje visokokvalitetne hrane“ (voditelj projekta, prof. dr. sc. Vlasta Piližota).

U sklopu CEEPUS programa boravila je mjesec dana na *Poljoprivrednom fakultetu* u Nitri, Republika Slovačka 2001. godine. Također, u sklopu CEEPUS programa boravila je u Ljubljani na *Biotehničkom fakultetu* u nekoliko navrata 2004. i 2005. godine, a 2005. boravila je i u Bratislavi na *Fakultetu za kemiju i prehrambenu tehnologiju*.

U toku dosadašnjeg rada sudjelovala je na jednom domaćem i dvanaest međunarodnih znanstvenih skupova. Objavila je jedanaest znanstvenih radova, od toga su dva rada u časopisu indeksiranom u tercijarnim publikacijama (a1), te devet znanstvenih radova u zbornicima radova s međunarodnih znanstvenih skupova (a3).

