



UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKE NAUKE

Primena tehnoloških postupaka spontane fermentacije i osmotske dehidracije za unapređenje nutritivnog profila, senzornih svojstava i održivosti kupusa

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:
Prof. dr Ljubinko Lević
Dr Žarko Kevrešan

Kandidat:
Biljana Cvetković, dipl. inž.

Novi Sad, 2014. godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Ljubinku Leviću na svesrdnoj pomoći tokom planiranja i realizacije ovog istraživanja.

Zahvaljujem se i mentoru dr Žarku Kevrešanu na stručnoj i prijateljskoj pomoći i entuzijazmu tokom pisanja ove doktorske disertacije.

Zahvalnost dugujem i docentu dr Aleksandri Tepić na posvećenosti i temeljnosti s kojom je pristupila oceni ove disertacije, kao i na dobronamernim sugestijama.

Veliko Hvala i dr Lati Pezo, na prijateljskoj i stručnoj pomoći, čoveku nepresušne energije koja pokreće i koji mi nije dozvolio da posustanem.

Zahvaljujem se i dr Jasni Mastilović, osobi koja me uvela u svet nauke i bila začetnik ovih istraživanja.

Takođe zahvalila bih se svim svojim dragim saradnicima bez kojih ne bih mogla ostvariti ove rezultate, a to su: služba logistike, saradnici sa odeljenja Hemije, Mikroanalitike, Mikrobiologije i Senzorike Laboratorije Naučnog instituta za prehrambene tehnologije, kao i kolegama sa katedre za Hemijsko inženjerstvo Tehnološkog fakulteta i Udruženju „Futoški kupus“.

Duboku zahvalnost dugujem svojoj porodici, roditeljima i bratu, za sve što su mi podarili, što su uvek bili uz mene i učinili me takvom kakva sada jesam.

I na kraju, Hvala mom suprugu Milanu na ljubavi, podršci i razumevanju i deci Dunji i Jovanu, koji su moja inspiracija, snaga i najveći podstrek.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal
TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija
VR

Ime i prezime autora: Biljana Cvetković
AU

Mentor: Dr Ljubinko Lević, redovni profesor; Univerzitet u
MN Novom Sadu, Tehnološki fakultet
Dr Žarko Kevrešan, Naučni saradnik, Univerzitet u
Novom Sadu

Naslov rada: Primena tehnoloških postupaka spontane fermentacije i
NR osmotske dehidracije za unapređenje nutritivnog
profila, senzornih svojstava i održivosti kupusa

Jezik publikacije: Srpski
JP

Jezik izvoda: srp. / eng.
JI

Zemlja publikovanja: Srbija
ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina
UGP

Godina: 2014
GO

Izdavač: Autorski reprint
IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
MA

Fizički opis rada: FO	6 poglavlja, 143 strana, 33 slike, 49 tabela, 255 literaturnih navoda
Naučna oblast: NO	Prehrambeno-biotehnoške nauke
Naučna disciplina: ND	Prehrambeno inženjerstvo
Predmetna odrednica, ključne reči: PO UDK	Kupus, fermentacija, osmotska dehidracija, senzorski kvalitet, nutritivni profil, održivost 635.34:[664.8.047.58:543.94(043.3) Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu
Čuva se: ČU Važna napomena: VN	Istraživanja u ovoj tezi finansirana su od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja-III 46001 (2011-2014) i TR 30155 (2011-2014)
Izvod: IZ	U ovom radu je obrađen postupak spontane fermentacije tradicionalnog proizvoda, fermentisanog kupusa u glavicama. U prvom delu urađena je karakterizacija domaće tradicionalne populacije <i>Futoški</i> u odnosu na uvozni hibrid <i>Bravo</i> . Na osnovu PCA analize i analize standardnih ocena SS fizičkih, hemijskih i senzorskih parametara odabrani su uzorci povoljni za proces fermentacije. Proces fermentacije je obavljen na temperaturama 16-18°C, 18-20°C i 20-20°C, i sa različitim koncentracijama soli od 1, 1,5 i 2 %. Analizirani su fizički, hemijski, mikrobiološki parametri i senzorske osobine kupusa tokom fermentacije. Metodom odzivne površinesa analizom varijanse (ANOVA) modela odziva za svaki od analiziranih karakteristika i objašnjeno je koji od parametara procesa temperatura, koncentracija soli i vreme trajanja procesa ima statistički značajan uticaj na formiranje matematičkih modela odziva, prikazanih u obliku polinoma drugog reda (SOP). Zaključeno je da <i>Futoški</i> kupus postiže brže završnu tačku fermentacije u odnosu na hibrid <i>Bravo</i> . Drugi korišćeni tehnološki postupak u ovom radu je osmotska dehidracija. Kupus je dehidriran u tri osmotska rastvora (vodeni rastvor natrijum hlorida i saharoze, kombinacija vodenog

rastvora natrijum hlorida i saharoze i melase i melasa šećerne repe) različitih koncentracija, na tri temperature (20°C, 35°C i 50°C) i pri tri vremena trajanja procesa (1, 3 i 5h). Mereni i računati odzivi procesa osmotske dehidracije bili su: sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije i indeks efikasnosti procesa. Rezultati ispitivanja pokazuju da povećanje tehnoloških parametara temperature i vremena procesa, kao i koncentracije osmotskih rastvora dovode do intenziviranja prenosa mase u procesu i povećanja vrednosti odzivnih parametara procesa. Takođe, zaključeno je da tokom osmotske dehidracije u melasi šećerne repe dolazi do obogaćivanja kupusa nutritivnim komponentama, naročito kalijumom. Treći segment ovog rada je analiza održivosti osmotski dehidriranog kupusa pakovanog u modifikovanoj atmosferi dve različite smeše gasova N₂ i CO₂. Analizom hemijskih, mikrobioloških i senzorskih svojstava zaključeno je da ovaj osmotski dehidriran kupus pakovan na navedeni način ima održivost od 90 dana.

Datum prihvatanja teme od strane 08.04.2013.

NN veća:

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

KO

Predsednik:

Dr Aleksandra Tepić, docent Tehnološki fakultet Novi Sad

Mentor:

Dr Ljubinko Lević, redovni profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad

Dr Žarko Kevrešan, naučni saradnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu

Član:

Dr Lato Pezo, naučni saradnik, Institut za opštu i fizičku hemiju Beograd

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY
KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number:
ANO

Identification number:
INO

Document type: Monograph documentation
DT

Type of record: Textual printed material
TR

Contents code: PhD thesis
CC

Author: Biljana Cvetković, Graduate Engineer
AU

Mentor: Dr Ljubinko Lević, Full Professor
Dr Žarko Kevrešan, Researcher associate
MN

Title: The application of technological processes of
spontaneous fermentation and osmotic
dehydration for improving the nutritional profile,
sensory characteristics and viability of cabbage
TI

Language of text: Serbian language-Latin
LT

Language of abstract: eng. / srp.
LA

Country of publication: Republic of Serbia
CP

Locality of publication: AP Vojvodina
LP

Publication year: 2014
PY

Publisher: Author's reprint
PU

Publication place: Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
PP

Physical description: 6 chapters, 143 pages, 33 figures, 49 tables, 255
references
PD

Scientific field: Food-biotechnical sciences
SF

Scientific discipline

Food Engineering

SD

Subject, Key words

Cabbage, Fermentation, Osmotic dehydration, Sensory quality, Nutritive profile, Viability
635.34:[664.8.047.58:543.94(043.3)]

SKW

UC

Holding data:

Library of the Faculty of Technology,
University of Novi Sad

HD

Note:

Research in this thesis was supported by
Ministry of Science, Education and
Technological development -III 46001 (2011-
2014) i TR 30155 (2011-2014)

N

Abstract:

AB

This paper describes the process of spontaneous fermentation of traditional product, fermented whole cabbage. In the first part characterization of the local traditional type *Futoški* cabbage in relation to imported hybrid *Bravo* was done. Based on the PCA analysis and analysis of the standard score SS physical, chemical and sensory parameters favorable samples for the process of fermentation were selected. The process of fermentation was carried out at three temperatures: 16-18°C, 18-20°C and 20-20°C, and with various concentrations of salt: 1, 1.5 and 2%. The physical, chemical and microbiological parameters, as well as sensory properties of cabbage during fermentation were analyzed. Response surface method with analysis of variance (ANOVA) model response for each of the analyzed characteristics was used and it was explained which of the process parameters (temperature, salt concentration and the duration of the process) had a statistically significant effect on the formation of mathematical models of response, presented in the form of a second order polynomial (SOP). It was concluded that *Futoški* cabbage faster achieved end point of fermentation as compared to a hybrid *Bravo*. Another technological method used in this investigation was the osmotic dehydration. Cabbage was dehydrated with three osmotic solutions (an aqueous solution of sodium chloride and sucrose; the combination of an aqueous solution of sodium chloride and sucrose with molasses; sugar beet molasses) of different concentrations, at three temperatures

(20°C, 35°C and 50°C) and at three times of the process duration (1, 3, and 5h). The measured and calculated responses of osmotic dehydration process were: dry matter content, water loss, solid gain and the index of efficiency of the process. Test results shown that increase of the technological parameters of temperature and time of process, as well as the concentration of osmotic solutions lead to the intensification of mass transfer in the process and increase values of response parameters of the process. Also, it was concluded that during osmotic dehydration in sugar beet molasses cabbage was enriched with nutritional components, especially potassium. The third segment of this investigation was to analyze the viability of osmotically dehydrated cabbage packaged in modified atmosphere, with two different mixtures of N₂ and CO₂. Analyzing chemical, microbiological and sensory properties it was concluded that the osmotically dehydrated cabbage packaged in this manner has the sustainability of 90 days.

Accepted on Senate on: 08.04.2013.

AS

Defended:

DE

Thesis Defend Board:

DB

President:

Dr Aleksandra Tepić, professor assistant, Faculty of Technology, University of Novi Sad

Mentor:

Dr Ljubinko Lević, full professor, Faculty of Technology, University of Novi Sad
Dr Žarko Kevrešan, researcher associate, Institute of Food Technology, University of Novi Sad

Member:

Dr Lato Pezo, researcher associate, Institute of General and Physical Chemistry, Belgrade

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPŠTI DEO	5
2.1 Kupus- <i>Brassica oleracea L var. capitata</i> , osobine i značaj u ishrani.....	5
2.2 Fermentacija kao tehnološki postupak	7
2.2.1 Mlečna fermentacija i mlečna kiselina kao vid konzervisanja proizvoda	9
2.3 Mlečna fermentacija kupusa- biološko konzervisanje	11
2.3.1 Faktori koji utiču na fermentaciju kupusa	14
2.3.2 Mikrobiološki profil fermentacije kupusa	15
2.3.3 Promene hemijskog sastava i nutritivnih osobina kupusa kao rezultat biofermentacije	18
2.4 Tehnološki postupak osmotske dehidracije.....	22
2.4.1. Melasa šećerne repe kao rastvor za osmotsku dehidraciju	23
2.4.2. Mehanizam osmotske dehidracije.....	24
2.4.3. Faktori koji utiču na proces osmotske dehidracije	28
2.5 Održivost proizvoda od voća i povrća.....	30
2.5.1 Pakovanje proizvoda u modifikovanoj atmosferi (MAP).....	32
3. EKSPERIMENTALNI DEO	33
3.1 Materijal	33
3.2 Metode.....	34
3.2.1 Proces fermentacije –biološki konzerviran kupus	34
3.2.2 Proces osmotske dehidracije.....	35
3.2.3 Pakovanje osmotski dehidriranog kupusa u modifikovanoj atmosferi.....	36
3.2.4 Hemijski sastav	36
3.2.5 Senzorska analiza	36
3.2.6 Instrumentalno merenje teksture svežeg i fermentisanog kupusa	41
3.2.7 Mikrobiološka analiza	41
3.2.8 Merenje pH vrednosti i temperature	42
3.2.9 Određivanje sadržaja šećera HPLC metodom	42
3.2.10 Određivanje sadržaja askorbinske kiseline HPLC metodom	42

3.2.11	Određivanje sadržaja organskih kiselina HPLC metodom.....	43
3.2.12	Određivanje sadržaja biogenih amina HPLC metodom	43
3.2.13	Instrumentalno određivanje površinske boje	44
3.2.14	Statistička analiza	45
3.2.15	Određivanje normalizovanih standardnih ocena (SS)	45
3.2.16	Metod odzivne površine- RSM - Response Surface Methodology	46
4.	REZULTATI I DISKUSIJA	50
4.1	Karakterizacija svežeg <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	50
4.1.1	Hemijske karakteristike svežeg <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	50
4.1.2	Fizičko-morfološke karakteristike <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	52
4.1.3	Senzorske osobine svežeg <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	52
4.1.4	Instrumentalna analiza teksture svežeg <i>Futoškog</i> kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	55
4.1.5	Standardne ocene za hemijske, fizičke i senzorske osobine <i>Futoškog</i> kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	56
4.1.6	Analiza glavnih komponenata za hemijske, fizičke i senzorske osobine <i>Futoškog</i> kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	56
4.2	Proces fermentacije <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	59
4.2.1	promena pH vrednosti tokom fermentacije	59
4.2.2	Mikrobiološki parametri fermentacije <i>Futoškog</i> belog kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	63
4.2.3	Sadržaj organskih kiselina kao parametara procesa fermentacije	73
4.2.5	Senzorska ocena fermentisanog <i>Futoškog</i> kupusa i hibrida <i>Bravo</i>	97
4.3	Proces osmotske dehidratacije kupusa.....	102
4.3.1	Kinetika osmotske dehidratacije.....	102
4.3.2	Promena sadržaja nutritivnih komponenata tokom procesa osmotske dehidratacije kupusa.....	108
4.3.3	Senzorska ocena osmotski dehidriranog kupusa, <i>Futoški</i> i hibrid <i>Bravo</i> tokom skladištenja	111
4.3.4	Promena hemijskih i mikrobioloških parametara osmotski dehidriranog kupusa tokom skladištenja	119
5.	ZAKLJUČCI	125
6.	SPISAK REFERENCI:.....	129

1. UVOD

Prema podacima Svetske Zdravstvene Organizacije, nizak unos voća i povrća spada u prvih deset faktora rizika koji doprinose povećanoj smrtnosti koja je prisutna u današnje vreme. Voće i povrće, kao deo svakodnevne ishrane, može da pomogne u sprečavanju nezaraznih bolesti (NCD-noncommunicable diseases). Štaviše, ishrana obogaćena različitim vrstama voća i povrća u velikoj meri obezbeđuje neophodan dnevni unos mikronutrijenata, dijetetskih vlakana i mnoštva esencijalnih nenutritivnih komponenata što ih čini nezamenljivim i neizostavnim delom svakodnevne ljudske ishrane. Mnogi navodi ističu da povrće, naročito iz grupe Krstašica kojima pripada kupus, ima pogodan uticaj na zdravlje ljudi. U prehrambenoj industriji oduvek je postojala potreba za voćem i povrćem visokog kvaliteta i sa produženom održivošću, obzirom na njihov sezonski karakter pristizanja. Za uspešnu proizvodnju kvalitetnih proizvoda povrća neophodno je poznavanje njihovog hemijskog sastava, nutritivnih svojstava kao i procesa biohemijskih i mikrobioloških promena za vreme njihove primene i tehnološke obrade. U povrću su nađene mnoge nutritivne materije kao što je npr. vitamin C, karotenoidi, hlorofil, flavonoidi, dijetetska vlakna i minerali uključujući hemijske elemente K, Mg i Se, koji su pokazale zaštitnu ulogu u sprečavanju malignih bolesti, dijabetesa i hipertenzije. Pozitivni uticaj kupusa na zdravlje ljudi je široko poznat, ipak kupus nije dovoljno zastupljen u ishrani. Studije su pokazale da je poželjno da se kupus konzumira 2-3 puta nedeljno. Kupus može da se koristi u svežem stanju kao salata, termički obrađen ili kao fermentisan. Fermentacijom se obogaćuju funkcionalna svojstva kupusa, jer su u fermentisanom proizvodu prisutni živi mikroorganizmi, bakterije mlečne kiseline koje takođe dokazano pozitivno utiču na zdravlje ljudi. Fermentacijom se, osim funkcionalnih svojstava, kupusu menjaju i senzorna svojstva, hemijski sastav, a fermentacija je jedan od načina za produženje održivosti kupusa. Pojam fermentacija potiče od latinske reči “fevere” koja označava vrenje. Ova tehnologija se koristi već hiljadama godina. Danas postoji veliki broj fermentisanih proizvoda koji se proizvode u domaćinstvima, malim i srednjim preduzećima i velikim kompanijama. Uprošlosti se fermentacija bazirala na dugogodišnjem iskustvu prerađivača hrane, tek odnedavno se pristupilo naučnim istraživanjima I

boljem razumevanju fermentacionih procesa uz imperativ kvaliteta i bezbednosti proizvoda. Međutim, u današnje vreme domaćinstvima i malim prerađivačima naučne informacije su i dalje slabo dostupne. Još od vremena Luja Pastera se zna da je higijena veoma važan segment dobro vođenog procesa fermentacije. Spontana fermentacija kupusa se već nekoliko vekova na našim prostorima tradicionalno koristi kao vid konzervisanja. *Futoški* kupus svež i fermentisan u glavicama poseduje zaštićenu oznaku Imena porekla. Fermentisani kupus je popularna hrana širom Evrope, SAD i Azije. "Sauerkraut" je termin nemačkog govornog područja i odnosi se na sečeni fermentisani kupus. Na području Balkana i Srbije posebna pažnja se poklanja tradicionalnom načinu fermentisanja kupusa u glavicama. Mnoga istraživanja i studije su objavljene o sečenom fermentisanom kupusu, uključujući parametre procesa, bezbednost i upotrebu starter kultura za dobijanje proizvoda željenog kvaliteta. Međutim, isto se ne može reći za kupus fermentisan u glavicama. Osnovna sirovina za odvijanje fermentacije pored kupusa je natrijum hlorid. Dodavanje soli je kritična kontrolna tačka tokom fermentacije, jer od toga zavisi mikrobiološka slika i senzorski profil dobijenog proizvoda. Količina soli u fermentisanom kupusu se kreće od 2-4%, ali sve su veći zahtevi potrošača za hranom sa nižim unosom soli zbog sve većeg broja ljudi sa tegobama izazvanim hipertenzijom. Fermentacija je energetski efikasan tehnološki postupak, jer ne zahteva nikakvu termičku pripremu pre fermentacije. Nakon procesa, pasterizacija može da se sprovede, ali to nije i neophodna operacija. S tim u vezi fermentacija je proces značajan za zemlje u razvoju koje mogu da zaštite svoje tradicionalne proizvode i potencijalno plasiraju na svetsko tržište.

Još jedan tehnološki postupak značajan smislu energetske uštede je osmotska dehidracija. Prednost postupaka fermentacije i osmotske dehidracije je i to što spadaju u blage tehnološke tretmane, čime se izbegava gubitak hranljivih materija neophodnih za funkcionisanje ljudskog organizma. Osnovni cilj dehidracije proizvoda je smanjenje procenta vode, čime se povećava održivost proizvoda. Osmotski dehidrirano voće i povrće je idealna i vrlo kvalitetna sirovina za razne grane prehrambene industrije—meko je i sočno, sa dobrom sposobnošću rehidracije. Osmotska dehidracija je postupak delimičnog uklanjanja vode iz voća i povrća potapanjem istih u različite koncentrovane (hipertonične) rastvore šećera i/ili soli. Uklanjanje vode se odvija kroz polupropustljivu membranu koju čine ćelije tretiranog biljnog materijala. Istovremeno sa osmotskim povlačenjem vode iz tkiva odvija se i prenos rastvorenih supstanci iz osmotskog rastvora u tretirano tkivo povrća. Povrće dehidrirano u osmotskom rastvoru saharoze i natrijum

hlorida, obogaćuje se tim komponentama što se sa nutritivnog aspekta smatra nepeželjnim. Melasa šećerne repe predstavlja interesantnu alternativu za osmotski tretman voća i povrća zbog svojih nutritivnih osobina.

Melasa je nusprodukt tehnologije šećera. Ona je polikomponentni sistem visokog sadržaja suve materije (preko 80%), sadrži oko 51% saharoze, 1% rafinoze, po 0,25% glukoze i fruktoze, 5% belančevina, 6% betaina, 1,5% nukleozida, purinske i pirimidinske baze, organske kiseline, pektine. Pored navedenih komponenata, melasa šećerne repe predstavlja bogat izvor brojnih mikronutritijenata (minerala, vitamina), stoga melasa šećerne repe kao hipertonični rastvor daje mogućnost obogaćivanja osmotski dehidriranog povrća poželjnim nutritivnim komponentama. Voće i povrće osmotski dehidrirano u melasi šećerne repe značajno dobija na kvalitetu, kako sa nutritivnog, tako i sa senzorskog aspekta, sa vrlo dobrim stepenom rehidracije. U finalnim proizvodima znatno je povećan sadržaj kalijuma i magnezijuma, uz smanjenje sadržaja vode do granica pogodnih za njihovo konzervisanje. Nakon osmotskog procesa, upotrebljena melasa može da se koristi u fermentativnoj industriji za proizvodnju etanola.

Ciljevi ove doktorske disertacije su:

- Karakterizacija tradicionalne populacije *Futoškog* kupusa u odnosu na uvozni hibrid *Bravo*, gajenih u sličnim agroekološkim uslovima u pogledu pogodnosti za proces fermentacije. Analizirane su njihove hemijske (sadržaj ukupne i rastvorljive suve materije, sadržaj šećera, proteina, celuloze, mineralnih materija) fizičko-morfološke (masa, prečnik i visina glavice, dužina kočana) senzorske (senzorska svojstva i instrumentalno merenje teksture) i nutritivne karakteristike (sadržaj L-askorbinske kiseline, sadržaj organskih kiselina).
- Praćenje procesa fermentacije kupusa u glavicama u smislu hemijskih, mikrobioloških, nutritivnih i senzorskih promena koje obuhvataju promenu pH vrednosti, promenusadržaja mlečne, sirćetne, oksalne, jabučne, limunske, ćilibarne i mravlje kiseline, ukupnog broja mikroorganizama (UBM), broja bakterija mlečne kiseline (BMK), kvascei plesni (KP), *Enterobacteriaceae* (Enth), zatim promenu sadržaja L-askorbinske kiseline, sadržaja biogenih amina i poliamina.

- Analiza uticajaprocenih parametara: temperature, koncentracije soli i vrste kupusa i njihova optimizacijasa ciljem dobijanja kvalitetnog proizvoda sa nižim sadržajem soli i analiza održivosti.
- Praćenje kinetike procesa osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* uz mogućnost primene melase šećerne repe kao hipertoničnog rastvora, umesto do sada korišćernih rastvora saharoze. Takođe, cilj je da se upored uticaj obogaćenog rastvora saharoze i melase šećerne repe na kvalitet osmotski dehidriranog kupusa, sa aspekta nutritivne vrednosti kao i senzorski kvalitet koji je ključan kriterijum za prihvatanje finalnog proizvoda od strane potrošača.
- Ispitivanje uticaja različitih procesnih parametara (vremena imerzije, koncentracije osmotskog rastvora,temperature tretmana) na kinetiku procesa osmotske dehidracije kao i na nutritivna i senzorska svojstva osmotski dehidriranog kupusa.
- Analiza održivosti osmotski dehidriranog kupusa upakovanog u modifikovanoj atmosferi smeše gasova CO₂:N₂ u odnosu 40:60% i 20:80%, praćenjem njegovih senzorskih, hemijskih i mikrobioloških parametara.

2. OPŠTI DEO

2.1 Kupus (*Brassica oleracea L var. capitata*), osobine i značaj u ishrani

Povrće zauzima značajan segment u ishrani i veoma je korisno za održavanje zdravlja ljudi i prevenciju bolesti. Povrće sadrži nutijente koji učestvuju u izgradnji i regeneraciji ljudskog tela, zatim, pomaže u očuvanju alkalnih rezervi u organizmu. Povrće se prvenstveno ceni zbog sadržaja vitamina i minerala, ugljenih hidrata i konzumira se u različitim oblicima, kao jestivi delovi korena, stabla, listova, ploda i semena. Svaki od tih delova biljke ima značajnu ulogu u ishrani ljudi (Robinson 1987; Hanif *et al.* 2006). U poslednjih 20 godina brojne epidemiološke studije pokazale su da je formiranje tumora i pojava kardiovaskularnih oboljenja obrnuto proporcionalna sa unosom voća i povrća u ishrani ljudi (Genkinger *et al.* 2004; Nagura *et al.* 2009). Grupa povrća koja je posebno pokazala efekte na ljudsko zdravlje u prevenciji ovih bolesti je grupa iz familije *Brassicaceae* (*Cruciferae*) tzv. krstašice. Fam. *Brassicaceae* je velika grupa, sadrži oko 3000 vrsta u 350 rodova, uključujući nekoliko vrsta jestivih biljaka koje se još nazivaju i “kupusnjače” (Velasco *et al.* 2010). U sveobuhvatnoj studiji Verhoeven i sar. (1996) pokušalo se doći do epidemioloških dokaza o povezanosti povrća iz porodice krstašica i kancera. U okviru navedenog istraživanja pet od sedam sprovedenih studija je pokazalo da postoji obrnuto srazmerni odnos između unošenja bar jedne krstašice ishranom sa rizikom oboljevanja od raka. Po navodima pomenutih autora, najjači dokazi o korisnosti krstašica u borbi protiv raka otkriveni su kod kancera respiratornih puteva i digestivnog trakta, a manje uspeha je postignuto kod kancera koji su hormonski uslovljeni (Verhoeven *et al.* 1996). Efekti zaštite kod krstašica se pripisuju prisustvu vitamina C, tokoferola, beta karotena i vlakana (Prior & Cao 2000), ali i fenolnih jedinjenja, kao što su flavonoidi, izoflavon, flavoni, antocijani, katehin i izokatehin (Wang *et al.* 1996; Singh *et al.* 2006). Značajne količine glukozinolata su nađene u skoro svim krstašicama (McGregor *et al.* 1983) i to je ono što ih izdvaja od ostalih vrsta povrća (van Poppel *et al.* 1999; McNaughton & Marks 2003). Glukozinolati su odgovorni za karakterističan ljutkast i opor ukus krstašica (Mithen 2001). Prisustvo glukozinolata omogućava odbranu od biljnih

bolesti i štetočina (Cartea & Velasco 2008). Nakon mehaničkog oštećenja tkiva biljke, infekcije ili napada štetočina, glukozinolati u ćelijama biljaka bivaju izloženi degradativnim enzimima, tzv. mirozinazama (Grubb & Abel 2006). Produkti razlaganja glukozinolata pokrivaju široku biološku aktivnost, od odbrane biljaka od štetočina i bolesti pa do prevencije kancera kod ljudi (Nestle 1997; Sivakumar *et al.* 2007).

Najveća i najšire korišćena grupa krstašica je iz roda *Brassica*, koja obuhvata kupus (beli i crveni kupus), kelj pupčar, brokoli, karfiol, rotkva, keleraba, kelj, kineski kupus, kineski kelj. Kupus (*Brassica oleracea var. capitata*) je dugogodišnja, kultivisana, zeljasta biljka koja predstavlja važno povrće u ishrani. Nastala je selekcijom divljeg kupusa u dugom vremenskom razdoblju. U Grčku je dospao u 4. veku p.n.e. Pre nego što je korišćen kao hrana kupus se cenio u medicini u lečenju glavobolja, gihta, proлива i peptičkog ulkusa. Mnoga istraživanja usmerena su na korisne fitohemikalije u kupusu, i to indol-3-carbinol (I3C) i sulforafan. Pomenuta jedinjenja aktiviraju i stabilizuju antioksidativne i mehanizme detoksikacije koji razlažu i eliminišu kancerogene supstance (Brooks *et al.* 2001). Sadrži i niz drugih vitamina, u manjim količinama, ali korisnih za organizam, kao što su: vitamini A, B1, B2, PP, B6, B12, P, K i vitamin U, koji je 1949 godine izolovao naučnik Cheney, kao preventivu od pojave čira na želucu, a zove se još i *brasicin* (Cheney 1950; Carvalho *et al.* 2011). Svež sok od kupusa može da se koristi u dijetama za redukciju telesne težine, odvojeno ili u kombinaciji sa drugim povrćem kao što je šargarepa, celer (Greenly 2005) zatim kao alternativne terapije za obolele od raka (Maritess *et al.* 2005). Takođe, beli kupus, *Brassica oleracea var. capitata* bogat je fitohemikalijama uključujući fenolna jedinjenja (Kusznierewicz *et al.* 2008), karotenoide (Nilsson *et al.* 2006) i glukozinolate (Song & Thornalley 2007). Kupus pripada grupi povrća bogatih vitaminom C (Singh *et al.* 2007) i sa antioksidativnim potencijalom (Nilsson *et al.* 2006; Kusznierewicz *et al.* 2008; Šamec *et al.* 2011). Eterična ulja svežeg kupusa imaju baktericidno dejstvo, pored toga smanjuju sadržaj holesterola u krvi, pa je kupus dobra hrana za ljude sa povećanim holesterolom u krvi kao i povišenim krvnim pritiskom (Suido *et al.* 2002; Nguyen *et al.* 2007). Osnovni sastojci belog kupusa su ugljeni hidrati, zauzimajući skoro 90% suve materije, gde jednu trećinu čine dijetetska vlakna, a dve trećine ugljeni hidrati niske molekulske mase. U ugljene hidrate svežeg kupusa ubrajaju se niz šećera, skrob, celuloza i hemiceluloza (Wennberg *et al.* 2006).

Značaj kupusakao namirnice je veliki. Kod ove povrtarske biljke u ishrani se koristi glavica. Kupus je dvogodišnja biljka i u toku vegetacije prelazi sledeće faze rasta: u prvoj godini klijanje i nicanje, rast listova (faza rasada), intenzivno obrazovanje listova i obrazovanje glavice. Intenzivni rast listova nastupa 20-40 dana posle sadnje, što zavisi od sorte i uslova uspevanja. Početak formiranja glavice je rezultat rasta vršnog pupoljka, a pri usporenom rastu listova. U periodu kada glavica dostiže prečnik od 7-8 cm, dobija se karakterističan oblik za sortu. U daljem toku vegetacije dolazi do brojnog povećanja listova unutar glavice, koji se međusobno prekrivaju, uz nakupljanje hranljivih materija. Vreme formiranja glavice i dostizanja tehnološke zrelosti zavisi od varijeteta, sorte i uslova uspevanja (temperatura, vlažnost, ishrana). Prema dužini vegetacije razlikuju se rane (111-115 dana), srednje rane (115-125) i kasne sorte (preko 125 dana). U drugoj godini rasta sledeće su faze: obrazovanje cvasti, cvetanje, plodonošenje i sazrevanje semena. Danas je poznat veliki broj sorti za različite namene korišćenja. Od domaćih sorti ističe se veoma kvalitetna stara sorta raširena u Vojvodini-*Futoški*, odličnog kvaliteta za fermentaciju, zatim *Srpski melez*, kao kasna sorta za fermentaciju u centralnoj Srbiji. Osim domaćih sorti, hibridi kupusa se takođe široko gaje zbog ujednačenosti glavica, boljeg prinosa i dobrih mogućnosti čuvanja (Lazić *et al.* 1998). Poželjne osobine su da je glavica kupusarelativno zbijena, slatkog ukusa, zdrava, po mogućnosti mekših listova, različite mase, ali karakteristične za određenu sortu ili hibrid. Od navedenih osobina zavisi da li će kupus da se koristi u svežem stanju ili za preradu (Červenski *et al.* 2006). Kupus može da se koristi tokom cele godine u svežoj potrošnji, kao ribani kupus u salati, ili kao termički obrađen na razne načine. Kao svež se takođe može da se koristi u zimskom periodu, pošto se može skladištiti u dužem vremenskom periodu u kontrolisanim uslovima. Međutim, zimi se najčešće konzumira kao fermentisani, bilo da je ribanac, cela glavica ili samo list (Niketić 1988; Tolonen *et al.* 2004).

2.2 Fermentacija kao tehnološki postupak

Fermentacija je jedna od najstarijih primenjenih tehnologija tokom istorije čovečanstva. Poreklo fermentacione tehnologije na teritoriji severoistočne Azije povezuje se sa periodom primitivnog grnčarskog doba (8000-3000 p.n.e) i poljoprivredom iz doba Neolita (Paul Ross *et al.* 2002). Fermentacija kao način konzervisanja hrane razvijala se širom sveta. Svaka kultura napravila je proizvode karakterističnog ukusa i arome, prilagođene za sopstveno podneblje i navike u ishrani

(Jagannath *et al.* 2012). Danas, svedoci smo da nastupa “era funkcionalne hrane” (Menrad 2003; Siro *et al.* 2008). Hrana okrenuta prevenciji i zaštiti zdravlja i dijetetski proizvodi postaju glavna odrednica potrošača pri odabiru hrane. Fermentaciona tehnologija se tokom vremena prilagođavala tim novim socijalnim zahtevima. Tokom ranijeg perioda istorije fermentacija se većim delom koristila za konzerviranje hrane i njeno obogaćivanje novim ukusima. Dvadeset prvi vek može da se nazove erom hrane prilagođene ličnim potrebama pojedinca zajedno sa zahtevima vezanim za zdravlje, tako da fermentacija nailazi na nove izazove savremenog tržišta (Mattila-Sandholm *et al.* 2002; Leroy & De Vuyst 2004). Mnogi tradicionalni fermentisani proizvodi postaju sve interesantnijizbog njihovog preventivnog ili lekovitog dejstva na ljudski organizam. Naučni dokazi za njihovo fiziološko dejstvo se umnožavaju i poboljšanje ovakvih proizvoda tehnološki se postiže korišćenjem moderne biotehnologije i genetskog inženjeringa (Lee 2004). Korišćenje mikroorganizama za obradu i produžavanje održivosti hrane je veoma stara tehnika. Kvasci su bili prvi mikroorganizmi korišćeni u proizvodnji vina, piva, kao i za previranje testa. Ove tehike su poznate 4000-5000 godina. Tokom ovih procesa formiraju se mehurići gasa koji nastaju oslobađanjem ugljen-dioksida. Priroda fermentacije nije razjašnjena sve do druge polovine 19. veka, kada je Luj Paster otkrio povezanost između fermentacije i mikroorganizama (Pasteur 1879; Gal 2008). Paster je takođe pokazao da je prava fermentacija moguća samo u odsustvu slobodnog kiseonika. Taj život bez vazduha nazvao je anaerobioza. Zapravo, definicija fermentacije je razlaganje ugljenih hidrata i drugih organskih supstrata, bez upotrebe kiseonika kao akceptora elektrona, i u tom slučaju organski supstrat,obično ugljeni hidrati imaju ulogu akceptora elektrona (Adams 1990). Međutim, svakodnevna upotreba reči fermentacija prevazilazi okvire stroge biohemijske definicije. U širem smislu, fermentacija je proces u kojem mikroorganizmi preko delovanja sopstvenih enzima, izazivaju hemijske promene u organskim supstratima. Termin “fermentisana hrana” koristi se da se opiše posebna klasa namirnica koja sadrži kompleks ugljenih hidrata, priteina, masti, itd. i koja prolazi simultanu modifikaciju kroz dejstvo mikroorganizama i enzima. Reakcije koje uključuju ugljene hidrate iz supstrata nazivaju se “fermentativne”, kod proteinskih supstrata reakcije su proteolitičke, dok se kod masti su to lipolitičke reakcije(Li 2003). Tokom fermentaciji u prirodnim spontanim uslovima, hrana uvek prolazi različite stepene svake od pomenutih promena. Da li će te promene biti fermentativne, proteolitičke ili lipolitičke zavisiće od prirode hrane, ali i od uticaja spoljne sredine na mikroorganizame, njihov rast i razvoj (Li 2003). Osnovni koncept fermentacije je da

ubrza rast i dominaciju poželjnih mikroorganizama u sirovom biljnom i životinjskom materijalu. Poželjni mikroorganizmi fermentišu šećer u laktat, acetat i etanol, čime se dobijaju proizvodi sa izmenjenim karakteristikama (Adams *et al.* 2001). Dodatak soli i inokulacija definisanih kultura mikroorganizama predstavljaju jedan od načina za kontrolisanje rasta mikroorganizama tokom fermentacije (Li 2003). Po navodima Steinkraus, 2002., fermentisana hrana je supstrat obrađen od strane poželjnih mikroorganizama i njihovih enzima, posebno amilaze, proteaze i lipaze. Navedeni enzimi hidrolizuju polisaharide, proteine i masti, čime nastaje netoksični proizvod ukusa, mirisa i teksturnih osobina poželjnih iz ugla potrošača. Fermentacijom se ostvaruje značajan uticaj na preradu hrane, a to se ogleda u sledećem (Steinkraus 2002):

- Obogaćivanje asortimana proizvoda kroz razvoj novih ukusa, arome i teksture,
- Očuvanje i produžena održivost hrane preko mlečne, alkoholne i acetatne fermentacije.
- Obogaćivanje hrane biološki sa vitaminima, proteinima, esencijalnim amino kiselinama i masnim kiselinama.
- Detoksikacija tokom fermentacionog procesa i,
- Skraćivanje vremena kuvanja, pripreme hrane i ušteda u energiji.

2.2.1 Mlečna fermentacija i mlečna kiselina kao vid konzervisanja proizvoda

Konzumiranje fermentisane hrane i živih mlečnokiselih bakterija je deo uobičajene ishrane ljudi kroz dugo istorijsko razdoblje (Paul Ross *et al.* 2002; Hui *et al.* 2003b; Prajapati & Nair 2003; Steinkraus *et al.* 2004). Arheološki nalazi ukazuju da su se ove tehnike koristile još u praistorijsko vreme. Mlečna fermentacija, tokom istorije često je bila najsigurniji način očuvanja hrane, pre industrijske revolucije mlečna fermentacija je primenjivana i u Evropi koliko i u Africi i Aziji. Stoga je vrlo verovatno da je ljudski gastrointestinalni trakt evoluirao prilagodivši se na manje ili više svakodnevno unošenje bakterija mlečne kiseline. U mnogim industrijskim zemljama taj trend je prekinut tokom 20. veka, što je možda dovelo do problema sa gastrointestinalnim traktom kao i do imunoloških poremećaja kod savremenog čoveka (Molin 2008). Zahtev potrošača za minimalno prerađenom, visoko nutritivno vrednom hranom je u porastu (Allende *et al.* 2006). Mlečna fermentacija predstavlja jednostavan način kako se primenom biotehnologije može postiću održanje i/ili unapređenje bezbednosti, nutritivnih, senzorskih osobina i održivosti voća i povrća (Buckenhüskes *et al.* 1997; Steinkraus 1997;

Karovičová & Kohajdová 2003; Demir *et al.* 2006). Kako pokazuje pregled literature poslednjih desetak godina, kombinacija ove drevne tehnologije sa sadašnjim dostignućima biotehnologije uz razvoj starter kultura dovodi do bolje kontrole i ubrzavanja procesa fermentacije (Špička *et al.* 2002; McFeeters 2004; Breidt *et al.* 2007; Beganović *et al.* 2011; Beganović *et al.* 2014).

Bakterije mlečne kiseline (BMK) su grupa Gram-pozitivnih bakterija koja obuhvata nesporogene koke i štapičaste bakterije sposobne da sintetišu mlečnu kiselinu iz ugljenih hidrata. Rodovi mikroorganizama koji se najčešće pojavljuju u tradicionalnim fermentisanim proizvodima su: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weisella*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Lactococcus*, i *Streptococcus thermophilus* (Rattanachaikunsopon & Phumkhachorn 2010). Uprkos razvijenoj proizvođačkoj praksi i utemeljenim procedurama kontrole tokom proizvodnje kao što je HACCP svedoci smo da su oboljenja izazvana mikrobiološki nebezbednom hranom u porastu. To sve dovodi do većeg interesovanja za BMK koje se nalaze u fermentisanim proizvodima. Bakterije mlečne kiseline predstavljaju grupu mikroorganizama sa preko 100 vrsta i podvrsta. Na osnovu načina fermentacije šećera, mogu se podeliti u dve grupe i to na homofermentativne vrste (koje prevode šećer pretežno u mlečnu kiselinu) i na heterofermentativne (koje konvertuju šećere u mlečnu kiselinu, sirćetnu kiselinu, etanol i ugljen-dioksid). Obzirom da je glavni katabolit mlečna kiselina BMK odgovara kisela sredina za rast i razvoj (pH 5,5-6,5) (Giraffa *et al.* 2010). Korisni uticaj BMK na zdravlje ljudi je višestruk (Naruszewicz *et al.* 2002; Leroy & De Vuyst 2004; Rahman 2007), nađeno je da *Lactobacillus plantarum* ima uticaj na smanjenje rizika od kardiovaskularnih oboljenja (Pereira *et al.* 2003). U studiji Bukowska *et al.* (1998) pokazano je da je došlo do pada koncentracije holesterola male gustine (LDL) i fibrinogena u krvi ispitanika nakon konzumacije *Lactobacillus plantarum* u voćnom soku (Bukowska *et al.* 1998). Nekoliko metabolita koje BMK sintetišu imaju antimikrobni efekat, a to su organske kiseline, masne kiseline, vodonik peroksid i diacetil (Holzapfel *et al.* 1995; Ouwehand 1998). Ipak se najviše pažnje poklanja proteinskim supstancama koje sintetišu ovi mikroorganizmi, a nazivaju se bakteriocini (Tolonen *et al.* 2004; De Vuyst & Leroy 2007; Settanni & Corsetti 2008). Bakteriocini inhibiraju rast patogenih mikroorganizama kao što su *Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Bacillus spp.* i *Enterococcus spp.*, čime pospešuju održivost proizvoda (Soomro *et al.* 2002; Gálvez *et al.* 2008; Bourdichon *et al.* 2012).

2.2.1.1 Mlečna kiselina

Mlečna kiselina je organska kiselina koja se široko primenjuje u industriji (E270) (Pravilnik, Sl. glasnik RS, 63/2013). Ona se još naziva i hidroksi kiselina (2-hidroksipropionska, $\text{CH}_3\text{CHOCCOOH}$), koristi se za acidifikaciju, za korekciju ukusa, kao puffer i najčešće kao konzervans (Valli *et al.* 2006). Pored toga, mlečna kiselina se koristi i u farmaceutskoj industriji, kožarstvu i tekstilnoj industriji kao hemijski agens (Couto & Sanromán 2006). Mlečna kiselina ne nalazi se prirodno u hrani i sintetiše tokom fermentacije najčešće povrća kao što je kupus i masline, ali i kod sireva i nekih vrsta mesa (Barbosa-Cánovas 2003). Mlečna kiselina se dodaje proizvodima da bi se zakiselili, poboljšao im se ukus i aroma i zbog inhibitorskog dejstva na rast mikroorganizama. Mlečna kiselina se javlja u dva optička izomera: D(-) mlečna kiselina i L(+) mlečna kiselina, od čega se L(+) mlečna kiselina više primenjuje tokom prerade hrane. Ova L(+) forma mlečne kiseline je prirodno zastupljena u ljudskom organizmu preko enzima L- laktat-dehidrogenaze (Couto & Sanromán 2006). Veće doze D(-) izomera su štetne za ljudsko zdravlje, posebno za novorođenčad (Zhang *et al.* 2007). Inhibitorska sposobnost mlečne kiseline prema mikroorganizmima takođe je stereospecifična. Naprimera, *E. Coli* je osetljiva na L(+) mlečnu kiselinu, dok je *Listeria monocitogenes* inhibirana od strane D(-) mlečne kiseline (Gravesen *et al.* 2004). Mlečna kiselina je glavni produkt fermentacije ugljenih hidrata (Tormo & Izco 2004). Može da se proizvodi i komercijalno hemijskom sintezom i fermentacijom. Natrijumova so prirodne L(+) mlečne kiseline, natrijum laktat se normalno nalazi u sastavu mišićnog tkiva (Choi & Chin 2003).

2.3 Mlečna fermentacija kupusa- biološko konzervisanje

U grupu biološki konzervisanog povrća svrstani su svi proizvodi koji se isključivo ili delimično konzervišu biološkim putem-mlečnom fermentacijom. Najvažniji proizvodi iz ove grupe su: fermentisani kupus, fermentisani krastavci, fermentisane masline i paprika (Niketić 1988; Gardner *et al.* 2001). "Sauerkraut" je termin nemačkog govornog područja i odnosi se na sečeni fermentisani kupus (Pederson 1931; Lu *et al.* 2003; Plengvidhya *et al.* 2007; Jevšnik *et al.* 2009). Fermentisani kupus je popularna hrana širom Evrope i SAD. U početku celi i sečeni listovi kupusa su konzervisani tako što su prelivani kiselim vinom ili sirćetom, kiselim sokom od grožđa i drugog voća. Kada su ti nalivi zamenjeni dodavanjem soli i spontanom fermentacijom,

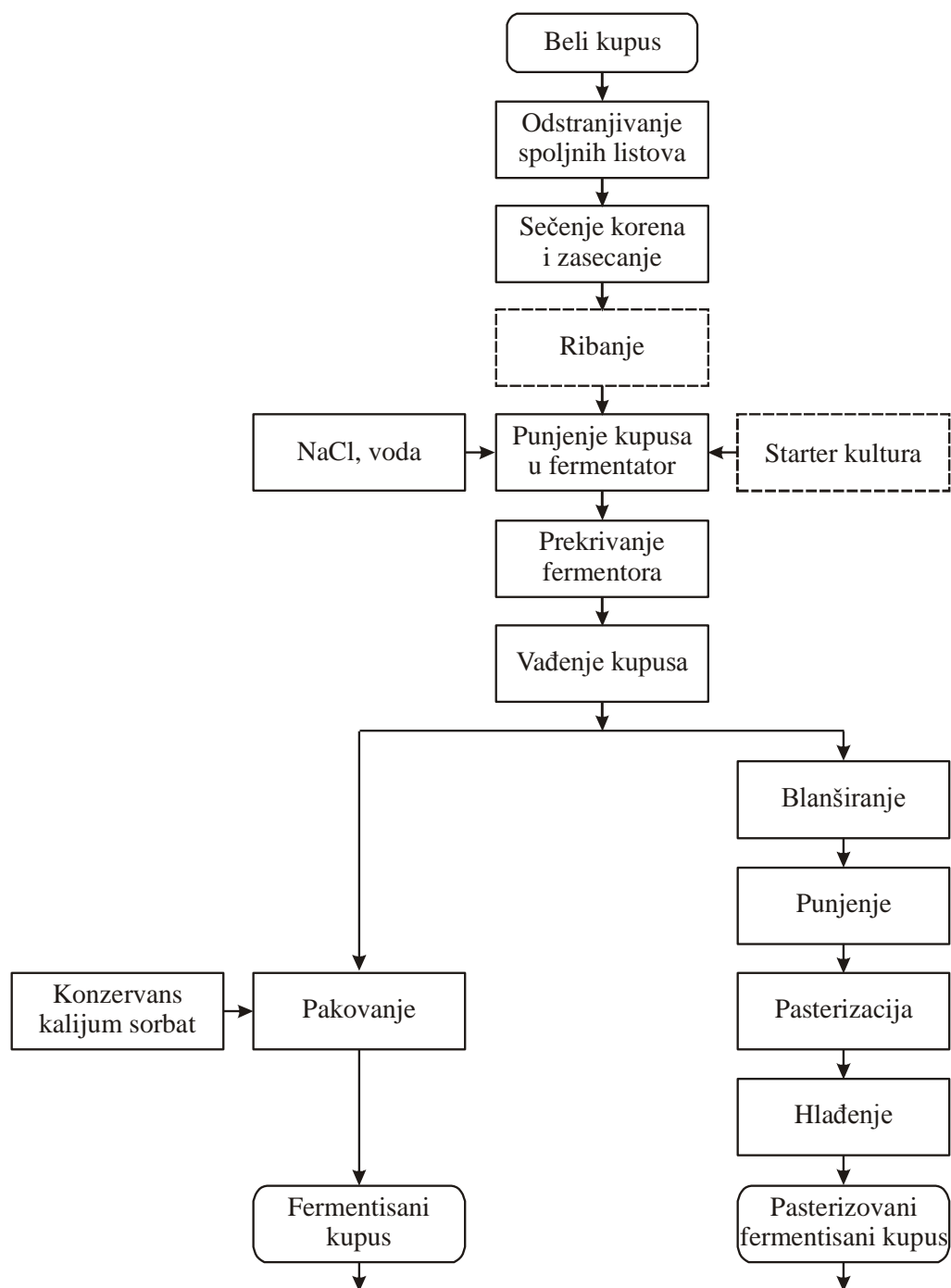
nije poznato. Vaughn (1982), pretpostavlja da je ovaj metod razvijen između 1550-1750 godine (Vaughn 1982). Važna godina za istoriju fermentisanog kupusa je 1775, kada je Kapetan Džejms Kuk nagrađen Velikom medaljom za svoje zapažanje i zaključke o fermentisanom kupusu koji je spasavao posadu na njegovim brodovima od skorbuta, bolesti koja je tada smatrana "kugom" na moru, jer su moreplovci na dugim putovanjima patili od nedostatka vitamina C u ishrani (Holzapfel *et al.* 2003).

Rezultati Evropskog istraživačkog programa "COST 91" objavljeni 1990. godine, pokazuju da se u Evropi komercijalno konzervirane mlečnom kiselinom oko 21 različita vrsta povrća. Najviše zastupljene su fermentisane masline sa 510 000 tona godišnje, zatim sledi fermentisani kupus sa 210 000 tona i na kraju krastavci sa 45 000 tona godišnje (Buckenhüskes *et al.* 1997). Izvan Evrope kupus se fermentiše i u Americi na sličan način, a u Koreji, Kini i drugim dalekim istočnim zemljama, proizvodi se Azijski "Kimchi"-Kimči, proizvod od fermentisanog kineskog kupusa (Lee *et al.* 2004; Cho *et al.* 2006; Yang & Chang 2010; Jung *et al.* 2011).

U današnje vreme, fermentisani kupus se proizvodi širom Evrope, pa i kod nas u Srbiji, u malim i srednjim preduzećima. Shodno tome, proizvodni postupci se razlikuju od preduzeća do preduzeća, međutim, osnovni principi su veoma slični i mogu se videti na tehnološkoj šemi proizvodnje fermentisanog kupusa (Slika 2.1.) (Niketić 1988). Kupus može da se fermentiše kao sečeni ili u glavicama. Za industrijsku proizvodnju je pogodniji prvi način, jer se sečeni kupus lakše pakuje i pasterizuje. Međutim proizvođači na veliko u Srbiji radije fermentišu kupus u glavicama zbog tradicije korišćenja celih listova fermentisanog kupusa našeg podneblja u kulinarstvu (Mastilović *et al.* 2008).

Prerada kupusa počinje odstranjivanjem spoljnih listova, zbog prisustva mehaničke nečistoće, što zamenjuje pranje. Obavlja se ručno ili pomoću specijalnih transportera. Glavice zatim dolaze na mašinu gde se seče skraćeni deo stabla (koren ili kočan). Koren se na specifičan način zaseca u obliku krsta da bi se i naliv lakše difundovali do tkiva kupusa (Mastilović *et al.* 2008). Nakon toga sledi operacija sečenja kupusa, ukoliko se priprema ribanac. Sečenje se vrši na mašinama sa horizontalno postavljenim noževima, na rezance debljine oko 5 mm. Kuhinjska so se dodaje u fermentore, kod sečenog uz istovremeno sabijanje kupusa da bi se istisnuo vazduh, dok se kod glavica kupusa može da se "suvo" soli pa se onda dodaje voda ili se napravi naliv sapotrebnom koncentracijom soli. Obično se naliv pravi sa 5-6 % soli ili se so dodaje 5 % na masu kupusa (Niketić 1988) Mastilović *et al.* 2008). Da bi se postigli anaerobni uslovi za razvoj bakterija

mlečne kiseline i sprečio razvoj aerobnih mikroorganizama, kace i bazeni se zatvaraju, kupus se pritisne i potapa u naliv tako da ne dolazi u dodir sa vazduhom.



Slika 2.1. Tehnološka šema proizvodnje fermentisanog kupusa, sečenog i u glavicama, (Niketić 1988), isprekidane linije označavaju operacije koje nisu obavezne

2.3.1 Faktori koji utiču na fermentaciju kupusa

Na kvalitet fermentisanog kupusautiče mnogo faktora, počevši od kvaliteta sirovine, prisutne mikroflore, parametara tehnološkog procesa i uslova skladištenja (Hang *et al.* 2004; Martinez-Villaluenga *et al.* 2009; Peñas *et al.* 2010). Da bi se fermentacija odvijala u dobrom smeru potrebna je odgovarajuća koncentracija soli, optimalna temperatura, ali važnu ulogu imaju fizičko-hemijske osobine i kvalitet sirovine, posebno kod fermentacije u glavicama.

2.3.1.1 Uticaj sorte kupusa

Povoljne sorte za fermentaciju kupusa su one sa visokim sadržajem šećera i rastresitim i ne previše zbijenim teškim glavicama ukoliko se želi fermentisati kupus u glavicama. Povoljne sorte za fermentaciju su *Futoški beli*, *Srpski melež*, *Varaždinski*, *Atria*, *Rinda* (Niketić 1988; Červenski *et al.* 2003). Glavice kupusa namenjene za fermentaciju treba da budu čiste, zdrave, kompaktne, sa listovima otpornim na pucanje i bez pojave potamnivanja. Sirovi kupus namenjen fermentaciji trebada sadrži preko 4 % ugljenih hidrata, uglavnom glukoze, fruktoze i saharoze, zatim oko 3 % vlakana, oko 1,4 % proteina i samo 0,2 % masti, a takođe treba da bude bogat vitaminom C (min 30 mg/100g), da bi se sprečilo potamnivanje proizvoda, ali i zbog nutritivnih karakteristika fermentisanog kupusa. Navodi autora su da je potrebno min 3% šećera u kupusu za uspešnu fermentaciju (Niketić 1988; Malinowska-Pan'czyk 2012). Ukoliko se fermentiše nedovoljno zrela zelena glavica kupusa sa nedovoljnim sadržajem ugljenih hidrata dobija se proizvod oštrog mirisa i gorkog ukusa (Niketić 1988). Objavljeno je istraživanje gde su autori analizirali 5 sorti kupusa i 8 hibrida u pogledu pogodnosti za fermentaciju ribanca. Nađeno je da dve vrste kupusa nisu mogle uspešno da se fermentišu, zbog prisustva inhibitora rasta BMK, ili nedostatka nutritivnih faktora potrebnih za razvoj BMK (Stamer *et al.* 1969).

2.3.1.2 Uticaj koncentracije soli

Neujednačena koncentracija soli negativno utiče na tok fermentacije i može da uslovi nehomogen kvalitet kupusa. Prema Pedersonu i Albury-ju, 1969, najpovoljnija koncentracija soli za ribanac je 2,25 %, premda noviji trendovi u tehnologiji hrane vode ka smanjenju unosa soli u ishrani zbog velikog broja ljudi sa hipertenzijom i kardiovaskularnim oboljenjima (Dötsch *et al.* 2009; Doyle & Glass 2010; Organization 2012). Neki autori navode mogućnost da se

fermentacija kupusa odvija uz koncentraciju soli od 1 %, pa čak i 0,5%, ali sa dodatkom starter kultura (Johanningsmeier *et al.* 2007). Dodavanje soli i njena distribucija u tkivo i vlakna kupusa je jedna od kritičnih kontrolnih tačaka tokom fermentacije kupusa, ne samo za razvoj poželjnih mikroorganizama, već i za senzorne karakteristike finalnog proizvoda (Pederson 1973). Odmah nakon obezbeđivanja anaerobnih uslova, so obavlja svoju prvu funkciju, a to je osmotsko povlačenje vode iz ćelija kupusa (Holzapfel *et al.* 2003). Heterofermentativne BMK koje tokom fermentacije razlažu šećer na mlečnu kiselinu, sirćetnu kiselinu, CO₂ i etanol osetljivije su na visoke koncentracije soli u odnosu na homofermentativne BMK koje proizvode samo mlečnu kiselinu. Stoga prevelike koncentracije soli (3,5%) favorizuju rast homofermentativnih BMK, što rezultuje ubrzanim stvaranjem mlečne kiseline. Tada je fermentisani kupus lošijih senzornih karakteristika, jer mu nedostaju sirćetna kiselina i drugi metaboliti. S druge strane, niske koncentracije soli dovode takođe do slabijeg kvaliteta kupusa i omekšavanja tkiva (Li 2003).

2.3.1.3 Uticaj temperature

Kao i svi biološki procesi, fermentacija kupusa veoma zavisi od temperature. Sa aspekta senzornih svojstava, optimalna temperatura za biofermentaciju kupusa je između 15-20°C (Park & Kim 2011; Malinowska-Pan'czyk 2012). Fermentacija u glavicama traje u zavisnosti od sorte kupusa i radnih uslova, od 3 do 5 nedelja. Kada je radna temperatura ispod 10°C fermentacija je odložena što dovodi do razvika nepoželjnih mikroorganizama u kupusu *Leuconoctoc mesenteroides*, koji inicira proces fermentacije optimalno se razvija na temperaturi od oko 20°C, dok se na niskim temperaturama razvija vrlo sporo. Bakterije mlečne kiseline *Lactobacterium* i *Pediococcus* se takođe vrlo slabo razvijaju na niskim temperaturama (Holzapfel *et al.* 2003). Inicijalne temperature preko 22°C uslovljavaju ubrzano stvaranje mlečne kiseline, čime se dobija proizvod neadekvatnog mirisa i ukusa, siromašan sirćetnom kiselinom i vitaminom C, i tada kupus lako potamni. Generalno na nižim temperaturama (oko 18°C) dobija se fermentisani kupus boljih senzornih i nutritivnih osobina (Hui *et al.* 2003a).

2.3.2 Mikrobiološki profil fermentacije kupusa

Inicijalnu mikrobiološku floru na biljnom materijalu čine najviše aerobi kao što su *Pseudomonas*, enterobakterije, kvasci i plesni (Tabela 2.1). Na listovima svežeg kupusa BMK su

veoma slabo zastupljene (do 10^3 CFU/g) (Hutkins 2008). Povećan sadržaj natrijum-hlorida sprečava razvoj nepoželjnih mikroorganizama kao što su *Pseudomonas*, *Flavobacteria*, *Achromobacter* ili gljivice, dok je stimulisan rast poželjnih bakterija mlečne kiseline (BMK) (Pederson 1973).

Tabela 2.1 Mikroflora svežeg povrća (Hutkins 2008)

Mikroorganizmi	log CFU/g
Aerobne bakterije	4-6
<i>Pseudomonas</i>	
<i>Flavobacterium</i>	
<i>Micrococcus</i>	
<i>Staphylococcus</i>	
<i>Bacillus</i>	
Bakterije mlečne kiseline	0,7-4
<i>Lactobacillus</i>	
<i>Pediococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	
<i>Tetragenococcus</i>	
<i>Leuconostoc</i>	
Enterobakterije	3-3,5
<i>Enterococcus</i>	
<i>Enterobacter</i>	
<i>Klebsiella</i>	
<i>Escherichia</i>	
Kvasci i plesni	0,3-4,6
<i>Fusarium</i>	
<i>Ascochyta</i>	
<i>Aspergillus</i>	
<i>Penicillium</i>	
<i>Rhodotorula</i>	

Tradicionalni proces spontane fermentacije, biološkog konzervisanja kupusa prema (Buckenhüskes *et al.* 1997) može da se podeli na četiri dela:

Prva faza fermentacije počinje neposredno nakon punjenja kupusa u fermentore. Odmah nakon što su glavice kupusa ili ribani kupus gusto upakovani, broj izrazitih aeroba, kao što su *Pseudomonas*, *Flavobacterium* i *Acinetobacter* se smanjuje. Anaerobioza se nastavlja kao

rezultat ćelijskog disanja biljnog materijala i zbog potrošnje kiseonika od strane fakultativnih anaeroba *Enterobacteria* koji se razvijaju u prva 2 do 3 dana fermentacije. Pored osiromašnja supstrata kiseonikom, dolazi do pada pH vrednosti, kao rezultat sinteze organskih kiselina (mlečna, sirćetna, mravlja, ćilibarna). Nije poznato da li mikroorganizmi iz ove početne faze imaju značajan uticaj na ukus krajnjeg proizvoda (Kandler *et al.* 1986).

Anaerobni uslovi, niži redoks potencijal, niži pHi dodatak soli u drugoj fazi fermentacije favorizuju razvoj fakultativno anaerobnih BMK, koji postaju dominantni mikroorganizmi. *Leuconostoc mesenteroides* je najmanje otporan mikroorganizam u kiseloj sredini i on inicira fermentaciju. *Leuconostoc mesenteroides* proizvodi mlečnu i sirćetnu kiselinu, što dovodi do brzog pada pH, a kako je heterofermentativna bakterija mlečne kiseline, produkuje i CO₂ tako da stabilizuje vitamin C i prirodnu boju kupusa. Otkriveno je da pored *Leuconostoc mesenteroides*, u prvoj fazi fermentacije prisutan i *Leuconostoc fallax*. *Leuconostoc* vrste tokom dalje fermentacije nasleđuju heterofermentativne vrste *Lactobacillus brevis* otporne na kiselu sredinu i prisustvo soli. Ova druga faza kod fermentacije kupusa ribanca traje 3-6 dana kada koncentracija mlečne kiseline dostiže do 1%, a pH pada ispod 4,5 (Holzapfel *et al.* 2003; Malinowska-Pan'czyk 2012). U cilju dobijanja kvalitetnog fermentisanog kupusa, neophodno je da se prva i druga faza fermentacije obave što brže (Holzapfel *et al.* 2003).

Treću fazu počinje razvojem homofermentativnih BMK koje postaju dominantni mikroorganizmi zahvaljujući anaerobiozi, niskoj pH vrednosti, produženim uticajem soli. *Streptococci*, posebno *Enterococci* i *Pediococci*, predstavljaju minornu komponentu sa manje od 10% učešća u ukupnoj populaciji BMK. Dominantni mikroorganizmi u trećoj fazi fermentacije su iz roda *Streptobacterium*. U starijoj literaturi ova grupa je opisana kao jedna vrsta pod imenom *Lactobacillus plantarum* (McDonald *et al.* 1990). Novija istraživanja pokazuju da *Lactobacillus plantarum* predstavljaju 30-80% populacije, a da su takođe prisutni i *Lactobacillus Sakei* i *Lactobacillus Curvatus* u velikom broju u ovoj fazi fermentacije (Kandler *et al.* 1986) kao i *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* i *Leuconostoc fallax* (Barrangou *et al.* 2002; Plengvidhya *et al.* 2007). BMK konvertuju najveći deo ugljenih hidrata (glukozu, fruktozu, saharozu) do organskih kiselina, naročito mlečne kiseline. Tokom treće faze ukupna kiselost kupusa računato na mlečnu kiselinu dostiže 1,5-2,0%. U današnje vreme širom Evrope gde se proizvodi fermentisani kupus, on se pakuje kao svež ili se pasterizuje u ovoj fazi, kada se postigne pH vrednost od 3,8-4,0, jer potrošači više cene blaži ukus i po pitanju kiselosti i količine soli.

Nepasterizovani fermentisani kupusulazi u četvrtu fazu fermentacije, kada nastupa nepoželjni rast *Lb. brevis* i nekih drugih heterofermentativnih mikroorganizama sposobnih da metabolišu pentoze kao što su arabinoza i ksiloza. Biljka u prirodi ne poseduje slobodne pentoze, nego se one oslobađaju nakon branja kao rezultat kisele hidrolize hemiceluloze (Zhuang *et al.* 2012). U ovoj fazi sadržaj ukupnih kiselina prelazi 2,5%, a pH vrednost pada ispod 3,4 (Holzapfel *et al.* 2003).

2.3.2.1 Defekti fermentisanog kupusa

U tabeli 2.2 prikazani su izazivači kvara fermentisanog kupusa (Nout & Rombouts 1992). Uzročnici pojave ružičaste boje fermentisnog kupusa uglavnom su kvasci. Objavljene s tvrdnje autora o formiranju leukoantocijanidina. Istraživanjau autora pokazuje da *Lactobacillus brevis* ima značajnu ulogu u formiranju u vodi rastvorljivih pigmenata koji dovode do deukoloracije fermentisanog kupusa (Stamer *et al.* 1973; Li 2003). Omekšavanje fermentisanog kupusa je povezano sa nedovoljnim sadržajem soli tokom fermentacije.

Tabela 2.2 Defekti fermentisanog kupusa i mikroorganizmi izazivači (Nout & Rombouts 1992)

Defekt	Izazivač
Pojava ružičaste boje	<i>Rhodotorula</i>
Pojava sluzavosti/tegljivosti	<i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i>
Smekšavanje tkiva	<i>Enterobacter</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Pseudomonas</i>

Pektolitički enzimi koji izazivaju omekšavanje tkiva kupusa bivaju inhibirani bakterijama mlečne kiseline i dodatkom soli. Neki sojevi *Leuconostoc mesenteriodes* sintetišu dekstran i druge polisaharde koji mogu dati fermentisani kupus sluzave i narušene teksture (Hutkins 2008). Fermentisani kupus sa neprihvatljivim senzornim osobinama obično se dobija tokom fermentacije na visokim temperaturama. Aerobni kvasci i plesni utiču na pojavu neprijatnih

senzornih svojstava kupusa, ukoliko dođe do neželjenog prisustva vazduha tokom fermentacije (Li 2003).

2.3.3 Promene hemijskog sastava i nutritivnih osobina kupusa kao rezultat biofermentacije

Svež beli kupus (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) sastoji se od vlakana, ugljenih hidrata, proteina, masti i pepela što se može se videti u tabeli 2.3 . Najveća promena u hemijskom sastavu kupusa tokom fermentacije sastoji se od konverzije ugljenih hidrata u mlečnu kiselinu, sirćetnu kiselinu, etanol, CO₂, manitol i dekstran. Proteini, lipidi, glukozinolati i ostali supstituenti takođe podležu promenama tokom fermentacije (Li 2003). Potpuno fermentisan sečeni kupus (ribanac) sadrži između 1,8 i 2,25 % ukupnih kiselina. Po važećem Pravilniku u republici Srbiji fermentisani kupus treba da sadrži između 1,5-4 % soli, 0,5-2,5 % ukupnih kiselina (izraženo na mlečnu kiselinu) i maksimalno 0,7 % isparljivih kiselina (izraženo na sirćetnu kiselinu) (Pravilnik, službeni list, SFRJ 1/79).

U početku fermentacije nastaju mlečna, sirćetna kiselina, etanol, CO₂, manitol i dekstran, dok se kasnije razvojem homofermentativnih bakterija mlečne kiseline sintetiše samo mlečna kiselina, a u sadržaju ostalih komponenata nema promene (Fleming *et al.* 1988). Mlečna i sirćetna kiselina su dominantne kiseline koje se stvaraju tokom fermentacije i njihov odnos treba da je 4:1. Takođe se sintetišu i druge organske kiseline, kao što su ćilibarna, jabučna i propionska i one se mogu naći u manjim količinama u gotovom prizvodu, jer se sintetišu u prvoj heterofermentativnoj fazi (Trail *et al.* 1996).

Lipidne komponente u kupusu koje uključuju voskove, masti i fosfolipide hidrolizuju tokom fermentacije do glicerola, slobodnih masnih kiselina, kao i fosfata i slobodnog holina (Vorbeck *et al.* 1961; Vokbeck *et al.* 1963). Isparljiva sumporna jedinjenja, kao što su vodonik sulfid, metanetiol, dimetil sulfid i alil tiocijanat mogu da se nađu kao isparljiva komponenta naliva i fermentisanog kupusa, i ona imaju veliki uticaj na ukus i aromu fermentisanog kupusa (Lee *et al.* 1976).

Beli kupus takođe sadrži značajne količine glukozinolata. Nakon narušavanja tkiva kupusa glukozinolati bivaju hidrolizovani enzimima mirozinazama, pri čemu se formiraju tiocijanati odgovorni za karakteristični ukus kupusa (Watzl 2001).

Tabela 2.3 Hemijski sastav svežeg i fermentisanog kupusa (Souci 2000)

	Jedinica/100	Beli kupus svež	Fermentisani kupus
Osnovni sastav			
Voda	g	90,4	90,7
Ukupni azot	g	0,22	0,24
Protein (Nx 6,25)	g	1,37	1,52
Masti	g	0,20	0,31
Ugljeni hidrati	g	4,18	0,77
Vlakna	g	2,96	2,14
Organske kiseline	g	0,23	1,60
Minerali ukupni	g	0,66	2,35
Minerali			
Natrijum	mg	12	355
Kalijum	mg	255	288
Magnezijum	mg	14	14
Kalcijum	mg	45	48
Mangan	µg	200	140
Gvožđe	µg	412	600
Bakar	µg	33	130
Cink	µg	224	320
Fosfor	mg	36	43
Vitamini			
Retinol ekvivalent	µg	12	3
Uk. karotenoidi	µg	69	18
β -karoten	µg	69	18
Vitamin K	µg	70	62
Vitamin B1	µg	43	27
Vitamin B2	µg	45	50
Nikotinamid	µg	320	170
Pantotenska kiselina	µg	260	230
Vitamin B6	µg	190	210
Folna kiselina	µg	31	31
Vitamin C	mg	48	20

Tokom proteklih vekova fermentisani kupus je bio jedan od glavnih izvora vitamina C u ishrani ljudi tokom godine. Vitamin C je dobar pokazatelj dobre proizvođačke prakse fermentacije kupusa. Takođe je važan za očuvanje boje i ukusa fermentisanog kupusa. Gubici vitamina C tokom fermentacije i pasterizacije se kreću od 13,2-52,7% (Bohrer 1984). Smanjenje sadržaj askorbinske kiseline tokom fermentacije može se pripisati sintezi askorbigena (Hrncirik *et al.* 2001). Askorbinska kiselina tokom fermentacije kupusa reaguje sa jonima ugljenika dobijenim iz procesa razlaganja glukozinolata glukobrazicina iz svežeg kupusa pri čemu se sintetiše Askorbigen. Sadržaj Askorbigena je do 20 puta veći u fermentisanom u odnosu na sveži kupus (Martinez-Villaluenga *et al.* 2009). Askorbinska kiselina se razlaže hemijski i pod dejstvom enzima askorbat oksidaze tokom prerade (Klieber & Franklin 1998). Gubitak askorbinske kiseline tokom fermentacije se kreće oko 40 % (Martinez-Villaluenga *et al.* 2009). Međutim zabeleženo je da količina askorbinske kiseline raste tokom fermentacije (Wolkers-Rooijackers *et al.* 2013).

Pojedini mikroorganizmi koji učestvuju u fermentaciji kupusa mogu izazivati formiranje tzv. biogenih amina iz slobodnih aminokiselina aktivnošću enzima dekaroksilaze. Biogeni amini nastaju dekarboksilacijom amino kiselina ili aminacijom i transaminacijom aldehida i ketona. Biogeni amini su bioaktivna jedinjenja male molekulske mase koja mogu izazvati intoksikacije i alergijske reakcije kod ljudi (Halász *et al.* 1994; Moreno-Arribas *et al.* 2003). Neki autori navode da je veća koncentracija biogenih amina nađena u spontano fermentisanom ribanom kupusu u odnosu na kupus fermentisan starter kulturama (Halász *et al.* 1994; Špička *et al.* 2002), dok za sadržaj biogenih amina u fermentisanim glavicama kupusa ne postoje literaturni navodi (Cvetković *et al.* 2014). Kupus fermentisan sa nižom koncentracijom soli (0,5%) ima manje biogenih amina nego kupus sa više dodate soli (1,5%) tokom fermentacije (Kalač *et al.* 2000a; Peñas *et al.* 2010). Produkcija histamina povezuje se sa Gram-negativnim bakterijama kao što su *Enterobacteriaceae*, a u kasnijim fazama fermentacije ove bakterije bivaju nadjačane bakterijama mlečne kiseline. Postoje navodi da se histamin najviše pojavljuje tokom prve faze fermentacije (Taylor *et al.* 1978). Količina histamina se kreće od 9-200 mg/kg. Prihvatljive koncentracije za histamin, tiramin, putrescin, i kadaverin u fermentisanom kupusu su 10, 20, 50 i 25 mg/kg, respektivno (Künsch *et al.* 1989). Biogeni amin histamin u koncentraciji većoj od 50 mg/100g izaziva alergijske reakcije kao što je kijanje, glavobolja, nedostatak daha, itd.

2.4 Tehnološki postupak osmotske dehidracije

Glavna komponenta voća i povrća je voda čiji se sadržaj, u zavisnosti od vrste i uslova gajenja, kreće od 64-96% u povrću i 70-95% u voću. Voda je neophodna za odvijanje metabolizma i ima značajnu fiziološku ulogu. Međutim, visok sadržaj vode u voću i povrću omogućava odvijanje nepoželjnih mikrobioloških, fizioloških i biohemijskih promena. Da bi se izbegle nepoželjne promene i što duže očuvale početne nutritivne karakteristike, voće i povrće se ili skladišti pod odgovarajućim i kontrolisanim uslovima, ili konzerviše (Jongen 2002). Osmotska dehidracija predstavlja proces delimičnog izdvajanja vode tokom direktnog kontakta biljnog tkiva sa hipertoničnim rastvorom (obično koncentrovani rastvori soli i šećera). Osmotska dehidracija je energetski efikasan tretman, obzirom da voda koja se uklanja ne menja agregatno stanje, odnosno nije potrebna dodatna energija za fazni prelaz vode (latentna toplota faznog prelaza) (Sagar & Kumar 2010). Tokom ovog tretmana materijal jestalno potopljen u osmotski rastvor, tako da biljno tkivo nije izloženo dejstvu kiseonika, pa nije potrebna zaštita od oksidativnih i enzimatskih promena, što je još jedna prednost osmotske dehidracije. Ipak, osmotska dehidracija ne obezbeđuje potpunu stabilnost, tj. održivost tretiranog materijala, već se na ovaj način dobijaju proizvodi sa srednjim sadržajem vode koji se svrstavaju u delimično konzervisane proizvode (Le Maguer 1988; Lazarides *et al.* 1997). Aktivnost vode se ne smanjuje u tolikoj meri da se potpuno spreči rast i razmnožavanje mikroorganizama (Peiró *et al.* 2006). Osmotski dehidrirani proizvodi mogu da se podvrgnu daljem konzervisanju u cilju postizanja potpune stabilnosti (Babić *et al.* 2003; Dermesonlouoglou *et al.* 2008).

Pogonska sila za osmotsko uklanjanje vode je koncentracioni gradijent koji se uspostavlja na suprotnim stranama polupropustljive ćelijske membrane. Usled koncentracione razlike vode i rastvorenih materija (rastvorka) javlja se obostrana težnja za difuzijom kroz polupropustljivu ćelijsku membranu. Tokom osmotske dehidracije se istovremeno odvijaju dva protivstrujna toka prenos mase: voda iz biljnog tkiva odlazi u okolni rastvor, dok rastvorak iz osmotskog medijuma prodire u površinske slojeve materijala koji se tretira (Rastogi & Raghavarao 2004). Osim navedena dva, tokom procesa se odvija i treći tok prenosa mase koji podrazumeva difuziju materije (šećera, kiselina, minerala, vitamina) iz biljnog tkiva u okolni rastvor koji, iako kvantitativno zanemarljiv, utiče na senzorske, nutritivne i funkcionalne

karakteristike finalnog proizvoda. Gubitak nutrijenta zavisi od vrste materijala koji se tretira (Mayor & Rao 2004). Na efikasnost osmotskog tretmana i na kvalitet finalnog proizvoda odlučujući uticaj imaju parametri procesa, a najvažniji su svakako koncentracija i sastav osmotskog rastvora, temperatura, i vreme dehidracije, oblik i veličina tretiranog materijala. Osmotska dehidracija limitira ili smanjuje upotrebu konzervanasa kao što je SO₂.

2.4.1 Melasa šećerne repe kao rastvor za osmotsku dehidraciju

Pored konvencionalnih hipertoničnih rastvora na bazi saharoze i natrijum hlorida, u poslednje vreme na Tehnološkom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu uspešno su sprovedena istraživanja o mogućnosti korišćenja melase šećerne repe kao osmotskog rastvora za dehidraciju raznih sirovina biljnog i animalnog porekla (Mišljenović *et al.* 2009; Filipović *et al.* 2012; Mišljenović *et al.* 2012a; Cvetković *et al.* 2013; Koprivica *et al.* 2013c; Pezo *et al.* 2013). Melasa šećerne repe je nusprodukt industrije šećera. To je tamnomrki sirup, velikog viskoziteta, koji se dobijau poslednjem stepenu kristalizacije iz kojeg više nije moguće, pod povoljnim tehnološkim uslovima, da se dobije šećer zadovoljavajućeg kvaliteta (Šušić *et al.* 1995). Hemijski sastav melase šećerne repe je veoma kompleksan. U njoj se nalazi preko 200 raznih organskih i neorganskih jedinjenja. Melasa šećerne repe sadrži oko 50% saharoze. Ona predstavlja polikomponentni sistem promenljivog sastava u dosta širokim granicama, što uglavnom zavisi od sastava šećerne repe kao polazne sirovine, od primenjenih tehnoloških procesa u fazi čišćenja difuzionih sokova i fazi kristalizacije saharoze iz pogonskih šećernih sirupa. Najveće razlike u hemijskom sastavu odnose se na količinu rafinoze, invertnog šećera i mineralnih materija (Olbrich 1963). Melasa šećerne repe ima visok sadržaj suve materije (oko 80%) i sadrži u proseku 51% saharoze, 1% rafinoze, 0,25% glukoze i fruktoze, 5% belančevina, 6% betaina, 1,5% nukleozida, purinskih ipirimidinskih baza, organske kiseline i pektine. Glavni sastojak azotnih materija repe je betain. U repe ga ima oko 0,3%, a u melasi šećerne repe ga može biti i preko 6%. Od aminokiselina najviše ima glutaminske (oko polovina ukupne količine aminokiselina), dok purina ipirimidina sadrži samo u tragovima. U azotna organska jedinjenja ubrajaju se i melanoidini koji nastaju polimerizacijom monomera slobodnih aminokiselina i redukujućih šećera po mehanizmu Maillardove reakcije. Melanoidini i produkti karamelizacije utiču na pojavu tamne boje melase. U važne komponente melase spadaju mikronutrijenti,

minerali i vitamini. Melasa šećerne repe se odlikuje visokim sadržajem kalijuma i magnezijuma. Tehnološki postupci proizvodnje doprinose koncentrisanju termički stabilnih vitamina i vitamina stabilnih u baznoj sredini u melasi. Melasa uglavnom sadrži vitamine B grupe. Pantotenska kiselina (vitamin B5) je osetljiva na procesne parametre u proizvodnji šećera. Pokazalo se da vitaminski sastav melase varira u veoma širokim granicama. S obzirom na malu koncentraciju vitamina grupe B i na učestalost konzumacije melase, mnogi nutricionisti melasu ne smatraju izvorom vitamina B. Međutim, melasa sadrži širi spektar i oko 3800% veću količinu vitamina B u poređenju sa pčelinjim medom (Šušić & Sinobad 1989).

Pored korisnih sastojaka melasa, može sadržati i neke antinutritivne komponente. Zbog svoje prirode kao krajnjeg ili nusproizvoda prerade šećerne repe, u melasi ostaju svi sastojci iz biljne sirovine koji nisu uklonjeni izdvajanjem šećera. Pored zaostalog neekstrahabilnog šećera, obilja minerala, vitamina itd., u melasi mogu dase nagomilavaju i rezidue štetnih materija kao što su teški metali, pesticidi i sl. Zbog toga je melasa iz organske proizvodnje manje rizična. Štetne materije koje se mogu naći u melasi uglavnom ne potiču iz biosintetskog ciklusa biljne sirovine, osim saponina u šećernoj repi. Saponini u melasi potiču direktno iz korena šećerne repe. Oni predstavljaju triterpenske derivate polisaharida – glikozide i pokazuju hemolitičko delovanje. Saponini u hrani se tradicionalno smatraju antinutritivnim faktorima, međutim, prehrambeni izvori saponina postaju interesantni otkako se otkrilo da pokazuju holesterol snižavajuće i antikancerogeno delovanje (Gurfinkel & Rao 2003; Kim *et al.* 2003). Sadržaj saponina u melasi šećerne repe se kreće oko 0,025% i u ovoj koncentraciji se smatra neškodljivim za zdravlje ljudi (Šušić & Sinobad 1989). U krompiru npr. ima četiri puta više saponina. Za trajnu upotrebu u prehrambene svrhe, neophodno je da se izvrši sterilizaciju i korekciju specifičnog mirisa i ukusa melase šećerne repe. Upotreba melase u ljudskoj hrani je ograničena zbog relativno visokog sadržaja K⁺ jona (Satyawali & Balakrishnan 2008). Preporučena dnevna količina melase je od 20 do 40g (Kantor 1998).

2.4.2. Mehanizam osmotske dehidracije

2.4.2.1. Osmotski pritisak

Tokom osmotske dehidracije voda u rastvoru je u interakciji sa rastvorenom supstancom i ta veza je okarakterisana termodinamičkim stanjem vode u rastvoru. Energetsko stanje svake

supstance u rastvoru može se definisati kao njena unutrašnja energija koja se zove hemijski potencijal. Hemijski potencijal je funkcija koncentracije, temperature i pritiska. Međutim u izotermnim uslovima hemijski potencijal je samo u funkciji koncentracije i pritiska. Povećanje koncentracije rastvorene supstance smanjuje hemijski potencijal vode, koji može da se izrazi prema sledećoj jednačini (El-Aouar *et al.* 2006):

$$\mu_{\omega} = \mu_{\omega_0} + RT \ln a_{\omega} \quad [2.1]$$

Pri čemu je: μ_{ω} – hemijski potencijal vode,

μ_{ω_0} – standardni hemijski potencijal vode ($\mu_{\omega_0} = -273,18 \text{ kJ}$, na $T = 298 \text{ K}$ i $p = 101,3 \text{ kPa}$);

T - apsolutna temperatura;

R - univerzalna gasna konstanta ($8,314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}}$);

a_{ω} - aktivnost vode.

Usled interakcije dva sistema različitog energetskog stanja dolazi do razmene energije između njih sve dok se ne uspostavi ravnoteža, tj. dok se hemijski potencijali dva sistema ne izjednače. Pod izotermnim uslovima, do izjednačenja hemijskih potencijala dva sistema (uspostavljanja ravnoteže) dolazi promenom koncentracije ili pritiska. Dodatni pritisak koji je neophodan za uspostavljanje ravnotežnog stanja između čistog rastvarača i rastvora se naziva osmotski pritisak. Osmotski pritisak se izražava kao (Lewicki & Lenart 1995):

$$\Pi = -\frac{RT}{V} \ln a_{\omega} \quad [2.2]$$

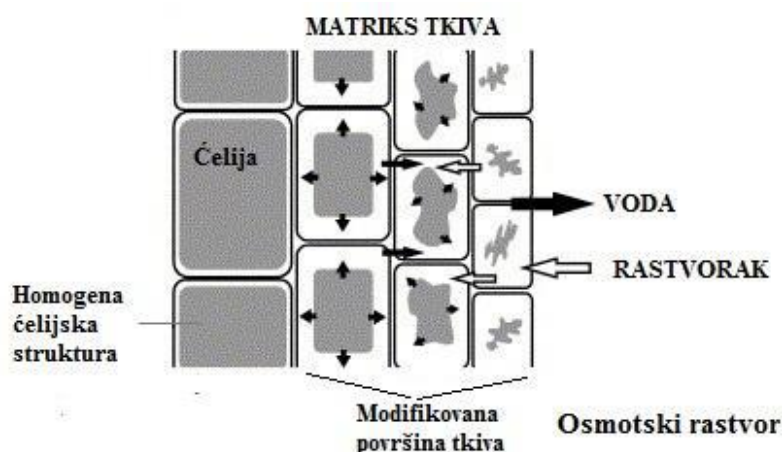
gde je: Π - osmotski pritisak;

V - molarna zapremina vode.

Drugim rečima, osmotski pritisak se javlja u slučaju kada postoji izvesna razlika koncentracija u sistemu, i u tesnoj je vezi sa pojavom difuzije. Osmotski pritisak je merilo težnje nekog sistema da difuzijom uspostavi koncentracionu ravnotežu na svim mestima na kojima je poremećena. Razlika osmotskih pritisaka između dva sistema koja su razdvojena polupropustljivom membranom predstavlja pogonsku silu za prenos mase. Ovaj fenomen se koristi u osmotskom uklanjanju vode iz voća i povrća (Lewicki & Lenart 1995).

2.4.2.2. Prenos mase tokom osmotske dehidracije

Ćelijske membrane biljnog tkiva, kao deo žive biološke jedinice, mogu da menjaju svoju zapreminu usled rasta i stvaranja turgora unutar ćelijskog zida. Zbog koncentracionog gradijenta, ćelije u prvom sloju materijala dolaze u kontakt sa hipertoničnim rastvorom i počinju da gube vodu. Usled gubitka vode dolazi do njihovog skupljanja. Nakon što ćelije prvog sloja izgube vodu, uspostavlja se razlika u hemijskom potencijalu vode ćelija prvog i drugog sloja. Voda prelazi iz ćelija drugog sloja materijala u ćelije prvog sloja, a ćelije drugog sloja se skupljaju. Opisani fenomen prenosa mase i skupljanja tkiva kreće od površinskih slojeva ka centralnim slojevima materijala i zavisi od vremena trajanja procesa. Na kraju procesa, nakon dužeg perioda kontakta materijal/rastvor, ćelije centralnih slojeva materijala gube vodu, a sistem se približava ravnotežnom stanju. Prenos mase i skupljanje tkiva istovremeno se odvijaju tokom procesa osmotske dehidracije (slika 2.3.) (Le Maguer *et al.* 2003; Shi & Xue 2009; Phisut 2012a).



Slika 2.3 Šematski prikaz promena u ćelijama biljnog tkiva nastalih usled prenosa mase tokom osmotske dehidracije (Agnelli *et al.* 2005)

U spoljašnjim slojevima materijala dolazi do prodiranja rastvorka u biljno tkivo, što u manjoj meri dovodi do promena hemijskog sastava, teksture, ukusa, boje i nutritivnog kvaliteta finalnog proizvoda (slika 2.3) (Agnelli *et al.* 2005; Warczok 2005) i veći deo rastvorka koji prodire u tretirani materijal zadržava se u ovoj zoni (Shi & Le Maguer 2002). Ustanovljeno je da molekuli saharoze prodiru u površinski sloj biljnog tkiva debljine 2-3mm, dok najveće promene u sadržaju vode nastaju u sloju debljine do 5mm (Bolin *et al.* 1983; Lenart & Flink 1984). Glavni put za

prenos vode iz ćelije u ekstracelularni prostor je kroz kapilarnekanale i pore u ćelijskom zidu(Läuchli 1976).

2.4.2.3.Kinetika procesa osmotske dehidratacije

Parametri koji najadekvatnije opisuju proces osmotske dehidratacije su:

Gubitak vode (water loss - WL), koji predstavlja količinu vode koja je difundovala iz biljnog tkiva u rastvor:

$$WL = \frac{m_i z_i - m_f z_f}{m_i} \left[\frac{g}{g_{p.u.}} \right] \quad [2.3]$$

Priraštaj suve materije (solid gain – SG), koji predstavlja povećanje sadržaja suve materije uzorka nakon postupka:

$$SG = \left[\frac{m_f s_f - m_i s_i}{m_i} \right] \left[\frac{g}{g_{p.u.}} \right] \quad [2.4]$$

Redukcija mase (weight reduction - WR), koja predstavlja gubitak mase uzorka nakon tretmana:

$$WR = WL - SG \left[\frac{g}{g_{p.u.}} \right] \quad [2.5]$$

gde su: m_i i m_f početna i krajnja masa uzorka (g); z_i i z_f početni i krajnji maseni udeo vode u uzorku; s_i i s_f početni i krajnji maseni udeo suve materije u uzorku; $g/g_{p.u.}$ – gram uklonjene vode ili suve materije po gramu polaznog uzorka. Gubitak vode i priraštaj suve materije tokom osmotske dehidratacije zavisi kako od procesnih parametara (temperatura, koncentracija, vreme i dr.), tako i od strukturnih osobina tretiranog tkiva. Složenost prenosa mase tokom procesa osmotske dehidratacije uslovlila je i više pristupa njegovom modelovanju u zavisnosti od pretpostavljenog mehanizma prenosa mase. Efektivni prenos mase procenjen iz eksperimentalnih podataka predstavlja ukupni prenos mase koji može da bude rezultat više mehanizama prenosa (Shi & Le Maguer 2002).

Indeks efikasnosti osmotske dehidratacije DEI (Lazarides *et al.* 1997):

$$DEI = \frac{WL}{SG} \quad [2.6]$$

služi za optimizaciju procesa, pokazuje efikasnosti osmotske dehidracije. Proces je efikasniji ukoliko je WL vrednost veća, dok SG vrednost treba da je što niža.

2.4.3. Faktori koji utiču na proces osmotske dehidracije

Mnogobrojni su faktori koji utiču na proces osmotske dehidracije, a time i na kvalitet osmotski dehidriranog materijala. Sa jedne strane su to karakteristike sirovog materijala (vrsta i stepen zrelosti materijala, oblik i veličina materijala), a sa druge strane parametri samog procesa (vrsta pred-tretmana, vreme, temperatura, koncentracija osmotskog rastvora, tip osmotskog agensa, fizičko-hemijske karakteristike rastvorka, mešanje rastvora, odnos materijal/osmotski rastvor i radni pritisak) (Phisut 2012b).

2.4.3.1. Vrsta i stepen zrelosti materijala

Vrsta i stepen zrelosti biljnog materijala u velikoj meri utiču na strukturu biljnog tkiva, porozitet, raspored ćelija, orijentacija vlakana i strukturu ćelijske membrane (Rahman 2007). Ove razlike mogu da se jave u različitim delovima jednog ploda voća ili povrća (na primer list i nervatura kupusa) (Torreggiani 1993).

2.4.3.2. Oblik i veličina materijala

Odoblika tretiranog materijala zavise specifična površina materijala i dužina difuzionog puta vode i rastvorene supstance koji učestvuju u prenosu mase tokom procesa osmotske dehidracije. Povećanjem veličine materijala izdvajanje vode će da bude sporije zbog porasta dužine difuzionog puta vode. Uobičajeni oblici materijala koji se koriste u osmotskoj dehidraciji su cilindri, kocke, diskovi, prstenovi, sfere itd (Tortoe 2010).

2.4.3.3. Vreme trajanja procesa

Dužina trajanja procesa ima značajan uticaj na efikasnost osmotske dehidrtacije. Povećanjem vremena trajanja procesa povećava se količina izdvojene vode, dok se brzina izdvajanja vode smanjuje tokom procesa. Optimizacijom vremena trajanja osmotske dehidracije ustanovljeno je da je brzina prenosa mase najveća u prvih 2h procesa. Mauro i sar. (2004) su ustanovili da se optimalne vrednosti gubitka vode (WL) i priraštaja suve materije (SG), postižu nakon 3h osmotske dehidracije (50°C) jabuke i banane, u rastvorima koncentracije 50 i 70°Bx,

respektivno (Mauro *et al.* 2004). Tokom osmotske dehidracije jabuke i mrkve najveće vrednosti WL i SG su postignute nakon 5h procesa u najkoncentrovanijim rastvorima saharoze (70°Bx) i melase šećerne repe (80°Bx) (Koprivica *et al.* 2013c).

2.4.3.4. Temperatura osmotskog rastvora

Temperatura osmotskog rastvora je parametar procesa koji najviše utiče na kinetiku procesa osmotske dehidracije. Povećanje temperature rastvora prouzrokuje povećanje gubitka vode (WL), dok je uticaj temperature na priraštaj suve materije slabiji (Beristain *et al.* 1990). Viskozitet osmotskog rastvora se smanjuje na višim temperaturama i time se ubrzava izdvajanje vode kroz nabubrele ćelijske membrane, osim toga, difuzija vode se odvija intenzivnije unutar biljnog tkiva i obezbeđuju bolji prenos mase. U isto vreme povećava se i difuzija rastvorka u materijal, ali brzina difuzije više zavisi od zapremine rastvorka i koncentracije osmotskog rastvora (Tortoe 2010). Temperatura, vreme imerzije i koncentracija rastvora imaju statistički značajan uticaj na gubitak vode i priraštaj suve materije tokom osmotske dehidracije mrkve i jabuke u melasi šećerne repe i rastvorima saharoze. Povećanjem vrednosti ispitivanih faktora rastu i vrednosti WL i SG (Mišljenović *et al.* 2010; Mišljenović *et al.* 2012b).

2.4.3.5. Koncentracije osmotskog rastvora

Povećana koncentracija osmotskog rastvora povećava gubitak vode i ubrzava dostizanje ravnotežnog stanja sistema (Ohlsson 1994; Lenart 1996). Veća koncentracija osmotskog rastvora dovodi do formiranja gustog barijernog sloja na površini materijala koji ubrzava izdvajanje vode iz materijala (Saurel *et al.* 1994a). Povećanjem koncentracije se povećava i prodiranje rastvorka u tretirani materijal, odnosno dobija se manji odnos gubitka vode i priraštaja suve materije (WL/SG) (Saurel *et al.* 1994a; Saurel *et al.* 1994b; Filipović *et al.* 2012; Cvetković *et al.* 2013).

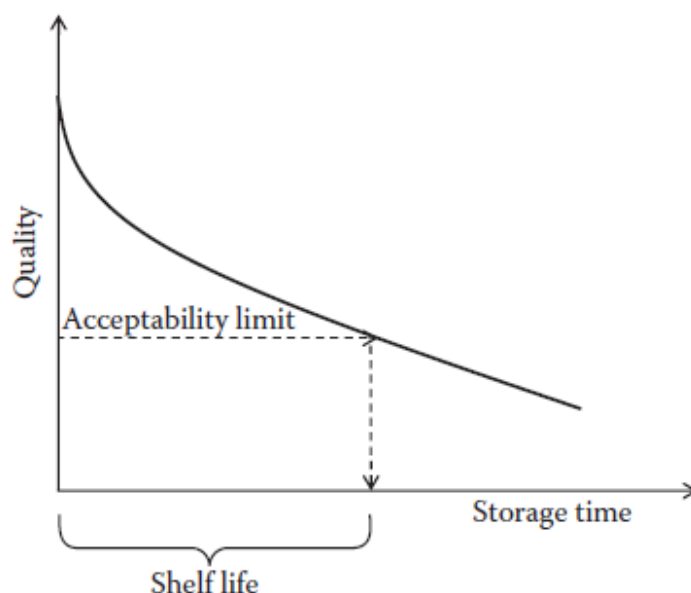
2.4.3.6 Vrsta osmotskog rastvora i odnos osmotski rastvor/material

Saharoza, glukoza i NaCl su najčešće korišćeni osmotski agensi. Takođe su u upotrebi i CaCl₂, laktoza, maltodekstrin, melasa šećerne repe i dr. Rastvor za osmotsku dehidraciju može da se obogati mineralnom solima i na taj način da se poboljša nutritivni profil osmotski dehidriranog materijala. Molekulska masa rastvorka utiče na odnos gubitak vode/priraštaj suve materije. Što su molekuli rastvoraka manji to su veći dubina i obim prodiranja u tretirani materijal (Lazarides *et al.* 1995). Odnos mase materijala i osmotskog rastvora je 1:10, 1:20 i 1:30. Zabeleženi su i

manji odnosi 1:3, 1:4 i 1:5 (Conway *et al.* 1983; Ćurčić *et al.* 2013; Cvetković *et al.* 2013; Filipović *et al.* 2014).

2.5 Održivost proizvoda od voća i povrća

Kvalitet prehrambenog proizvoda se pogoršava tokom skladištenja. Ako se izuzmu žestoka alkoholna pića i neke vrste sireva koji tokom skladištenja razvijaju poželjnu aromu, ukus i teksturu, zahvaljujući hemijskim i enzimatskim procesima, može se reći da hrana i piće poseduje uglavnom ograničen rok potrebe odnosno održivost. Period od momenta proizvodnje nekog prehrambenog proizvoda do granica njegove prihvatljivosti od strane potrošača i bezbednosti naziva se održivost ili rok upotrebe (*shelf life*) (Robertson 2009b). Za svaki prehrambeni proizvod, u zavisnosti od njegovih fizičko-hemijskih osobina određuje se rok upotrebe i to od strane proizvođača odnosno prerađivača. Ne postoji jasna definicija o tome šta je održivost nekog proizvoda ali se može jednostavno reći da je to vremenski period tokom koga hrana zadržava sve primarne osobine kvaliteta i prihvatljiva je za konzumaciju, odnosno zadovoljava senzorne, hemijske, fizičke, mikrobiološke, funkcionalne i bezbednosne karakteristike, ukoliko je čuvana u adekvatnim uslovima skladištenja (Hough & Garitta 2012). Na slici 2.4 dat je šematski prikaz nakon proizvodnje, a tokom vremena skladištenja proizvoda.



Slika 2.4 Grafički prikaz održivosti proizvoda tokom perioda čuvanja (Nicoli 2012)

Za određivanje održivosti nekog proizvoda potrebno je poznavati nivo kvaliteta tog proizvoda koji se smatra prihvatljivim. Treba napomenuti da održivost nije sinonim za bezbednost proizvoda. Bezbednost je zahtev koji mora da se ispuni od proizvodnje pa sve do konzumacije od strane potrošača. Obično je održivost, tj period prihvatljivosti proizvoda kraći od perioda bezbednosti, te održivost i bezbednost nisu sinonimi (Nicoli 2012). Po navodima Hough, 2010 potrošači su poslednja karika u lancu koji odlučuju da li određeni proizvod zadovoljava njihove potrebe (Hough 2010).

Faktori kontrole održivosti proizvoda (Robertson 2009b) su:

1. Karakteristike proizvoda, uključujući recepturu i parametre procesa proizvodnje (unutrašnji faktori),
2. Spoljni uslovi kojima je proizvod izložen tokom distribucije i skladištenja (spoljni faktori),
3. Osobine materijala za pakovanje.

Aktivnost vode, pH, enzimi, mikroorganizmi, koncentracija predstavljaju unutrašnje faktore. Mnogi od ovih faktora mogu se kontrolisati putem kontrole sirovina i dodataka, ali i izborom odgovarajućih parametara procesa proizvodnje. Spoljni faktori uključuju temperaturu, relativnu vlažnost, izloženost svetlosti, totalni i parcijalni pritisak različitih gasova, mehanička oštećenja, itd (Robertson 2009a, 2012).

Kvalitet je pojam koji često koriste istraživači, proizvođači, prerađivači, trgovci i potrošači, ali značenje tog pojma varira u odnosu na korisnika. Senzorni atributi su uslovljeni vremenom čuvanja i odnose se na teksturu, miris, ukus i boju. Mikrobiološki kvalitet prerađenog voća i povrća je veoma važan sa aspekta bezbednosti proizvoda. Mikroorganizmi su uključeni u navedene reakcije degradacije kod proizvoda od voća i povrća, ali generalno nemaju izrazito negativan uticaj na ljudsko zdravlje (isključujući plesni i njihove mikotoksine) (Gontard & Guillaume 2009). Iako se voće uglavnom smatra bezbednim od patogenih mikroorganizama, kod povrća se sporadično pojavljuju i potvrđeni su neki slučajevi oboljevanja (Warriner 2005). Nutritivna vrednost voća i povrća i njihovih proizvoda takođe predstavlja segment njihovog kvaliteta i zavisi od vrste voća i povrća i načina njihove prerade. Uprkos važnosti nutritivnih karakteristika održivost i rok upotrebe se u literaturi obično posmatraju sa stanovišta mikrobioloških i senzornih parametara.

2.5.1 *Pakovanje proizvoda u modifikovanoj atmosferi (MAP)*

U savremenim uslovima tržišta sve su veći zahtevi za minimalno prerađenim voćem i povrćem uz imperativ dobijanja bezbednog proizvoda produžene održivosti. U tom smislu razvijeno je nekoliko tehnoloških operacija za produženje održivosti hrane uključujući primenu visokog pritiska (HPP, High Pressure Processing), pulsno električno polje (PEF, Pulsed Electric Field), frekvenciju radiotalasa, ultrazvuk, hiperbarično skladištenje, iradijacija, ozon, hlorin dioksid, hidrogen peroksid i pakovanje u modifikovanoj atmosferi (MAP, Modified Atmosphere Packaging) (Rico *et al.* 2007). Nažalost, nijedna od gore pomenutih metoda konzervisanja nije u potpunosti dovoljna da bi se sprečio rast i razvoj patogenih mikroorganizama u hrani, a da se ne utiče u velikoj meri na kvalitet samog proizvoda. Obzirom da se MAP uveliko koristi u proizvodnji i preradi voća i povrća, prihvaćen je kao blagi način konzervisanja, a potrošači ga smatraju poželjnijim u odnosu na neke druge tehnološke postupke (Bruhn 1995, 1997). Struktura polimerne matrice kod pakovanja (mešavina polimera, kalemljeni polimeri, mikroperforacije, nano punjenja, itd..) određuje permeabilnost materijala na gasove i vodenu paru.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1 Materijal

Polazna sirovina za ispitivanja u ovom radu su dve vrste belog kupusa (*Brassica oleracea var. capitata*):holandski Hibrid *Bravo*, i kupus iz populacije *Futoški*. Hibrid *Bravo* i *Futoški* kupus su gajeni i uzorkovani u ataru sela Futog, kod Novog Sada. Glavice hibrida *Bravo* su uzorkovane sa 10 parcela, dok je *Futoški* kupus uzorkovan sa 33 parcele.

Za analizu svežeg kupusa sa svake parcele je uzeto po 17 glavica. Za određivanje hemijskog sastava uzete su 3 glavice, za senzorsku analizu 6, za analizu teksture 4, i za analizu fizičko-morfoloških svojstava po 4 glavice.

Sa 33 parcele pod *Futoškim* kupusom i sa 10 parcela pod hibridom *Bravo*, nakon analize hemijskih (ukupna i rastvorljiva suva materija, sadržaj ukupnih šećera, sadržaj ukupnih proteina, sadržaj mineralnih materija i sadržaj celuloze), fizičkih parametara (masa, prečnik i visina glavice, dužina kočana) i senzorskih svojstava (13 deskriptora i instrumentalno merenje teksture), optimizacijom dobijenih rezultata, došlo se do odabira kupusa sa parcele *Futoškog* i hibrida *Bravo* za proces fermentacije.

Za potrebe biološke fermentacije korišćen je natrijum hlorid (NaCl), komercijalni proizvod, 99-99,50% čistoće kristala, kupljen je u lokalnoj prodavnici.

Za nalivanje kupusa tokom fermentacije korišćena je voda iz gradskog sistema-vodovoda.

Za proces osmotske dehidracije korišćene su sledeće komponente:

- Natrijum hlorid (NaCl), komercijalni proizvod, 99-99,50% čistoće kristala
- Kalijum hlorid (KCl) p.a, 99% čistoće, proizvođača.
- Saharoza, komercijalni proizvod, 99,90% čistoće kristala, nabavljena u lokalnoj prodavnici.

Melasa šećerne repe, sadržaja suve materije 85,04,% iz šećerane u Crvenki. Pre upotrebe u procesu osmotske dehidracije, melasa je skladištena na sobnoj temperaturi u zatvorenim plastičnim posudama.

3.2 Metode

3.2.1 Proces fermentacije –biološki konzerviran kupus

Kupus je fermentisan u glavicama tradicionalnim postupkom. Glavicama su odstranjena 3-4 spoljašnja lista, kočan („koren“, modifikovano stablo) je zasečen u obliku krsta, i oko 25 glavica je postavljano u plastičnu burad za fermentaciju zapremine 100 dm³. Natrijum hlorid je dodavan tri koncentracije: 1, 1,5 i 2 % na ukupnu masu kupusa i naliva. So je prethodno rastvorena u vodi tj. nalivu. Fermentacija se odvijala na tri intervala temperature i to 16-18°C, 18-20°C i 20-22°C. Vrednost pH naliva je praćena svakodnevno do postizanja završne tačke fermentacije, a kasnije kao parametar održivosti proizvodaperiodično svaka 2-3 dana. Naliv iz buradi je uziman sterilnom pipetom za potrebe mikrobiološke analize sledećom dinamikom: 1, 5, 6, 10, 14, 21, 28, 40, 50, i 80-i dan fermentacije. Za hemijsku analizu uzimani su uzorci naliva 3, 6, 10, 15, 22, 37, 55 i 80-tog dana fermentacije, a glavice su za analizu vađene 10, 20, 30, 50 i 80-og dana fermentacije. Nakon 3, 7 i 10-og dana obavljeno je pretakanje naliva, da bi se dobila što ravnomernija raspodela soli po glavicama kupusa, i da ne bi došlo do taloženja natrijum hlorida-soli u donjim slojevima kupusa. Na slici 3.1 prikazan je izgled glavica *Futoškog* i hibrida *Bravo* postavljenih u burad za fermentaciju.



a)

b)

Slika 3.1 Glavice *Futoškog* kupusa (a) i hibrida *Bravo* (b) postavljene u burad za fermentaciju

3.2.2 *Proces osmotske dehidracije*

Listovi kupusa su odvajani od glavica i sečeni na kockice dimenzija približno 1×1 cm. Rastvor za osmotsku dehidraciju (rastvor R_1) predstavlja mešavinu saharoze i mineralnih soli (natrijum hlorid 67%, kalijum hlorid 33%) u odnosu 4:1. Rastvor R_1 je razblažen u tri koncentracije: 40, 50 i 60% suve materije. Melasa šećerne repe je takođe korišćena kao rastvor za osmotsku dehidraciju, označena kao rastvor R_3 , u koncentracijama 40, 60 i 80% suve materije. Rastvor R_2 je mešavina rastvora R_1 i rastvora R_3 u jednakom odnosu i razblažen je u tri koncentracije, 50, 60 i 70% suve materije. Sečeni komadi kupusa su osmotski dehidrirani u uređaju za osmotsku dehidraciju (slika 3.2). Odnos kupusa i rastvora bio je 1:5. Proces osmotske dehidracije sproveden je na tri različite temperature od 20, 35 i 50°C u trajanju od 5 sati. Uzorci dehidriranog kupusa uzimani su nakon 1, 3 i 5h. Nakon vađenja iz rastvora za osmotsku dehidraciju, kupus se ispira destilovanom vodom i oceden. Nakon toga određena mu je suva materija, a gubitak mase i prirast suve materije izračunati su po navedenim jednačinama 2.3 i 2.4.



Slika 3.2 Izgled uređaja za osmotsku dehidraciju

3.2.3 *Pakovanje osmotski dehidriranog kupusa u modifikovanoj atmosferi*

Nakon osmotske dehidracije u tri različita rastvora, pranja i ceđenja, uzorci kupusa od po 50 g upakovani su u vrećice sastava poliamid/polietilen debljine 0,08 cm i dimenzija vrećice 14×20 cm. Uzorci su pakovani na mini laboratorijskoj pakerici najpre vakumiranjem sadržaja da bi se uveo sadržaj željene gasne smeše, neporedno pre zavarivanja kesice. Sadržaj gasne smeše iznosio je 40:60/CO₂:N₂ (atmosfera 1) i 20:80/CO₂:N₂ (atmosfera 2). Svi upakovani uzorci skladišteni su u rashladnom uređaju na 8-10°C tokom 90 dana.

3.2.4 *Hemijski sastav*

Hemijski sastav svežeg kupusa (sadržaj proteina, masti, ukupnih redukujućih šećera, celuloze, mineralnih materija, ukupne suve materije i rastvorljive suve materije) određen je prema AOAC metodama (William 2000). Sadržaj K, Na, Mg, Fe, Cu, Ca je određen metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS).

3.2.5 *Senzorska analiza*

3.2.5.1 *Senzorska analiza svežeg kupusa*

Futoški beli kupus i hibrid *Bravo* sa svih parcela su senzorski ocenjeni u pogledu karakterizacije i pogodnosti za fermentaciju. Ispitivanje je obavilo 6 iskusnih ocenjivača. Od strane panela iskustveno je određeno 13 parametara tj. deskriptora za senzorsku evaluaciju i karakterizaciju ove dve vrste kupusa. U tabeli 3.3 prikazana su svojstva koja su senzorski ocenjivana, kojoj grupi deskriptora pripadaju, kao i deo glavice kupusa koji je analiziran za pojedino svojstvo.

Oblik glavice (blago spljošten oblik za *Futoški* kupus), prisustvo ljubičaste boje (nepoželjno za *Futoški* kupus), prepokrivenost glavice listom (da li list pre pokriva više od 50 % površine glavice što je svojstveno za *Futoški* kupus) su senzorski ocenjeni kao svojstveni (1) ili nesvojstveni (0).

Tabela 3.3 Ocenjivana senzorska svojstva svežeg kupusa

	Deo koji se ocenjuje	Svojstvo
IZGLED	Cela glavica	Oblik glavice Boja spoljašnjih listova Prepokrivenost glavice listom Prisustvo ljubičaste boje
	Poprečni presek	Boja na preseku Boja oko korena Zbijenost glavice
TEKSTURA	List	Nervatura lista Debljina lista Elastičnost lista
UKUS	Četvrtina glavice	Vlažnost Slatkoća Ljutina

Intezitet senzorskog opažaja za navedena svojstva izražava se povlačenjem vertikalne linije na horizontalnu skalu unutar intervala graničnih vrednosti koje su zadate od 0 do 15 (Slika 3.3).



Slika 3.3 Skala vrednosti inteziteta senzorskih svojstava svežeg kupusa

3.2.5.2 Senzorska ocena fermentisanog kupusa

Fermentisani kupus je senzorski ocenjen nakon 50 dana od postavljanja ogleda od strane šestočlanog panela iskusnih ocenjivača. Kod fermentisanog kupusa prilaz senzornoj oceni je bio u smislu prihvatljivosti gotovog proizvoda, za razliku od svežeg kupusa gde je senzorska ocena rađena u cilju karakterizacije svežeg kupusa. Otuda i različit način bodovanja senzorske ocene svežeg i fermentisanog kupusa. Reprezentativna svojstva fermentisanog kupusa ocenjena su primenom deskriptivnog metoda bodovanja, sa rasponom bodova od 1 do 5. Za metodološki korektnu i uspešnu primenu ovog metoda, pre početka ocene, od strane panela sproveden je izbor reprezentativnih svojstava fermentisanog kupusa. Svako svojstvo izraženo je odgovarajućim ocenama, što je precizno definisano (tabela 3.5).

Tabela 3.5 Senzorna svojstva fermentisanog kupusa

	Deo koji se ocenjuje	Svojstvo	Ocene
IZGLED	Cela glavica	Oblik glavice	Okruglo-bлаго spljošten 5 Pljosnat u vidu pogače 4 Okruglo-loptast 3 Oštećen, neujednačen spljošten 2 Potpuno deformisan 1
IZGLED		Boja glavice	Ćilibar žuta 5 Svetlo ćilibar žuta 4 Tamno ćilibar žuta 3 Svetlo žuta 2 Tamno žuta 2 Zeleno žuta 1 Mrko žuta 1
IZGLED		Ujednačenost boje	Potpuno ujednačena 5 Blago neujednačena 4 Dosta neujednačena 3 Prilično neujednačena 2 Potpuno neujednačena 1
IZGLED	Poprečni presek	Boja na preseku	Ćilibar žuta 5 Svetlo žuta 4 Krem bela 3 Zeleno-žuta 2 Sivo bela 1
IZGLED		Ujednačenost boje na preseku	Potpuno ujednačena 5 Blago neujednačena 4 Dosta neujednačena 3 Prilično neujednačena 2 Potpuno neujednačena 1
IZGLED		Sluzavost	Bez pojave sluzavosti 5 Slabo izraženo 3 Izraženo 1
IZGLED		Izgled naliva	Bistar 5 Srednje mutan 4 Mutan 3 Tegljiv 1
MIRIS	Četvrtina glavice	Intezitet	Srednje izražen 5 Slabije izražen 4 Veoma izražen 3 Slabije izražen, nesvojstven 2

			Veoma izražen, nesvojstven 1
MIRIS		Nota	Kisela svojstvena 5 Neutralna 3 Nesvojstven 1
MIRIS		Kiselost	Kiseo 5 Slabo kiseo 4 Oštro kiseo 3 Neutralna 2 Prekiseo 1
UKUS		Kiselost	Srednje kiseo 5 Blago kiseo 4 Izrazito kiseo 3 Nedovoljno kiseo 2 Prekiseo 1
UKUS		Slanost	Slan 5 Manje slan 4 Više slan 3 Nedovoljno slan 2 Preslan 1
UKUS		Nota	Aromatičan svojstven 5 Nesvojstven 1
TEKSTURA	Cela glavica	Tvrdoća glavice	Srednje tvrda 5 Tvrda 4 Meka 3 Pretvrda 2 Premeka 1
TEKSTURA		Debljina lista	Tanak 5 Srednje debeo 4 Debeo 3
TEKSTURA		Elastičnost lista	Elastičan, 5 Srednje elastičan, 4 Slabo elastičan, 3 Plastičan 2
TEKSTURA		Nervatura lista	Blago izražena, 5 Srednje izražena, 4 Vrlo izražena 3
TEKSTURA	Poprečni presek	Tekstura poprečnog preseka	Rastresita 5 Slepljena 4 Zbijena 3 Premeka 2 Potpuno narušena 1
TEKSTURA	Četvrtina glavice	Žvakljivost	Žvakljiva 5 Nežna 4 Žilavo 3

3.2.5.3 Senzorska ocena osmotski dehidriranog kupusa

Nakon osmotske dehidratacije dobijeni proizvod je senzorski ocenjen. Takođe senzorska ocena je korišćena za praćenje održivosti osmotski dehidriranog kupusa pakovanog u modifikovanoj atmosferi (MAP). Metodologija senzorske analize obavljena je u skladu sa smernicama Procenjivanja prehrambenih proizvoda pomoću metoda skale (SRPS 2002). Za ocenjivanje svakog odabranog svojstva koje se boduje odvojeno korišćena je skala intervala sa šest bodova. U tabeli 3.6 prikazana je skala ocenjivanja za osmotski dehidriran kupus. Svojstva koja su ocenjivana su: izgled-boja, miris, ukus, zaostali ukus u ustima, tekstura. Za svako svojstvo definisani su opisi koji su odgovarajuće bodovani po intenzitetu. Na slici 3.4 prikazani su uzorci tokom senzorske ocene osmotski dehidriranog kupusa.



Slika 3.4 Senzorsko ocenjivanje osmotski dehidriranog kupusa

Tabela 3.6. Skala sa šest bodova ocenjivanja intenziteta za pojedino svojstvo

1	Ne postoji
2	Vrlo slabo
3	Slabo
4	Jasno
5	Veoma izraženo
6	Izuzetno izraženo

3.2.6 Instrumentalno merenje teksture svežeg i fermentisanog kupusa

Mehaničke osobine listova svežeg i fermentisanog kupusa analizirani su testom udara na teksturometru TA-XT2 (Stable Micro Systems, England). Analiza je podešena tako da je brzina testa 1,0 mm/s, razdaljina 10 mm, sila 5 g. Za merenje svežeg kupusa prva dva-tri spoljašnja lista su uklonjena i odbačena sa glavica kupusa i naredna četiri lista su merena. Kod fermentisanih glavica kupusa prva četiri lista su uzeta za merenje. Merenje je obavljeno tako tako što je list postavljen na perforiranu platformu i probušen sfernom sondom (5mm Spheric Stainless (P/5S)). Tkivo između dve glavne nervature analizirano je na svim listovima jednako. Tačan položaj udara sonde bio je sa leve strane na pola rastojanja između osnove i vrha lista, između središnje glavne nervature i ivice lista, izbegavajući veće nervature. Analizirane su glavice *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* (Slika 3.5) Srednja vrednost jačine sile probijanja i srednje rastojanje postignuto u trenutku probijanja su određeni kao indikatori čvrstoće i savitljivosti listova.



Slika 3.5 Merenje teksture listova kupusa

3.2.7 Mikrobiološka analiza

Tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* uzimani su uzorci naliva, sterilnom pipetom za mikrobiološku analizu. Uzorci su uzimani sledećom dinamikom: 1,5,6,10,14,21,28,40,50 i 80-og dana od početka fermentacije.

3.2.7.1 Mikrobiološka analiza fermentisanog kupusa

Mikrobiološka slika fermentisanog kupusa ispitivana je određivanjem broja mikroorganizama (ISO 2003), kvasaca i plesni (ISO. 2008) i *Enterobacteriaceae*(ISO 2004). Bakterije mlečne kiseline su determinisane inkubiranjem (30°C, 72 h) inokulisano Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (LabM, United Kingdom) sa 0,02% Na azida.

3.2.7.2 Mikrobiološka analiza osmotski dehidriranog kupusa

Mikrobiološka slika osmotski dehidriranog kupusa ispitivana je određivanjem broja mikroorganizama (ISO 2003), kvasaca i plesni (ISO. 2008), koagulaza pozitivnih stafilocoka (ISO 1999), β -glukuronidaza pozitivne *Escherichia coli* (ISO 2001), sulfitoredukujućih klostridija (ISO, 2003) i *Salmonella spp* (ISO 2002).

3.2.8 Određivanje pH vrednosti i temperature

pH vrednost naliva je merena mobilnim pH-metrom (ExStick™, Extech Instruments, U.S.A) koji je pre merenja kalibrisan puferima pH 4 i 7, temperature prostorije i naliva merene su baždarenim termometrima.

3.2.9 Određivanje sadržaja šećera HPLC metodom

Sadržaj saharoze, glukoze i fruktoze u *Futoškom* kupusu i hibridu *Bravo* pre fermentacije određene je HPLC metodom. 10 g svežeg kupusa je usitnjeno i preliveno sa 25 ml vode, izmešano na magnetnoj mešalici na 400o/min tokom 30 min. Nakon toga sadržaj se filtrira i injektuje u kolonu Zorbax Carbohydrate (4.6 × 250 mm, 5 μ m) (Agilent Technologies) na uređaju Liquid Chromatograph HP1090 (Hewlett-Packard, USA), sa RI Detektorom (Hewlett-Packard, USA), Sensitivity × 4 RIU. Mobilna faza je bila smeša acetonitril/voda (70/30, v/v), uz izokraski protok 1,000 ml/min, na sobnoj temperaturi i injektovanje od 10 μ m. Glukoza, fruktoza i saharoza nabavljeni su od proizvođača Carlo Erba.

3.2.10 Određivanje sadržaja askorbinske kiseline HPLC metodom

Sadržaj askorbinske kiseline određivan je u glavicama svežeg i fermentisanog kupusa koje su uzorkovane 10, 20, 40, 50 i 80-og dana fermentacije. Od reprezentativnog uzorka kupusa je odmereno oko 10 grama i rastvoreno u 100 ml rastvora 3% metafosforne kiseline u 8% sirćetnoj

kiselini. Nakon filtriranja ekstrakt je direktno injektovan u HPLC uređaj. Analiza se odvijala izokratski sa UV-vidljivom detekcijomna sistemu Agilent 1100, USA sa Diode Array detektorom (DAD) i injektorom od 20 µl. Razdvajanje je izvedeno na koloni GROM_SIL 120 ODS-5 ST (5 µm, 150×4mm) sa 100 mM amonijum-acetatom kao mobilnom fazom uz protok od 0,4 ml/min. Temperatura kolone bila je 37°C, a talasna dužina detekcije je 254 nm (Malbaša *et al.* 2009; Cvetković *et al.* 2012a). Rastvori standarda kao i ekstrakti filtrirani su kroz 0,45 µm membranski filter pre injektovanja. Dobijeni pikovi askorbinske kiseline poređeni su sa komercijalnim standardima i njihovim retencionim vremenima. Hromatografska merenja su izvedena u tri ponavljanja.

3.2.11 Određivanje sadržaja organskih kiselina HPLC metodom

Analiza sadržaja organskih kiselina je obavljena iz uzoraka fermentisanih glavica kupusa i nalivu koji su uzorkovani u zadatim terminima tokom fermentacije i zamrznuti na -18°C. Nakon odmrzavanja naliv je razblažen destilovanom vodom u odnosu 1:1 i centrifugiran na 4000 o/min u trajanju od 10 minuta. Nakon toga naliv je dekantovan profiltriran kroz filter 0,45 µm. Glavice kupusa su isitnjene u blenderu i homogenizovane na uređaju Ultra-turrax IKA T25 digital, na 6000 o/min. Zatim, dodata im je voda u odnosu 1:1,5 i postavljene su na magnetnu mešalicu tokom 30 min na 400 o/min radi bolje ekstrakcije, a nakon toga, kao i naliv, centrifugirane. Dekantovani ekstrakt je profiltriran pre injektovanja u uređaj. Određivanje sadržaja organskih kiselina (mlečna, sirćetna, limunska, oksalna, jabučna, ćilibarna, mravlja, propionska, buterna) obavljeno je na uređaju Liquid Chromatograph Agilent Technologies 1200 Serija sa DAD, na koloni Zorbax SB C18, 3×250 mm, prema metodi (Jayabalan *et al.* 2007). Mobilna faza bila je mešavina kalijum dihidrogen fosfata, pH 2,4, i metanola (97:3). Protok mobilne faze bio je 1ml/min na 28°C. Detekcija je obavljena na 220 nm. Koncentracija je određena preko standardne krive i retencionih vremena pikova organskih kiselina.

3.2.12 Određivanje sadržaja biogenih amina HPLC metodom

Sadržaj biogenih amina analiziranje u svežem *Futoškom* kupusu i hibridu *Bravo* predviđenih za fermentaciju kao i u glavicama uzorkovanim tokom fermentacije u zadatim terminima. Pre analize kupus je zamrznut na -18°C. Nakon odmrzavanja 2 g kupusa su ekstrahovana u 20 ml 0,1

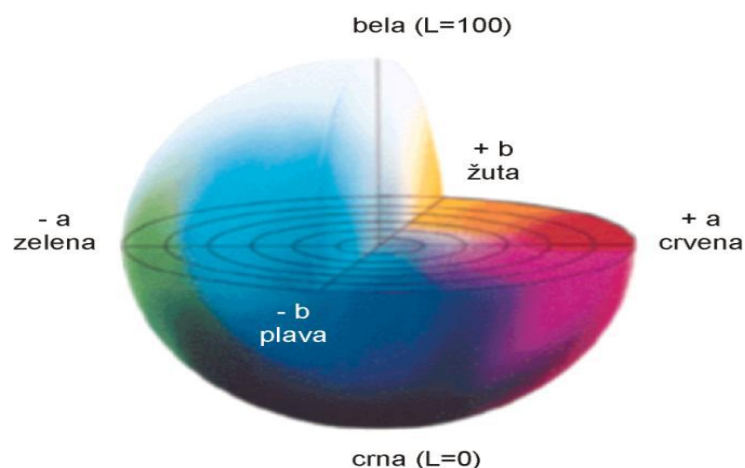
M HCl na Ultra-turrax IKA T25 uređaju tokom 2-3 min na 5000 o/min. Nakon toga uzorci su centrifugirani na 8000 o/min tokom 20 min i rashlađeni na 4°C. Supernatant je sakupljen i ekstrakcija je ponovljena još jednom. Oba ekstrakta su sjedinjena i profiltrirana kroz kvalitativnu filter hartiju u odmernu tikvicu i dopunjeni do 100 ml sa 0,1 M HCl. 1 ml rastvorenog ekstrakta je pomešan sa 0,5 ml zasićenog NaHCO₃ i 1ml rastvora danzil-hlorida. Rastvor je promešan i ostavljen na 40°C u mraku 1 sat. Rezidualni danzil-hlorid se taloži rastvorom prolina (100 mg/ml) stajanjem 15 min u mraku. Dobijeni talog je ekstrahovan dva puta sa po 1 ml dietiletra, nakon čega se dietil etar upari u struji azota. Suvi ostatak je rastvoren u 1 ml acetonitrila HPLC čistoće, profiltriran kroz PVDF filter (0,45 µm) pre injektovanja u hromatograf (Tasić *et al.* 2012). HPLC analiza je izvedena na sistemu Agilent 1200 Serija sa DAD, na koloni Agilent, Eclipse XDB-C18, 1,8 µm, 4,6×50 mm. Korišćena je mobilna faza u gradijentu acetonitrila(A) i vode (B) (Tabela 3.7). Protok mobilne faze je 1,5 ml/min. Detekcija je obavljena na 190-400 nm.

Tabela 3.7 Gradijent mobilne faze tokom HPLC analize biogenih amina

t (min)	%B
0,00	50
7,60	10
10,00	10
12,00	50

3.2.13 Instrumentalno određivanje površinske boje

Površinska boja osmotski dehidriranog kupusa određena je upotrebom hromametra MINOLTA, ChromaMeter CR-400 (Minolta Co, Ltd, Osaka, Japan) sa D-65 osvetljenjem, 2° standardnim uglom posmatranja i 8 mm otvorom u glavi merenja. Rezultati su izraženi kao svetloća (L*), udeo crvene boje (a*) i žute boje (b*), prema CIE L*a*b* sistemu (CIE, 1976). U trodimenzionalnom CIE L*a*b* prostoru, vertikalna osa odgovara vrednostima psihometrijske svetlosti (L*) i kreće se u opsegu od 0 (apsolutno crna) do 100 (apsolutno bela). Ose a* i b* nemaju neke specifične limite, a mogu da obuhvataju i pozitivne i negativne vrednosti, koje variraju od -120 do +120 (Papadakis *et al.* 2000). Pozitivne a* vrednosti se odnose na udeo crvene, a negativne na udeo zelene boje. Sa druge strane, pozitivne vrednosti b* se odnose na udeo žute, a negativne na udeo plave boje. Što su vrednosti a* i b* bročano veće (u apsolutnom smislu), veći je i udeo odgovarajućih primarnih boja u boji merenog objekta (slika 3.6.)



Slika 3.6 CIE L a b prostorni sistem boja (www.lightemittingdiodes.org)

Sve gore pomenute analize su urađene u akreditivanoj laboratoriji FinsLab Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.

3.2.14 Statistička analiza

Deskriptivnom statističkom analizom sva merenja su prikazana srednjim vrednostima, standardnom devijacijom (SD), varijansom i svojim ekstremnim vrednostima, za obe vrste ispitivanih kupusa.

Urađena je analiza varijanse (ANOVA) za prikupljene eksperimentalne podatke, radi poređenja uticaja pojedinih procesnih parametara (vremena trajanja procesa, temperature i koncentracije soli). Takođe je urađena i analiza glavnih komponentata (Principal Component Analysis-PCA), koja je uspešno primenjena radi grupisanja uzoraka različitih posmatranih vrsta svežeg kupusa u faktorskoj ravni, na osnovu hemijskih, fizičkih, teksturnih i senzorskih osobina (Brllek *et al.* 2013; Cvetković *et al.* 2014).

Analiza varijanse i analiza glavnih komponenti dobijenih eksperimentalnih podataka izvedena je uz pomoć softvera StatSoft Statistica 10.0®. (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

3.2.15 Određivanje normalizovanih standardnih ocena (SS)

Min-max normalizacija je jedna od najčešće korišćenih tehnika za poređenje različitih kompleksnih uzoraka hrane, čiji kvalitet je određivan korišćenjem višestrukih eksperimentalnih metoda, pri čemu se uzorci rangiraju na osnovu odnosa merenih i ekstremnih vrednosti određene

merene veličine. Pošto su jedinice i rasponi merenih vrednosti za određene merene veličine često različite, podaci u svakoj grupi merenih veličina treba da se normalizuju prema sledećim jednačinama (Prior *et al.* 2005; Brlek *et al.* 2013)

$$\bar{x}_i = 1 - \frac{\max_i x_i - x_i}{\max_i x_i - \min_i x_i}, \quad \forall i, \text{ u slučaju kriterijuma "što veće to bolje"}, \quad [3.1]$$

$$\bar{x}_i = \frac{\max_i x_i - x_i}{\max_i x_i - \min_i x_i}, \quad \forall i, \text{ u slučaju kriterijuma "što manja to bolje"}, \quad [3.2]$$

pri čemu x_i predstavlja merenu vrednost za određenu metodu.

Normalizovana ocena (eng. score) većine fizičkih, hemijskih i senzorskih osobina se određuje korišćenjem gore napisanih jednačina, osim nekoliko parametara, koji se računaju na osnovu optimalnih vrednosti, korišćenjem trapezoidne funkcije:

$$\bar{x}_i = \begin{cases} \min_i x_i \leq x_i < m, & \frac{x_i - \min_i x_i}{m - \min_i x_i} \\ m \leq x_i < n, & 1 \\ n \leq x_i < \max_i x_i, & 1 - \frac{x_i - n}{\max_i x_i - n} \end{cases}, \quad \forall i, \text{ u slučaju korišćenja optimalnih kriterijuma}, \quad [3.3]$$

gde: m i n su minimum i maksimum optimalne vrednosti za određenu merenu veličinu (napisane su Tabelama 4.1, 4.2, 4.3 i 4.4).

Osrednjavanjem normalizovanih ocena različitih merenih vrednosti, za svaki posmatrani uzorak dobija se jedinstvena vrednost koja se naziva standardna ocena (engl. Standard Score, SS). SS predstavlja specifičnu kombinaciju podataka dobijenih različitim merenim metodama, bez ograničenja određene merne jedinice. Ovakav prilaz omogućava jednostavnije potencijalno uključivanje novih vrsta kupusa ovoj komparativnoj analizi. Rezultati analize standardnih ocena date su u Tabelama 4.1-4.4. Analiza standardnih ocena urađena je takođe za sve parametre procesa fermentacije kupusa (sadržaj organskih kiselina, sadržaj biogenih amina, sadržaj askorbinske kiseline, senzorske karakteristike).

3.2.16 Metod odzivne površine- RSM - Response Surface Methodology

Metoda odzivne površine (RSM) je efikasan alat za optimizaciju tehnoloških procesa. Prednost RSM je u tome što je potreban manji broj eksperimentalnih podataka da bi se obezbedio

dovoljan broj informacija za određivanje statistički validnih rezultata. Time se smanjuju troškovi izvođenja velikog broja eksperimenata. Metoda RSM je skup matematičkih i statističkih postupaka koja se koristi za formiranje empirijskih modela i analizu procesa. Cilj je da se na osnovu pažljivo odabranog eksperimentalnog plana optimizuju odzivi sistema (y) koji zavise od više nezavisno promenljivih parametara (x_1, x_2, \dots, x_k) (Montgomery & Runger 2009; Montgomery 2013)

Obično je odzivna funkcija y nepoznata i u opštem obliku se može napisati (Meyers & Montgomery 2002)

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_k) + e \quad [3.4]$$

gde su x_1, x_2, \dots, x_k nezavisno promenljive veličine, y je odziv ili zavisno promenljiva veličina, a e predstavlja ostale uticajne faktore koji nisu obuhvaćeni funkcijom f (greška merenja, uticaj drugih faktora koji ne ulaze u RSM jednačine...). Promenljive x_1, x_2, \dots, x_k u jednačini 3.4 se uobičajeno predstavljaju pravim vrednostima (npr. 45°C), jer su izražene u mernim jedinicama date nezavisno promenljive. U velikom broju radova gde se primenjuje RSM metoda koriste se kodirane vrednosti ulaznih veličina koje su uglavnom bezdimenzione i tada funkcija ima oblik:

$$\eta = (x_1, x_2, \dots, x_k) \quad [3.5]$$

Svaka od jednačina naziva se funkcija odziva, a njen geometrijski prikaz se naziva odzivna površina (Cox & Reid 2002; Montgomery *et al.* 2003). Odzivi sistema se predstavljaju grafički preko trodimenzionalnih površina ili preko dvodimenzionalnih konturnih grafika. Izbor adekvatnog eksperimentalnog plana je kritična tačka pri primeni RSM metode. Najčešće se u istraživanjima koriste sledeći eksperimentalni planovi: Box-Behnken dizajn (BBD), centralni kompozitni plan (CCD), potpuni eksperimentalni plan i dr. Kao veoma pogodan oblik odzivne funkcije pokazao se polinom s obzirom da se kvalitet fitovanja eksperimentalnih podataka može poboljšati povećanjem stepena polinoma. U većini slučajeva koriste se polinomi prvog ili drugog stepena. Ovakvi modeli su posebno pogodni za rešavanje optimizacionih problema s obzirom da je njima moguće opisati interakcije velikog broja faktora, a i procena kvaliteta fitovanja polinomskih modela se može lako da se odredi. Osnovni nedostatak primene polinomskih modela je nemogućnost predviđanja vrednosti odziva izvan ispitivanog opsega procesnih

parametara. Najjednostavniji polinom koji može da se primeni je polinom prvog reda koji u obzir uzima samo linearne uticaje pojedinačnih faktora:

$$\eta = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 \quad [3.6]$$

Ukoliko postoji interakcija između ispitivanih faktora, jednačina dobija sledeći oblik:

$$\eta = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad [3.7]$$

Zaopisivanje odabranih odziva, ako je krajnji cilj postupka optimizacija procesa onda je neophodno da se koristi polinom drugog reda. Tada svaki od posmatranih procesnih parametara mora da ima tri ili pet nivoa vrednosti u zavisnosti od primenjenog eksperimentalnog plana. Polinom drugog stepena sa dve promenljive ima oblik:

$$\eta = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad [3.8]$$

Polinom drugog stepena se često koristi u RSM i ima sledeće prednosti:

- Polinom drugog stepena je fleksibilna funkcija i može imati različite oblike;
- Parametri jednačine (β_i) se jednostavno određuju. Metoda najmanjeg kvadrata može da se primeni u ovu svrhu.

Osnovni cilj primene RSM je određivanje optimalnih parametara za opisivanje datog procesa. Ukoliko ima više odziva koje je potrebno optimizovati neophodno je naći kompromisno rešenje, tj. naći optimalne uslove za koje će svi posmatrani odzivi biti u definisanom opsegu (Oehlert 2000). Drugi cilj primene RSM je utvrđivanje promene odziva sistema sa promenom procesnih parametara. Metoda RSM je razvijena od strane Box-a i Draper-a (1987) i od tada se često primenjuje za modelovanje različitih procesa (Box & Draper 1987). Ovaj postupak je korišćen za modelovanje i evaluaciju efektivnih koeficijenata difuzije tokom osmotske dehidracije banane (Merciali *et al.* 2011). Uspešna primena metode odzivne površine demonstrirana je u mnogim radovima, za modelovanje i optimizaciju procesa osmotske dehidracije zelene paprike za optimizaciju osmotske dehidracije krompira (Eren & Kaymak-Ertekin 2007; Ozdemir *et al.* 2008) kao i za optimizaciju osmotske dehidracije jabuke u melasi šećerne repe (Koprivica *et al.* 2013a). Detaljno je predstavljena primena RSM metode za optimizaciju osmotske dehidracije

različitih poljoprivrednih kultura (Madamba 2002). Prenos mase tokom osmotske dehidracije mrkve i jabuke u rastvorima saharoze i melasi šećerne repe uspešno je evaluiran primenom postupka odzivne površine (Mišljenović *et al.* 2012a; Koprivica *et al.* 2013b). Postupak odzivne površine je uspešno primenjen kod optimizacije proseca osmotske dehidracije različitih vrsta voća, povrća i mesa (Ozdemir *et al.* 2008; Koocheki & Azarpazhooh 2010; Vieira *et al.* 2012; An *et al.* 2013; Ćurčić *et al.* 2013).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1 Karakterizacija svežeg *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

U prvom delu doktorske disertacije svež kupus populacije *Futoški* beli i hibrid *Bravo* je analiziran u pogledu hemijskih, fizičkih i senzorskih svojstava, u cilju procene njihove pogodnosti i odabira za pojedine tehnološke procese.

Osobine *Futoškog* kupusa: prispeva kasno pa je pogodan kako za fermentaciju, tako i za svežu potrošnju. Lisna rozeta je tamnije zelene boje, sa prosečnim brojem oko 10 listova u rozeti. Rozeta je poluuspravnog oblika, polusedeća sa ravnim, slabo nazubljenim obodom lista. Glavice su rastresite, listovi su tanki, lako savitljivi, elastični. Nervatura lista je slabije naglašena, što doprinosi lepšem izgledu fermentisane glavice, a sočnijoj strukturi svežeg ribanca.

Osobine hibrida *Bravo*: glavice su okrugle, plavkasto zelene boje spoljnih listova, težine glavice oko 2-3 kg, dužina vegetacije mu je od 90-95 dana, preporučeno vreme berbe u jesen. Hibrid *Bravo* je holandski hibrid popularan uglavnom za potrošnju u svežem stanju, a koristi se i za fermentaciju. Hibrid *Bravo* se odlikuje čvrsto zbijenim glavicama, dobrim prinosom i ujednačenim morfološkim karakteristikama.

4.1.1 Hemijske karakteristike svežeg *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

U Tabeli 4.1 prikazane su hemijske karakteristike i deskriptivna statistika svežeg *Futoškog* belog i hibrida *Bravo* po parcelama. Analiziran je sadržaj ukupnog šećera, ukupne suve materije (ukupna SM), rastvorljive suve materije (rastvorljiva SM), sadržaj mineralnih materija, proteina i celuloze. Sadržaj ukupnog šećera i sadržaj rastvorljive suve materije predstavljaju osnovni parametar kvaliteta i tehnološke zrelosti povrća odnosno kupusa. Dobijena srednja vrednost za sadržaj ukupnog šećera u *Futoškom* kupusu je 5,94%, a u hibridu *Bravo* 6,14%, dok je prisutna varijacija u rezultatima po parcelama, jer je minimalni sadržaj šećera za *Futoški* 4,26%, za *Bravo* 4,23% dok je maksimalna vrednost sadržaja šećera u *Futoškom* 8,06%, a u hibridu *Bravo* 7,56%. Obe vrste kupusa zadovoljavaju minimalni kriterijum sadržaja šećera za proces fermentacije od 3 do 4 % (Niketić 1988; Malinowska-Pan'czyk 2012). Sadržaj ukupne suve

materije ukazuje na stepen zrelosti kupusa, Sadržaj ukupne i rastvorljive suve materije bili su za *Futoški* 9,34 % i 7,20%. Slični rezultati su dobijeni u za *Bravo* gde su ukupna i rastvorljiva suva materija 9,46 i 7,39%. Sadržaj ukupnih proteina i mineralnih materija je ujednačen kod obe vrste kupusa i za proteine iznosi 1,50% i 1,35% za *Futoški* i hibrid *Bravo*, odnosno 0,63% i 0,64% za mineralne materije. Dobijene vrednosti za navedene hemijske parametre su u skladu sa navodima nekih autora (Holzapfel *et al.* 2003; Lu *et al.* 2003; Martínez *et al.* 2010) Kod hibrida *Bravo* nađeno je 1,06% celuloze, dok je *Futoški* sadržavao prosečno 0,58%. Hemijske karakteristike svežeg kupusa su kodirane kao C₁-C₆ i dobijene su standardne ocene-engl. Standard Scores (SS). *Futoški* kupus je postigao bolju ocenu SS=0,82, dok je hibrid *Bravo* postigao SS=0,73. Kao što se vidi u tabeli 4.1 polaritet za sadržaj šećera je +, jer je veći sadržaj šećera povoljan za fermentaciju (Malinowska-Pan'czyk 2012). Veći sadržaj proteina je negativan za proces fermentacije, polaritet - (Niketić 1988), mineralne materije su poželjne sa stanovišta uticaja na ljudsko zdravlje, polaritet + (Martínez-Ballesta *et al.* 2010), dok je kod kupusa u tehnološkoj zrelosti sadržaj ukupne suve materije između 7 i 10% (Wennberg *et al.* 2002).

Tabela 4.1 Deskriptivna statistika hemijskih karakteristika (%) *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

	Sadržaj ukupnog šećera	Ukupna SM	Rastvorljiva SM	Min. materije	Celuloza	Ukupni proteini
Kodovi	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
<i>Futoški</i> , SS=0,82 (sa parcele 9), N=33 uzorka						
Srednja vr.	5,94	9,34	7,20	0,63	0,58	1,50
St. dev	1,09	0,99	0,72	0,07	0,41	0,34
Min.	4,16	7,00	5,33	0,51	0,07	0,96
Max.	8,06	12,05	8,30	0,77	1,85	2,28
Varijansa	1,18	0,99	0,52	0,00	0,17	0,11
<i>Bravo</i> , SS=0,73 (sa parcele 34), N=10 uzoraka						
Srednja vr.	6,14	9,46	7,39	0,64	1,09	1,35
St. dev	1,29	0,76	0,91	0,09	0,58	0,19
Min.	4,13	8,17	5,50	0,51	0,30	1,14
Max.	7,56	10,48	8,13	0,84	1,78	1,79
Varijansa	1,66	0,58	0,82	0,01	0,34	0,04
Polaritet	+	7-10	6-8	+	-	-

Polaritet: “+” = kriterijum “što veći, to bolji”, “-“ = kriterijum “što manji, to bolji”.

4.1.2 Fizičko-morfološke karakteristike *Futoškog belog kupusa i hibrida Bravo*

U Tabeli 4.2 prikazana je deskriptivna statistika za fizičko-morfološke karakteristike glavica *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Merena je masa glavice, zatim prečnik glavice, visina glavice i dužina kočana. U poslednjoj koloni prikazan je odnos visine i prečnika glavice. Iz tabele se vidi da je kod hibrida *Bravo* taj odnos bliži jedinici i malo preko jedinice, dok je kod *Futoškog* taj odnos ima niže vrednosti od 0,8 do 0,9. Iz toga može da se zaključi da hibrid *Bravo* ima pravilniji okrugli oblik glavice, dok *Futoški* beli kupus ima blago spljošten oblik glavice što je u skladu sa njihovim sortnim karakteristikama (Červenski *et al.* 2003).

Tabela 4.2 Deskriptivna statistika za fizičke karakteristike *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

	Masa glavice (g)	Prečnik glavice (cm)	Visina glavice (cm)	Dužina kočana (cm)	Odnosvisine iprečnika glavice
Kodovi	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅
<i>Futoški</i> ,SS=0,88 (sa parcele 33),N=33uzorka					
Srednjavr.	1797,95	17,67	14,98	6,89	0,85
St.dev	434,80	1,47	1,35	1,08	0,04
Min.	1015,50	14,75	12,25	4,50	0,76
Max.	2651,25	20,00	17,50	9,25	0,91
Varijansa	189047	2,18	1,83	1,17	0,00
<i>HibridBravo</i> ,SS=0,77 (sa parcele 35), N=10uzorka					
Srednjavr.	1383,75	14,55	14,02	6,78	0,97
St.dev	458,78	1,51	1,55	1,06	0,07
Min.	620,00	11,88	10,63	4,75	0,85
Max.	2244,50	16,88	16,38	8,25	1,08
Varijansa	210478	2,27	2,40	1,11	0,00
Polaritet	1500-2000	15-19	12-15	-	-

Polaritet: “+” = kriterijum “što veći, to bolji”, “-“ = kriterijum “što manji, to bolji”, numerički izražene vrednosti predstavljaju raspone optimalnih vrednosti date merene veličine

4.1.3 Senzorske osobine svežeg *Futoškog belog kupusa i hibrida Bravo*

Senzorska analiza predstavlja važan segment analize nekog proizvoda ili sirovine pored hemijskih i fizičkih karakteristika. Senzorskom evaluacijom hrane se dobija kompletna analiza teksturnih osobina hrane uz pomoć ljudskih čula. Mnogi od procesa koji se dešavaju tokom

konzumiranja hrane kao što su usitnjavanje hrane, mešanje i vlaženje uz pomoć pljuvačke, deformacije hrane, promene u temperaturi i dr. se registruju putem čula i teško ih je instrumentalno izmeriti. Tabela 4.3 prikazuje rezultate senzorske evaluacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. *Futoški* kupus i hibrid *Bravo* su senzorski ocenjeni na 13 deskriptora, odabranih tako da ukazuju na njihovu karakterizaciju i pogodnost glavica za proces fermentacije. Analizirani su oblik glavice (kao svojstven *Futoškom* 1, nesvojstven 0), prisustvo ljubičaste boje (0-da, 1-ne) pre pokrivenost glavice listom (pokriveno listom preko 50 % površine glavice-1, pokriveno ispod 50% površine glavice-0), boja spoljašnjih listova, nervatura lista, debljina lista, elastičnost lista, boja na preseku glavice, boja oko korena, zbijenost glavice, vlažnost, slast, ljutina. Vrednost za određeno senzorsko svojstvo prikazana je po intezitetu na skali od 1 do 15. Srednja vrednost za boju spoljašnjeg lista, za nervaturu lista i za elastičnost je manja za *Futoški* nego za *Bravo* i to 4,46, 4,50 i 5,28 za *Futoški*, dok su te vrednosti za hibrid 10,41, 11,36 i 10,65. *Futoški* kupus je elastičniji (9,37), ima svetliju boju na preseku (3,15) u odnosu na hibrid *Bravo* (elastičnost 3,50 i boja na preseku 4,16). Hibrid *Bravo* ima značajno veću zbijenost glavice, odnosno listovi su kompaktno složeni pri formiranju glavice (12,62) u odnosu na *Futoški* (5,89) (Červenski *et al.* 2006).

Tabela 4.3 Deskriptivna statistika za senzorske osobine *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

Kodovi	Oblik	Prisustvo	Pokrivenost	Boja	Nervatura	Debljina	Elastičnost	Boja na	Boja	Zbijenost	Vlažnost	Slast	Ljutina
	ljubičaste	listovima	listovima	spoljašnjih	lista	lista	lista	preseku oko	glavice	glavice			
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈	S ₉	S ₁₀	S ₁₁	S ₁₂	S ₁₃
<i>Futoški</i> , SS=0,85 (sa parcele 9), N=33 uzorka													
Srednja vr.	0,84	0,93	0,94	4,46	4,50	5,28	9,37	3,15	2,77	5,89	6,05	7,97	3,09
St. dev	0,15	0,17	0,13	1,53	1,26	2,00	1,95	1,09	1,27	2,46	1,76	1,72	1,95
Min.	0,50	0,25	0,50	1,87	2,33	1,97	4,70	1,45	1,23	2,13	3,13	4,03	0,35
Max.	1,00	1,00	1,00	8,77	7,63	9,30	12,50	6,13	6,87	10,43	9,35	11,40	8,37
Varijansa	0,02	0,03	0,02	2,35	1,59	4,00	3,80	1,20	1,60	6,05	3,10	2,96	3,80
Hibrid <i>Bravo</i> , SS=0,36 (sa parcele 34), N=10 uzoraka													
Srednja vr.	0,13	1,00	0,45	10,41	11,36	10,65	3,50	4,16	4,03	12,62	4,99	6,24	6,19
St. dev	0,18	0,00	0,39	1,14	1,23	2,59	1,89	2,01	1,43	0,87	2,80	2,04	2,93
Min.	0,00	1,00	0,00	8,13	9,05	4,77	1,83	1,80	2,20	10,93	2,20	3,20	2,33
Max.	0,50	1,00	1,00	11,65	13,00	12,85	7,45	7,73	6,30	13,70	10,38	9,47	11,03
Varijansa	0,03	0,00	0,15	1,31	1,51	6,71	3,56	4,05	2,06	0,75	7,86	4,17	8,58
Polaritet	1	0	1	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-

Polaritet: “+” = kriterijum “što veći, to bolji”, “-“ = kriterijum “što manji, to bolji”, numerički izražene vrednosti predstavljaju optimalne vrednosti date merene veličine

4.1.4 Instrumentalna analiza teksture svežeg *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

U Tabeli 4.4 prikazani su rezultati analize teksture listova svežeg *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Sila koja je potrebna da bi se probio list predstavlja meru čvrstine listova dok rastojanje koje prelazi sonda do momenta pucanja lista predstavlja intenzitet elastičnosti lista. Raspon između najniže i najviše vrednosti za silu kod *Futoškog* je min. 396,08 g i maks. 1351,17g, dok je kod hibrida *Bravo* taj raspon od 654,54g do 1421,58g. Srednja vrednost za čvrstinu svežih listova hibrida *Bravo* (1064,09mm) je značajno veća od vrednosti za sveži *Futoški* kupus (727,8mm), što se može povezati sa većim sadržajem celuloze i većom čvrstinom listova kod hibrida *Bravo* (tabela 4.4). Elastičnost je poželjna osobina za listove kupusa kao i tanka nežna struktura listova u kulinarskoj praksi na našim prostorima (Pederson *et al.* 1962). To se reflektuje i na odabir sorte kupusa za proces spontane fermentacije (Balkaya *et al.* 2005).

Tabela 4.4. Deskriptivna statistika za teksturne osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

	Sila (g)	Rastojanje (mm)
<i>Futoški</i> , SS=0,95, (parcela 31) N=33		
Srednja vr.	727,83	78,86
St. dev	232,20	0,63
Min.	396,08	77,55
Max.	1351,17	79,97
Varijansa	53914,61	0,40
<i>Hibrid Bravo</i> , SS=0,83, (parcela 35) N=10		
Srednja vr.	1064,09	79,34
St. dev	237,66	0,53
Min.	654,54	78,51
Max.	1421,58	80,25
Varijansa	56484,28	0,28
Polaritet	-	+

4.1.5 Standardne ocene za hemijske, fizičke i senzorske osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

Analizom SS vredosti za hemijske, fizičke, senzorske i teksturne osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, zaključeno je da je *Futoški* kupus sa parcele 9 pokazao najveće SS vrednosti za hemijske i senzorske osobine (0,82 i 0,85, respektivno), dok je hibrid *Bravo* pokazao najbolje vrednosti SS za hemijske i senzorske osobine sa parcele 34 (0,77 i 0,37, respektivno) (Tabele 4.1 i 4.4.) Najbolje SS vrednosti za fizičke i teksturne osobine za hibrid *Bravo* su dobijene na parceli 35 (0,77 i 0,83, respektivno), dok je najveća vrednost SS za fizičke osobine *Futoškog* kupusa dobijena na parceli 33, a najveća vrednost SS za teksturne osobine na parceli 31 (0,88 i 0,95, respektivno) (Tabele 4.2 i 4.3.)

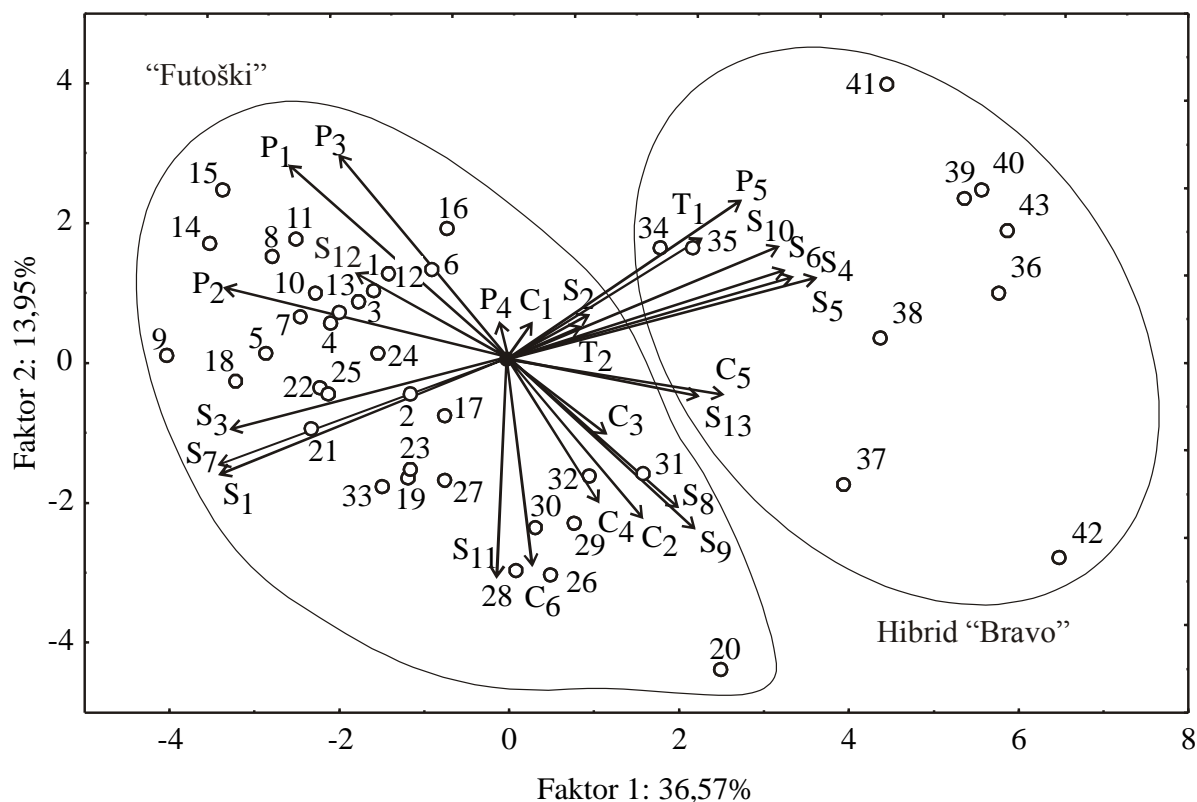
Iz prikazanih podataka se vidi da je *Futoški* kupus dobio mnogo bolje ocene od hibrida *Bravo*. Sabiranjem pojedinačnih ocaea za hemijske, fizičke, senzorske i teksturne osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, dobijene su optimalne SS vrednosti i izabrane su najbolje parcele. Zaključeno je da je najbolji *Futoški* kupus uzgajan na parceli 9 (zbirna ocena je bila 0,76), a da je najbolji hibrid *Bravo* uzgajan na parceli 34 (zbirna ocena je bila 0,56).

4.1.6 Analiza glavnih komponenta za hemijske, fizičke i senzorske osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

U prvom delu disertacije obavljena je karakterizacija dve vrste kupusa, populacije belog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, a uporedno je ispitivana i pogodnost tehnološke procese. U ovom ispitivanju korišćeni su rezultati različitih hemijskih, fizičkih i senzorskih osobina za ocenjivanje pogodnosti za biološku fermentaciju. Analiza glavnih komponenta (engl. Principal Component Analysis – PCA) primenjena je da izvrši klasifikaciju i podelu uzoraka glavica kupusa. Rezultati ove analize su upoređivani sa analizom standardne ocene (engl. Standard Score analysis – SS), koja je omogućila kompletniju komparaciju između posmatranih uzoraka, radi određivanja optimalnog uzorka (sa određene parcele), na osnovu eksperimentalnih merenja (hemijskih, fizičkih i senzorskih osobina). PCA omogućava značajno smanjivanje broja promenljivih i detekciju strukture i odnosa između merenih parametara. Za vizuelizaciju trendova procesnih promenljivih (merenih parametara-deskriptora), njihovih korelacija i vrednosti merenih vrednosti za određene uzorke kupusa, korišćeni su PCA grafici (engl. scatter plot) koji su prikazani za prve dve faktorske promenljive, koje su dobijene iz matrice eksperimentalnih podataka (slika 4.1). Sa slike 4.1 vidi se da postoji fino odvajanje između

uzoraka dve vrste kupusa, na osnovu eksperimentalnih merenja (hemijskih, fizičkih i senzorskih). Pokazatelj kvaliteta ove analize je da su prve dve faktorske koordinate obuhvatile 50,52% ukupne varijabilnosti eksperimentalnih promenljivih, što se smatra dovoljnim za prezentaciju eksperimentalnih rezultata.

PCA grafik je pokazao dosta dobro razdvajanje između uzoraka *Futoškog* i hibrida *Bravo*, za koje se pokazalo da se najviše razlikuju zbog promenljivih koje su locirane na desnoj strani grafika, odnosno C_5 (sadržaja celuloze), P_5 (odnosa visine i širine glavice kupusa), kao i nekoliko parametara senzorske analize (S_4 – boja spoljnih listova, S_5 – nervatura listova, S_6 – debljina listova, S_{10} – zbijenost glavice i S_{13} - ljutina). Dobijene više vrednosti za ove karakteristike se smatraju nepoželjnim, a uzorci koji imaju najmanje vrednosti ovih parametara (C_5 , P_5 , S_4 , S_5 , S_6 , S_{10} i S_{13}), koje se nalaze na levoj strani PCA grafika smatraju se povoljnijim za proces fermentacije od ostalih uzoraka. Uzorci koji se nalaze na levoj strani grafika takođe pokazuju bolje vrednosti u analizi standardnih ocena (SS), koje se kreću u rasponu od 0,67-0,76. Najpovoljniji uzorak za *Futoški* kupus je sa parcele 9, dok je kupus sa parcele 34 najbolji za hibrid *Bravo*. Dobijene vrednosti hemijskih osobina za optimalni uzorak sa parcele “9” bile su: $C_1=7,20$; $C_2=9,09$; $C_3=7,50$; $C_4=0,64$; $C_5=0,17$ and $C_6=1,19$, dok su vrednosti fizičkih osobina bile: $P_1=2,0 \cdot 10^3$; $P_2=19,75$; $P_3=16,25$; $P_4=6,50$; $P_5=0,82$. Senzorske osobine optimalnog kupusa sa parcele “9” bile su: $S_1=1,00$; $S_2=0,50$; $S_3=1,00$; $S_4=1,87$; $S_5=2,33$; $S_6=1,97$; $S_7=11,98$; $S_8=1,63$; $S_9=1,60$; $S_{10}=2,57$; $S_{11}=5,77$; $S_{12}=7,68$ i $S_{13}=4,97$. Posmatrane osobine optimalnog uzorka hibrida “*Bravo*”, sa parcele “34” bile su: $C_1=7,20$; $C_2=8,17$; $C_3=7,83$; $C_4=0,51$; $C_5=0,30$; $C_6=1,30$; $P_1=1,5 \cdot 10^3$; $P_2=16,00$; $P_3=13,63$; $P_4=6,00$; $P_5=0,85$; $S_1=0,25$; $S_2=1,00$; $S_3=0,75$; $S_4=8,90$; $S_5=9,05$; $S_6=10,33$; $S_7=4,30$; $S_8=2,93$; $S_9=3,50$; $S_{10}=12,57$; $S_{11}=3,60$; $S_{12}=5,37$ i $S_{13}=3,67$. Najizrazitije razlike između uzoraka *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* primećena je između gore pomenutih promenljivih C_5 , P_5 , S_4 , S_5 , S_6 , S_{10} i S_{13} , posebno pri senzorskoj analizi.



Slika4.1 PCA biplot grafik za karakteristike različitih uzoraka glavice kupusa

Nakon odabira *Futoškog* kupusa sa parcele 9 i hibrida *Bravo* sa parcele 34, kupus je dalje podvrgnut procesu spontane fermentacije u glavicama. Hemijski sastav i osobine kupusa predviđenog za fermentaciju prikazan je u Tabeli 4.5.

Tabela 4.5 Hemijski sastav svežeg *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* odabranih za proces fermentacije i osmotske dehidratacije

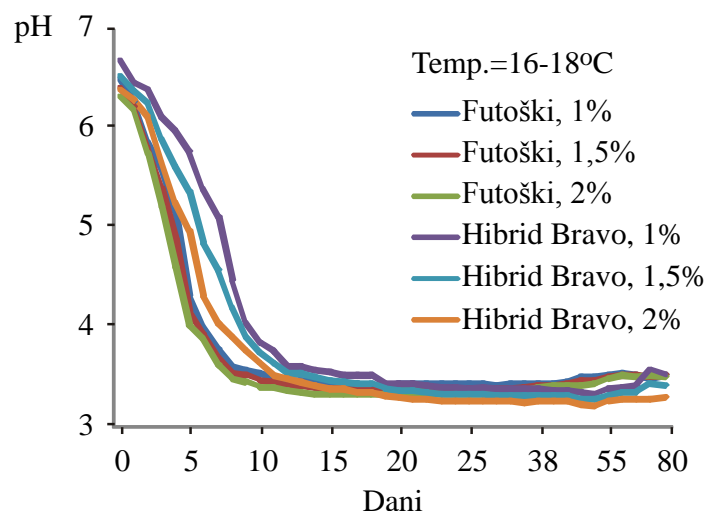
	<i>Futoški</i>	Hibrid <i>Bravo</i>
Ukupna suva materija (%)	9,78	9,82
Ukupni šećeri (%)	5,67	4,13
Saharoza (%)	0,41	0,25
Glukoza (%)	2,85	2,11
Fruktoza (%)	2,41	1,76
L-askorbinska kiselina (mg/kg)	10,76	8,82
Mlečna kiselina (mg/kg)	nd	nd
Sirćetna kiselina (mg/kg)	nd	nd
Oksalna kiselina (mg/kg)	2630	3332
Jabučna kiselina (mg/kg)	562	300
Limunska kiselina (mg/kg)	746	764
Ćilibarna kiselina (mg/kg)	64,3	58,8
Mravlja kiselina (mg/kg)	2040	1911
Buterna kiselina (mg/kg)	nd	nd
Propionska kiselina (mg/kg)	nd	nd
Putrescin (mg/kg)	nd	nd
Kadaverin (mg/kg)	nd	nd
Tiramin (mg/kg)	nd	nd
Putrescin (mg/kg)	nd	nd
Spermidin (mg/kg)	nd	nd

4.2 Proces fermentacije *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

4.2.1 promena pH vrednosti tokom fermentacije

Vrednost pH je jedan od osnovnih parametara fermentacije kupusa koji se analizira u skladu sa dobrom proizvođačkom praksom. Na osnovu pH vrednosti se procenjuje dinamika procesa i određuje završna tačka fermentacije (Peñas *et al.* 2010). Završna tačka fermentacije je kod *Futoškog* između 3,3 i 3,4 pH vrednosti, dok je kod hibrida zabeleženo od 3,16-3,2. Zabeležene

najniže pH vrednosti *Futoškog* kupusa su slične sa onim dobijenim fermentacijom kupusa ribanca-sauerkraut (Fleming & McFetters 1985; Viander *et al.* 2003; Johanningsmeier *et al.* 2007), dok su vrednosti pH za hibrid *Bravo* nešto niže od navedenih. Na Slici 4.2 prikazana je promena pH vrednosti tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* na temperaturi 16-18°C. Najbrži pad pH vrednosti zabeležen je kod *Futoškog* kupusa fermentisanog sa 2% soli. Pod tim uslovima pH vrednost je pala ispod 4 šestog dana fermentacije. Najsporiji pad pH vrednosti je prisutan kod hibrida tokom fermentacije sa 1% soli. U tom slučaju pH vrednost ispod 4 je dostignuta tek nakon 10-og dana fermentacije. Kod *Futoškog* kupusa fermentisanog sa sve tri koncentracije soli nakon 21 dana više ne dolazi do daljeg pada pH vrednosti, odnosno ona nakon tog vremena stagnira, što ukazuje na postizanje završne tačke fermentacije. Hibrid *Bravo* beleži dalji pad pH vrednosti i nakon tog perioda, sve do negde 50-og dana fermentacije, što ukazuje na sporiji tok fermentacije hibrida *Bravo*.

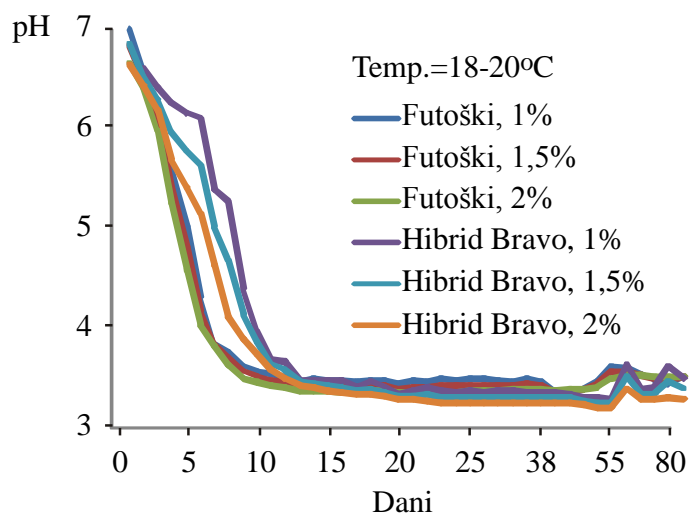


Slika 4.2 Promena pH vrednosti tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u zavisnosti od koncentracije soli na temperaturi 16-18°C

Na Slici 4.3 Prikazano je opadanje pH vrednosti *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* tokom fermentacije na 18-20°C.

Kod fermentacije na 18-20°C slična je tendencija opadanja pH vrednosti u zavisnosti od koncentracije soli kao i kod niže temperature. *Futoški* kupus sa 2% soli pH vrednost ispod 4 dostiže 5-og dana fermentacije, a hibrid *Bravo* sa 1% soli nakon 9-og dana fermentacije. Na Slici 4.4 prikazana je promena pH vrednosti na najvišoj temperaturi od 20-22°C. Pad pH vrednosti kod *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* se odvija najbrže u odnosu na sve temperature. Kod

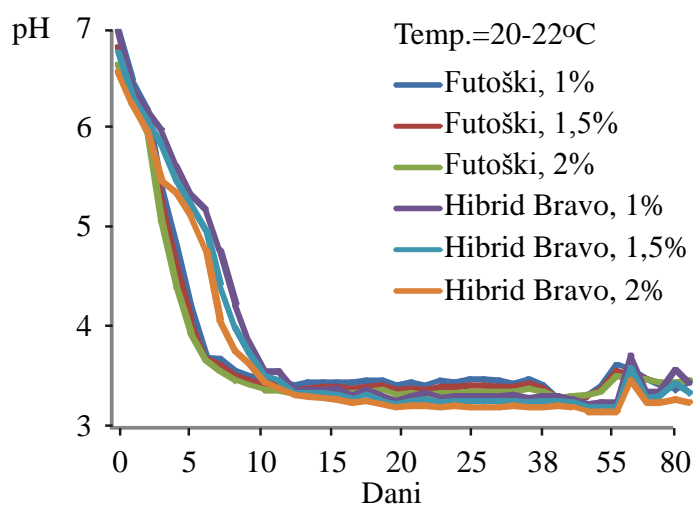
Futoškog kupusa nakon 20-og dana pH više ne pada, dok kod hibrida *Bravo* po pitanju završne tačke fermentacije nema razlike u odnosu na dve prethodne temperature.



Slika 4.3 Promena pH vrednosti tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u zavisnosti od koncentracije soli na temperaturi 18-20°C

Kod *Futoškog* nakon 40 dana i kod hibrida nakon 50 dana fermentacije, dolazi do povećanja pH vrednosti na svim analiziranim temperaturama. Početak rasta pH vrednosti nakon završne tačke fermentacije ukazuje na nepovoljne procese u fermentisanom kupusu što vremenom dovodi do formiranja proizvoda nezadovoljavajućeg kvaliteta (Pundir & Jain 2010). Pad pH vrednosti tokom fermentacije direktno zavisi od količine i odnosa organskih kiselina koje nastaju, što je povezano sa količinom fermentujućih šećera u svežem kupusu (Holzapfel *et al.* 2003). Pored toga veća koncentracija soli i viša temperatura procesa pospešuju brži pad pH vrednosti (Viander *et al.* 2003; Johanningsmeier *et al.* 2005; Wiander & Palva 2008). Kod hibrida *Bravo* zabeležen je sporiji pad pH vrednosti verovatno zbog sporijeg osmotskog povlačenja vode iz ćelija kupusa pod uticajem dodate soli, usporene fermentacije usled izrazite zbijenosti glavica (Cvetković *et al.* 2012b).

Sa slika 4.2-4.4 primećuje se da je proces promene pH vrednosti tokom fermentacije kupusa veoma intenzivan na početku procesa (prvih desetak dana), a nakon tog vremena promene pH vrednosti su minimalne. Zbog toga je uticaj procesnih parametara na promenu pH vrednosti tokom fermentacije kupusa ispitivan u početku procesa, zaključno sa desetim danom. Primenom metode odzivne površine (RSM) i analize varijanse (ANOVA) ispitivan je uticaj procesnih



Slika 4.4 Promena pH vrednosti tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u zavisnosti od koncentracije soli na temperaturi 20-22°C

promenljivih (koncentracije soli, temperature i vremena trajanja fermentacije) na promenu pH vrednosti tokom fermentacije kupusa. U okviru proračuna RSM, koji je sastavni deo DOE modula (Design of Experiment) programskog paketa StatSoft Statistica 10.0, primenom ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara na formiranje SOP modela pH vrednosti (jednačina 3.4) (engl. Second Order Polynomial - polinom drugog reda), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti). Uticajnost pojedinih članova polinoma iskazana je sumom kvadrata razlika (SS) i F - vrednosti (na osnovu urađenog F - testa). Statistička značajnost članova SOP modela može se određivati i preko t - testa i Pareto - vih karti, koji se takođe računaju u okviru DOE modula (u ovom radu oni nisu prikazani).

U Tabeli 4.6 prikazana je ANOVA za rezultate *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* i vidi se da na formiranje SOP modela (engl. Second Order Polynomial - polinom drugog reda) za pH vrednost statistički značajan uticaj imaju linearni član koncentracije soli, linearni član vremena trajanja procesa i kvadratni član vremena trajanja procesa (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Najznačajniji uticaj ima linearni član vremena trajanja, a linearni član temperature procesa je statistički značajan na nivou $p < 0,10$ samo za formiranje SOP modela pH za hibrid *Bravo*, dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Tabela 4.6 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za pH vrednosti *Futoškog* i hibrida *Bravo*, tokom fermentacije, na početku procesa

pH	<i>Futoški</i>				<i>Bravo</i>		
	df	SS	F	p	SS	F	p
C	1	0,66*	18,37	0,00	3,46*	141,48	0,00
C ²	1	0,00	0,00	1,00	0,00	0,01	0,92
T	1	0,00	0,00	0,97	0,09**	3,82	0,05
T ²	1	0,00	0,00	0,99	0,02	0,98	0,32
t	1	122,85*	3413,82	0,00	99,46*	4061,53	0,00
t ²	1	8,68*	241,30	0,00	0,31*	12,73	0,00
C×T	1	0,00	0,00	0,98	0,12*	4,72	0,03
C×t	1	0,05	1,50	0,22	0,02	0,62	0,43
T×t	1	0,23*	6,30	0,01	0,11*	4,57	0,04
Greška	89		3,20			2,18	
r ²			0,974			0,977	

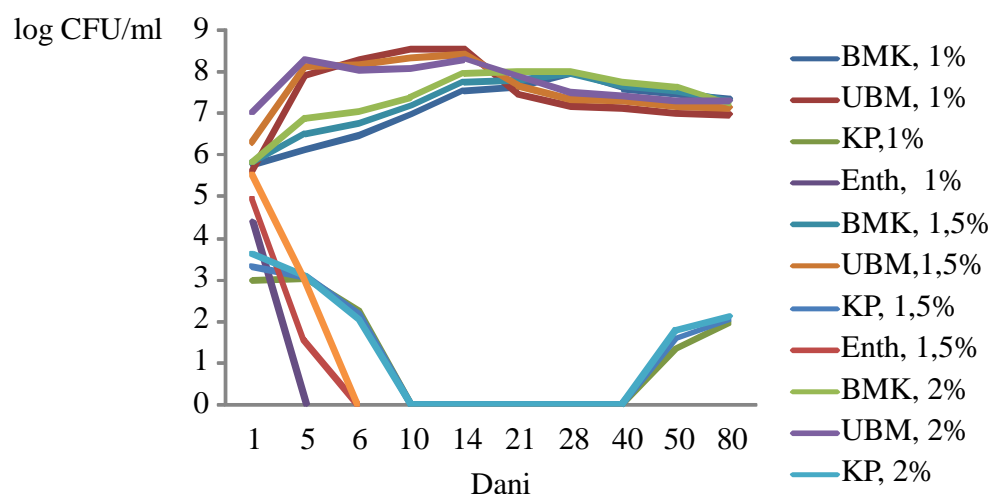
* statistički značajan na nivou $p < 0,05$; ** statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja, C – koncentracija soli, T – temperatura, t - vreme

Vrednosti koeficijenta determinacije R^2 variraju od 0,974-0,977 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

4.2.2 Mikrobiološki parametri fermentacije *Futoškog* belog kupusa i hibrida *Bravo*

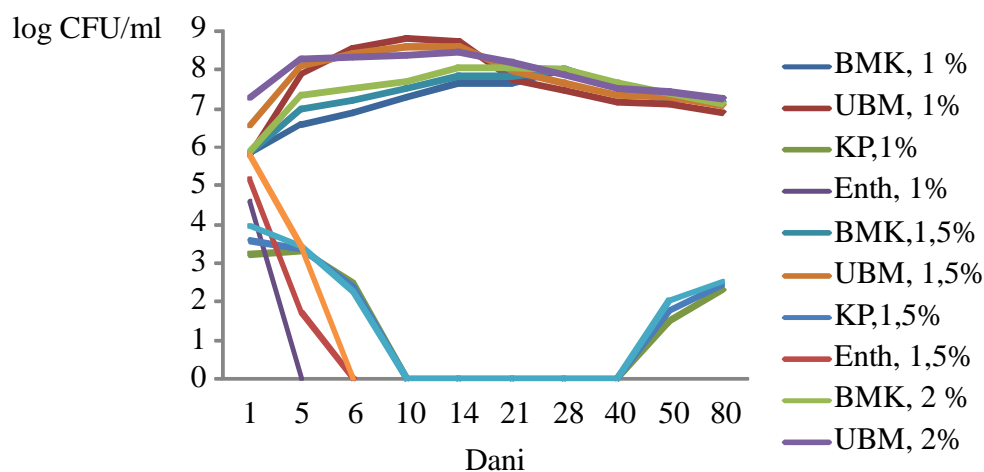
Na slikama 4.5, 4.6 i 4.7 prikazani su mikrobiološki parametri fermentacije *Futoškog* kupusa na različitim temperaturama i u zavisnosti od koncentracije soli. Sa većom koncentracijom soli raste i broj BMK (bakterija mlečne kiseline). Enterobakterije (Enth) i patogeni mikroorganizmi nestaju nakon šest dana kod svih uslova fermentacije. Inicijalno prisutni kvasci i plesni (KP) nisu detektovani nakon desetog dana fermentacije kod svih temperaturnih režima, s tim da kod viših koncentracija soli ranije dolazi do smanjivanja broja kvasaca i plesni. Kombinacija niže pH vrednosti, organskih kiselina i soli daju konzervišući efekat i inhibiraju rast nepovoljnih gram-negativnih mikroorganizama (Harris 1997). Dodata so ima ulogu da spreči razviće nepovoljnih mikroorganizama kao što je *Pseudomonas Flavobacteria*, *Achromobacteri* plesni, a da promoviše rast poželjnih BMK (Holzapfel *et al.* 2003).

Na svim temperaturama dolazi do ponovnog rasta broja kvasaca i plesni nakon 40 dana fermentacije. To su verovatno kvasci i plesni koji se razmnožavaju na površini naliva koji je u dodiru sa vazduhom (Pundir & Jain 2010).



Slika 4.5 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa na temperaturi 16-18°C u zavisnosti od koncentracije soli

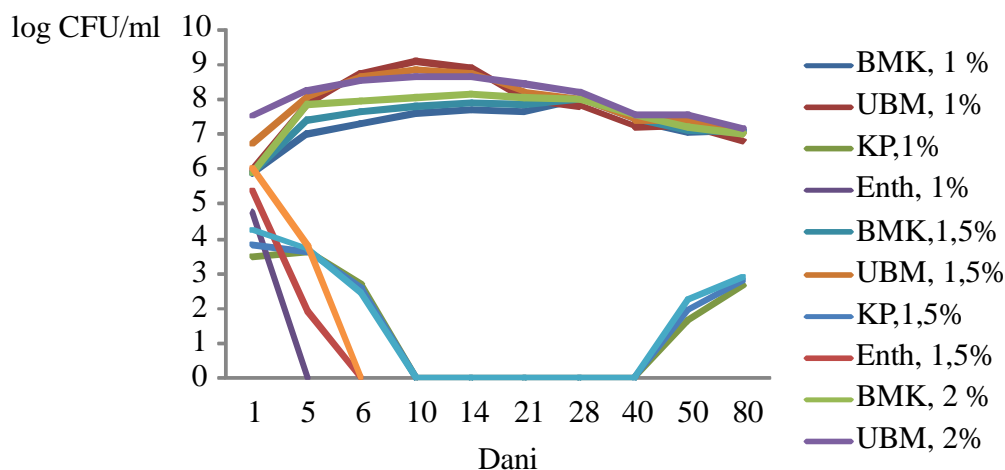
Oksidativni kvasci mogu da koriste organske kiseline kao izvor ugljenika i energije i izazvati kvar fermentisanog kupusa (Maki 2004). Time se smanjuje broj bakterija mlečne kiseline i kiselost što sve razultira povećanjem pH vrednosti u ovom periodu čuvanja nakon dostizanja završne tačke fermentacije što negativno utiče na održivost (Slike 4.2, 4.3 i 4.4).



Slika 4.6 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa na temperaturi 18-20°C u zavisnosti od koncentracije soli

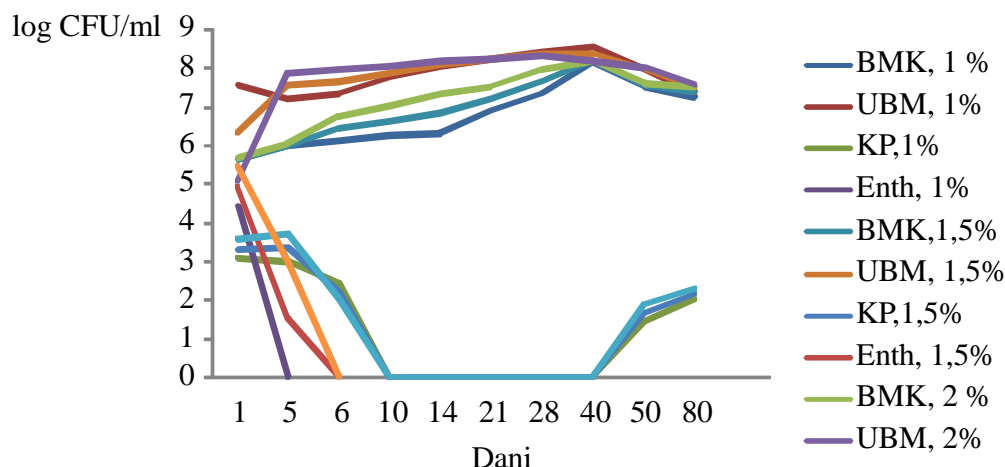
Na slikama 4.8, 4.9 i 4.10 prikazani su mikrobiološki parametri hibrida *Bravo* tokom fermentacije na različitim temperaturama i sa različitim koncentracijama soli. Kod hibrida *Bravo* kod sva tri temperaturna intervala porast broja BMK se odvija sporije i u dužem vremenskom

intervalu, odnosno rast BMK se odvija sve do 40-og dan fermentacije za razliku od *Futoškog* gde broj BMK raste do 28-og dana.

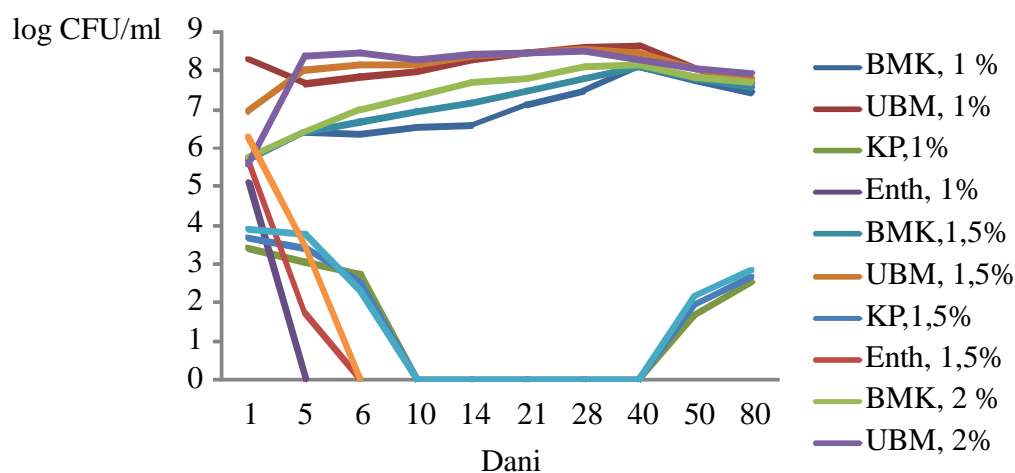


Slika 4.7 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa na temperaturi 20-22°C u zavisnosti od koncentracije soli

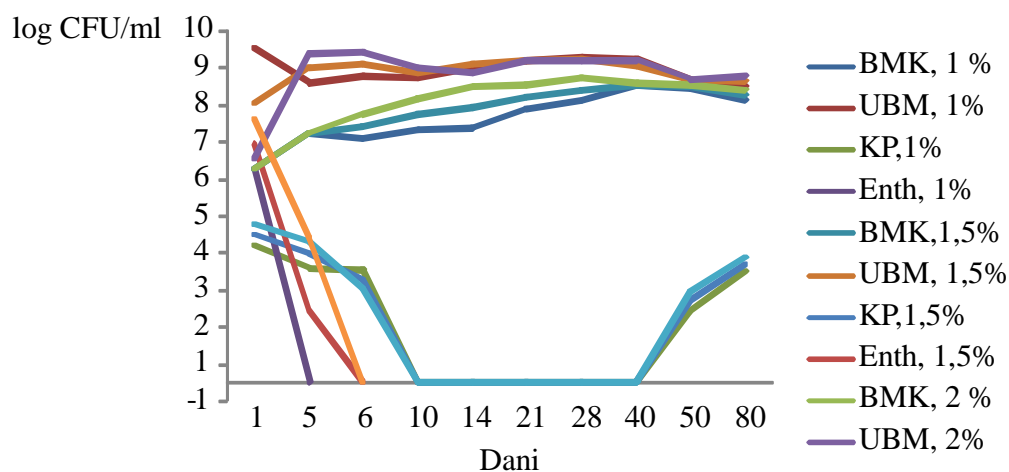
Kod hibrida *Bravo* dostignut je veći broj bakterija mlečne kiseline tokom fermentacije u odnosu na *Futoški* što je naročito izraženo na najvišoj temperaturi. To se može objasniti većom masom hibrida *Bravo* po zapremini glavice, jer je u burad za fermentaciju stala veća masa hibrida u odnosu na *Futoški*, a samim tim više supstrata je bilo dostupno mikroorganizmima. Kod kvasaca i plesni i *Enterobacteriaceae* zabeležena je slična tendencija kao i kod *Futoškog* kupusa.



Slika 4.8 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije hibrida *Bravo* na temperaturi 16-18°C u zavisnosti od koncentracije soli



Slika 4.9 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije hibrida *Bravo* na temperaturi 18-20°C u zavisnosti od koncentracije soli



Slika 4.10 Mikrobiološki parametri (log CFU/ml) tokom fermentacije hibrida *Bravo* na temperaturi 20-22°C u zavisnosti od koncentracije soli

Sa slika 4.5-4.10 primetno je da je proces promene mikrobioloških parametara tokom fermentacije kupusa veoma intenzivan na početku procesa (prvih desetak dana), a nakon tog vremena promene su minimalne sve to četrdesetog dana. Zbog toga je uticaj procesnih parametara na promenu mikrobioloških parametara tokom fermentacije kupusa ispitivan u početku procesa, zaključno sa desetim danom.

Primenom metode odzivne površine i ANOVA-e ispitivan je uticaj procesnih promenljivih (koncentracije soli, temperature i vremena trajanja fermentacije) na promenu mikrobioloških karakteristika tokom fermentacije kupusa. U okviru ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara

na formiranje SOP modela mikrobioloških karakteristika (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

U Tabeli 4.7 prikazana je ANOVA (zbir kvadrata razlika) za mikrobiološke parametre tokom prvog dela procesa fermentacije. Na formiranje SOP modela BMK, UBM, KP i Enth. za *Futoški* i hibrid *Bravo* statistički značajan uticaj imaju linearni član vremena trajanja procesa i kvadratni član vremena trajanja procesa (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Najznačajniji uticaj ima linearni član vremena trajanja, a linearni član temperature procesa je statistički značajan za SOP model BMK, UBM i KP za *Futoški* i hibrid *Bravo*. Linearni član koncentracije soli je statistički značajan u SOP modelu za izračunavanje BMK, UBM i Enth. za *Futoški*, i za BMK i Enth. kod hibrida *Bravo*, dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,736 (za UBM, *Bravo*) do 0,966 (za UBM, *Futoški*) ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva. Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 za BMK kod *Futoškog* je 0,941, *Bravo* 0,932, za KP kod *Futoškog* je 0,964, *Bravo* 0,957, dok je za Enth. za *Futoški* 0,883, *Bravo* 0,899.

Tabela 4.7 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za mikrobiološke karakteristike *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, na početku procesa

	df	<i>Futoški</i>				<i>Bravo</i>			
		BMK	UBM	KP	Enth.	BMK	UBM	KP	Enth.
T	1	12,823*	19,70*	60,785*	127,867*	6,707*	6,946*	57,554*	139,228*
t ²	1	1,549*	4,420*	10,307*	27,032*	0,344*	2,162*	11,052*	33,895*
T	1	2,297*	0,743*	0,935*	0,235	1,240*	5,416*	0,531*	1,351
T ²	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000
C	1	1,263*	0,582*	0,102	7,973*	0,757*	0,247	0,201	7,645*
C ²	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000
t×T	1	0,223**	0,017	0,238**	0,162	0,167*	0,145	0,239	1,461
t×C	1	0,096	2,872*	0,383*	1,839**	0,503*	7,050*	0,319**	1,525
T×C	1	0,003	0,000	0,000	0,043	0,002	0,016	0,001	0,095
Greška	26	0,840	0,740	1,998	15,699	0,537	5,269	2,296	15,965
r ²		0,941	0,966	0,964	0,883	0,923	0,736	0,957	0,899

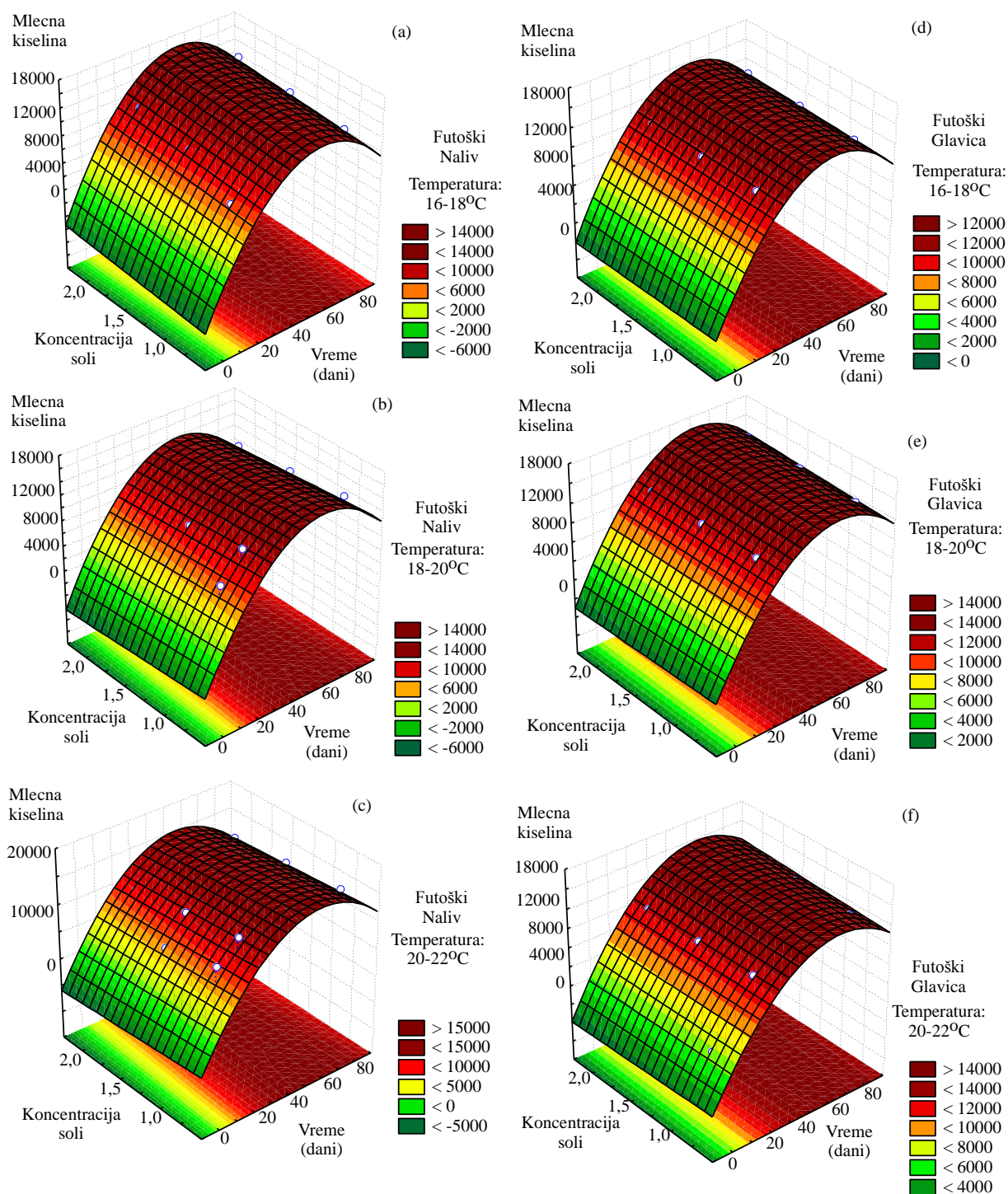
*statistički značajan na nivou p<0,05; **statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

4.2.3 Sadržaj organskih kiselina kao parametara procesa fermentacije

Tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u vremenskim razmacima uzimani su uzorci glavica i naliva i određivan je sadržaj devet organskih kiselina. Analizirane su mlečna, sirćetna, oksalna, jabučna, limunska, ćilibarna, mravlja, buterna i propionska kiselina. Ni u jednom uzorku nisu detektovane buterna i propionska kiselina. Sadržaj ostalih organskih kiselina prikazan je u nastavku.

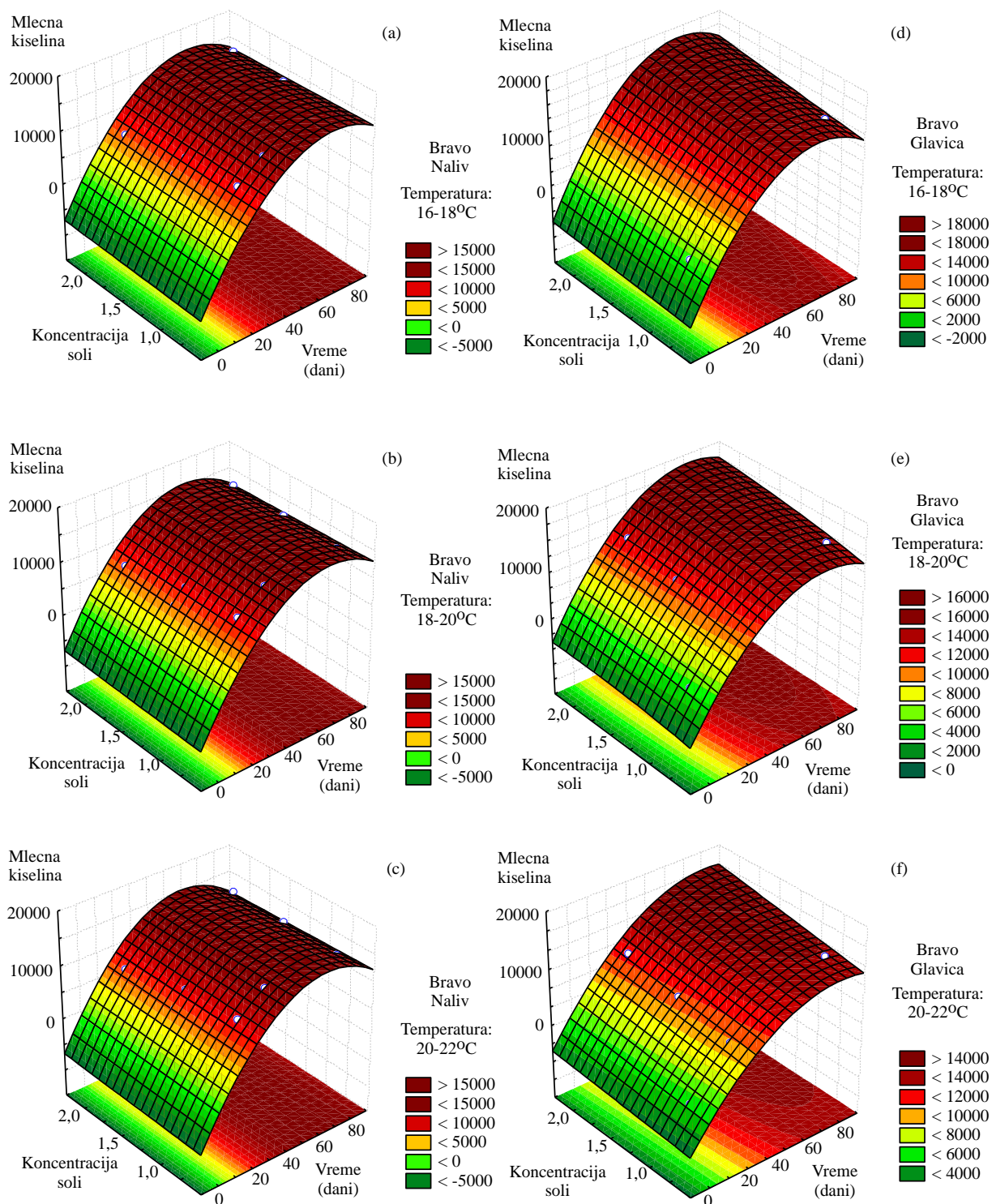
4.2.2.1. Mlečna kiselina

Mlečna kiselina predstavlja dominantnu kiselinu tokom fermentacije kupusa u anaerobnim uslovima. Mlečna kiselina je konzervišući agens. Odnos organskih kiselina utiče na senzorska svojstva i održivost gotovog proizvoda. Mlečna kiselina i druge organske kiseline u sinergiji sa niskom pH vrednošću inhibiraju rast patogenih mikroorganizama (Moon 1983; Adams & Hall 1988; Russell 1992). Sadržaj mlečne kiseline tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u nalivu i glavicama je prikazan na slici 4.11 u zavisnosti od koncentracije dodate soli na određenoj temperaturi fermentacije. Viša temperatura i veća koncentracija soli dovode do višeg sadržaj mlečne kiseline u nalivu i glavici *Futoškog* kao što je slučaj i u fermentisanom kupusu ribancu (Johanningsmeier *et al.* 2005; Peñas *et al.* 2010). Količine mlečne kiseline nađene u glavicama *Futoškog*(12-15 g/l) i hibrida *Bravo*(15-16 g/l) su niže u odnosu na vrednosti za komercijalni ribani fermentisani kupus (Trail *et al.* 1996; Niksic *et al.* 2005). Ribanac koji se seče pre fermentacije u odnosu na celu glavicu brže oslobađa šećere u naliv čime je fermentacija ubrzana (Tamang & Kailasapathy 2010). Homofermentativne BMK tolerišu više koncentracije soli u odnosu na heterofermentativne BMK, tako da se povećanjem koncentracije soli ubrzava nastajanje mlečne kiseline u kupusu (Holzapfel *et al.* 2003). Nakon 30-og dana fermentacije *Futoškog* kupusa dolazi do izjednačavanja sadržaja mlečne kiseline u nalivu i u glavici. Maksimalna količina mlečne kiseline u glavicama *Futoškog* kupusa se dostiže između 20 i 30. dana fermentacije, nakon čega stagnira i opada.



Slika 4.11 Sadržaj mlečne kiseline u nalivu (mg/l) i glavicama (mg/kg) *Futošog* kupusa tokom fermentacije

Na slici 4.12 prikazan je sadržaj mlečne kiseline u nalivu i glavicama hibrida *Bravo* tokom fermentacije. Mlečna kiselina nije detektovana u svežem kupusu.

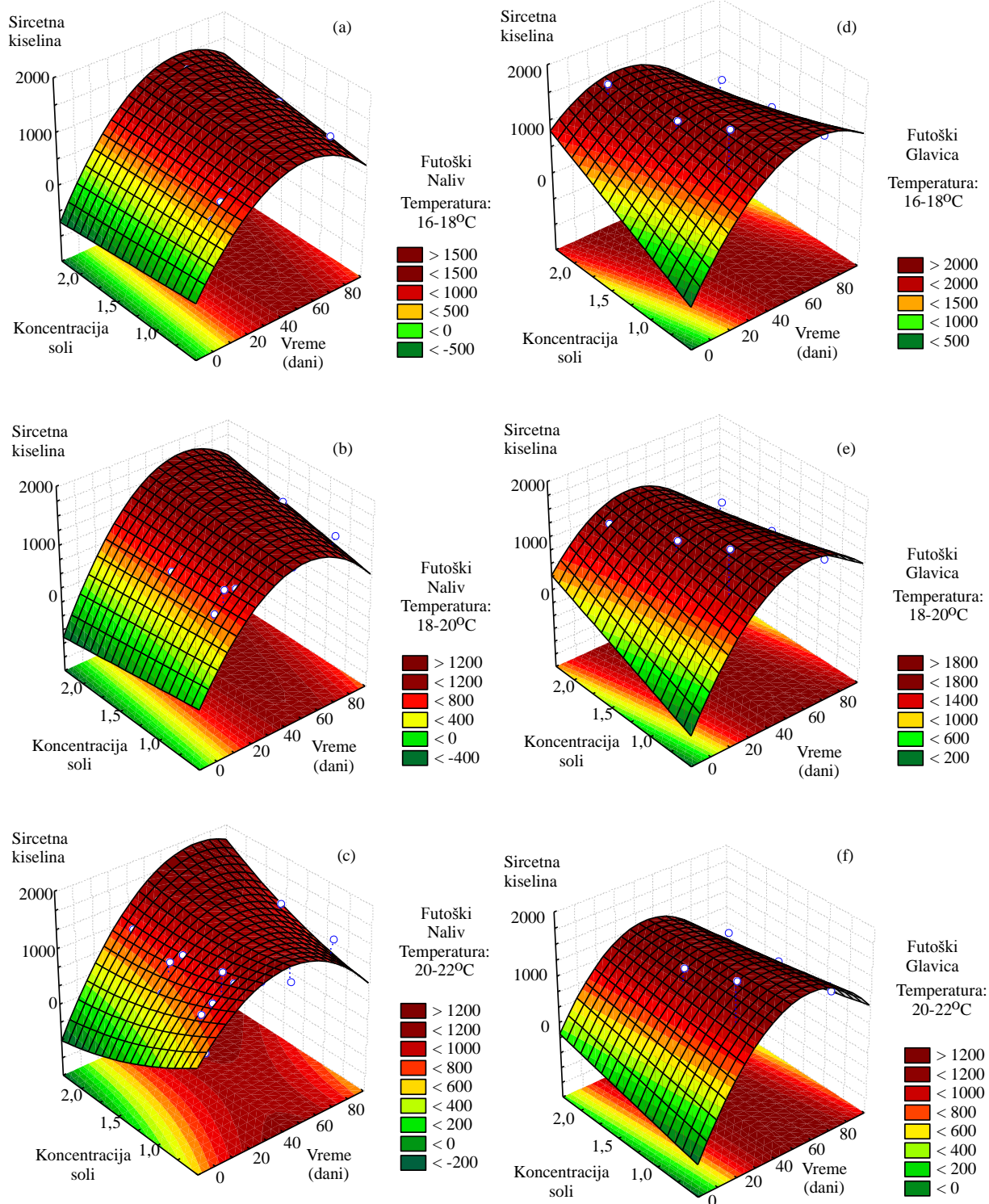


Slika 4.12 Sadržaj mlecne kiseline u nalivu (mg/l) i glavicama (mg/kg) hibrida *Bravo* tokom fermentacije

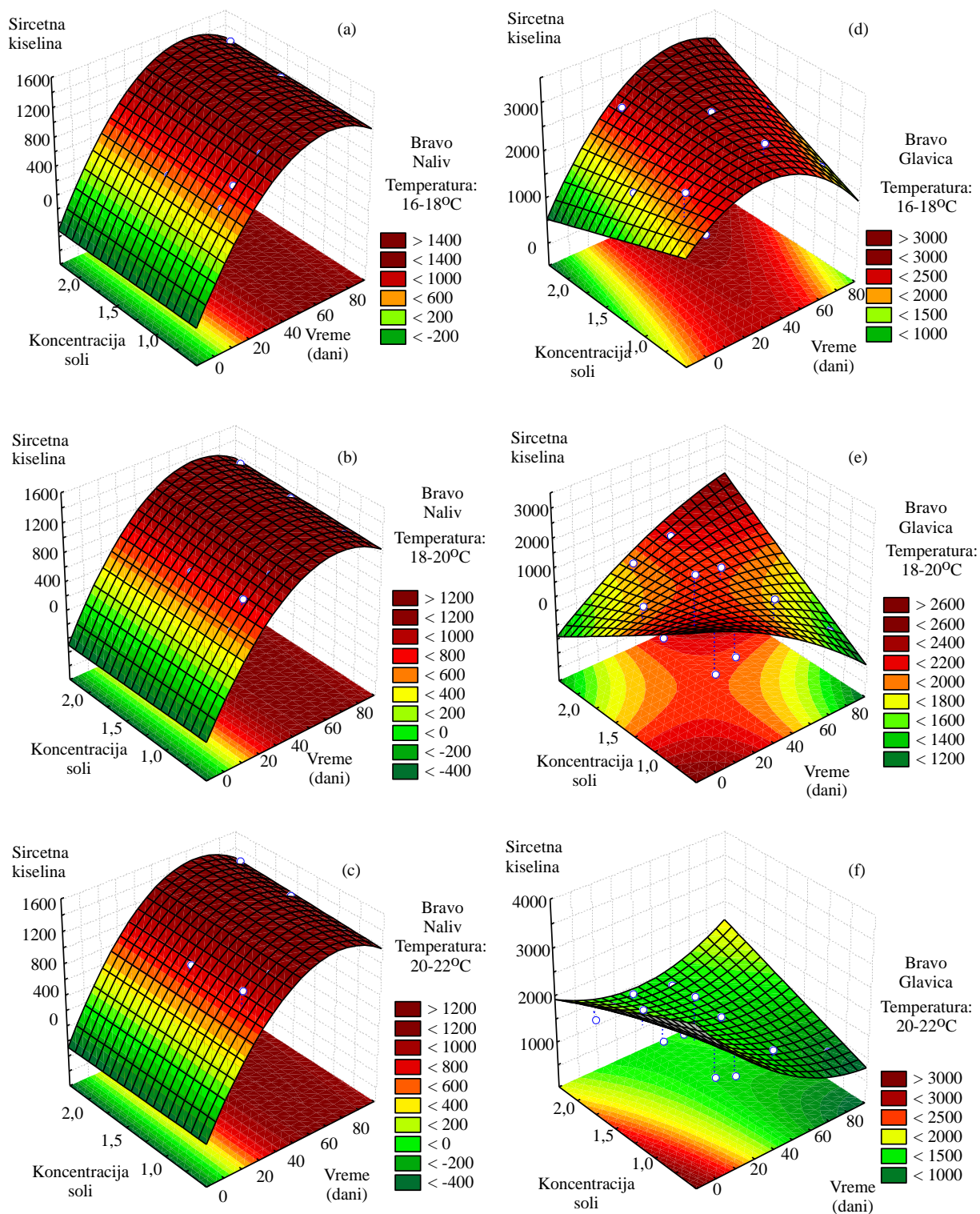
Sadržaj mlečne kiseline se kod hibrida povećava u skladu sa višom koncentracijom soli i temperaturom kao i kod *Futoškog* kupusa. Rast sadržaja mlečne kiseline tokom vremena fermentacije je nešto sporiji nego što je slučaj kod *Futoškog* kupusa. Maksimalna vrednost sadržaja mlečne kiseline kod glavica hibrida *Bravo* se postiže između 30-50 dana od početka fermentacije, i sadržaj mlečne kiseline u nalicu i glavici hibrida *Bravo* se izjednačio nakon 50. dana fermentacije. To sve ukazuje da se proces fermentacije kod hibrida odvija sporije što može da se objasni njegovim morfološkim karakteristikama tj. zbijenošću glavica (Cvetković *et al.* 2012b). Iako oba kupusa imaju sličan sadržaj ukupnih šećera u svežem stanju, hibrid *Bravo* dostiže više vrednosti sadržaja mlečne kiseline u odnosu na *Futoški*. Hibrid *Bravo* u svežem stanju ima veću masu po zapremini glavica i u burad za fermentaciju je postavljena veća masa hibrida, a manja količina vode u odnosu na *Futoški* kupus, što rezultira višim sadržajem mlečne kiseline kod hibrida.

4.2.2.2 Sirćetna kiselina

Sirćetna kiselina pored mlečne predstavlja takođe veoma važnu kiselinu u fermentisanom kupusu sa stanovišta kvaliteta i senzornih svojstava. Nedovoljna količina mlečne kiseline dovodi do dobijanja proizvoda sezorno manje prihvatljivog potrošačima. Po navodima autora optimalan odnos mlečne i sirćetne kiseline je 4: 1 (Niketić 1988). Sirćetna kiselina se sintetiše tokom prve dve faze fermentacije kada se razmnožavaju heterofermentativne vrste mlečno kiselih bakterija. Taj početak fermentacije se naziva još i gasoviti, jer se pored organskih kiselina sintetiše i etanol i CO₂ (Fleming *et al.* 1988). Kasnije tokom treće i četvrte (homofermentativne) faze sintetiše se samo mlečna kiselina. Sadržaj sirćetne kiseline u nalicu i glavici *Futoškog* kupusa prikazan je na slici 4.13. U nalicu (1,08-1,3 g/l) i u glavicama (1,1-2,2 g/l) sadržaj sirćetne kiseline je dostigao svoj maksimum oko 30. dana fermentacije. Viša temperatura fermentacije favorizuje rast homofermentativnih BMK što dovodi do nižeg sadržaja sirćetne kiseline, sintetiše se više mlečne kiseline dok je proizvod siromašniji sirćetnom kiselinom (Pederson & Albury 1969; Niketić 1988; Li 2003).



Slika 4.13 Sadržaj sirćetne kiseline u nalivu (mg/l) i glavicama (mg/kg) *Futoškog* kupusa tokom fermentacije



Slika 4.14 Sadržaj sircetne kiseline u nalivu (mg/l) i glavicama (mg/kg) hibrida *Bravo* tokom fermentacije

Na slici 4.14 prikazan je sadržaj sirćetne kiseline u nalivu i glavici hibrida *Bravo* toko fermentacije. Sličan trend je zabeležen kao i kod *Futoškog* kupusa, s tim što su kod hibrida *Bravo* zabeležene nešto više vrednosti sadržaja sirćetne kiseline kao što je slučaj i sa mlečnom kiselinom.

4.2.2.3 Oksalna kiselina

Oksalna kiselina je dominantna organska kiselina u svežem kupusu. Za sveži *Futoški* kupus pre fermentacije nađeno je 2630 mg/kg oksalne kiseline, a u svežem hibridu *Bravo* sadržaj te kiseline je 3332 mg/kg. Tokom fermentacije zabeležen je pad sadržaja oksalne kiseline u u glavicama *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Niže vrednosti sadržaja oksalne kiseline u su zabeležene u nalivu sa više koncentracije soli kod *Futoškog* kupusa, dok je kod hibrida *Bravo* obrnut slučaj. Tabela 4.12 prikazuje promenusadržaja oksalne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli.

Tabela 4.12 Sadržaj oksalne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	18	15	12	34	29	24	51	43	36
	6	200	187	173	399	371	344	597	556	516
	10	343	238	133	393	273	153	443	307	172
	15	357	275	193	411	317	222	466	358	251
	22	321	227	133	526	372	218	732	518	303
	37	338	322	306	346	330	313	354	337	320
	55	335	318	302	356	338	321	377	358	340
	80	375	338	301	414	374	333	454	409	365
G	10	950	1026	1103	680	735	790	411	444	477
	20	769	818	866	566	602	638	364	387	410
	30	606	688	770	433	491	550	260	295	330
	50	458	527	597	332	382	432	205	237	268
	80	405	454	503	288	323	358	171	192	213

Tabela 4.13 Sadržaj oksalne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije hibrida *Bravo* u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

	dani	16-18°C			18-20°C			20-22°C		
		1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	13	17	21	11	14	17	9	11	14
	6	29	84	139	34	98	163	39	113	187
	10	299	360	421	332	399	467	364	439	513
	15	399	595	791	404	603	801	410	611	812
	22	370	671	973	364	660	957	358	649	941
	37	384	807	1230	359	755	1150	334	702	1070
	55	497	915	1332	463	852	1241	429	789	1149
	80	507	947	1387	489	913	1337	471	879	1287
G	10	950	1383	1817	820	1218	1568	689	1004	1319
	20	769	1206	1642	649	1017	1386	529	829	1130
	30	679	1054	1429	480	746	1011	460	714	968
	50	557	844	1132	462	701	940	368	558	950
	80	507	779	1050	382	586	790	256	394	769

4.2.2.4 Jabučna kiselina

Jabučna kiselina je organska kiselina prirodno zastupljena u svežem voću i povrću. Sadržaj jabučne kiseline u *Futoškom* svežem kupusu je 562 mg/kg, dok kod hibrida *Bravo* iznosi oko 300 mg/kg. U tabeli 4.14 vidi se da u nalivu *Futoškog* kupusa dolazi do rasta sadržaja jabučne kiseline u prvih 20 dana fermentacije da bi kasnije usledio pad. U glavicama *Futoškog* u dolazi do opadanja sadržaja jabučne kiseline vremenom. Jabučna kiselina se tokom fermentacije prevodi preko perkursora mlečne kiseline, piruvata, u mlečnu kiselinu i CO₂, od strane i homofermentativnih i heterofermentativnih mikroorganizama (Li 2003). Zbog toga dolazi do opadanja sadržaja jabučne kiseline tokom fermentacije. U gotovom proizvodu se nalaze male količine jabučne kiseline ispod 2 mM (Trail *et al.* 1996).

Tabela 4.14 Sadržaj jabučne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	6	17	8,7	nd	nd	20	40	nd	40	81
	10	106	53	nd	nd	43,23	86	nd	86	173
	15	183	319	456	116	203	289	49	86,	123
	22	197	314	431	133	211	289	68	108	148
	37	77	213	350	45	126	207	14	39	64
	55	67	182	297	42	113	184	16	44	72
	80	93	449	805	52	250	448	11	51	92
G	10	511	412	313	438	401	264	264	490	215
	20	575	455	335	412	326	240	250	198	145
	30	443	343	244	303	235	167	163	127	90
	50	274	227	180	208	172	136	141	117	93
	80	195	179	163	148	136	123	101	93	84

Tabela 4.15 pokazuje da jabučna kiselina u prvim danima fermentacije nije ni detektovana u nalivu hibrida. To može da se objasni nižim sadržajem jabučne u svežem hibridu nego u *Futoškom* ali i sporijim procesom osmotskog povlačenja vode, i izvlačenja nutritivnih materija iz kupusa u naliv usled zbijenosti glavice hibrida. Blagi rast u prvih 20 dana fermentacije u odnosu na vrednost u svežoj glavici hibrida zabeležen je jedino kod fermentacije na 16-18°C i sa 2% soli.

Tabela 4.15 Sadržaj jabučne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije hibrida *Bravo*, u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	6	nd	nd	nd	nd	nd	0	nd	nd	nd
	10	24	62	100	20	52	85	16	43	69
	15	136	151	165	117	130	142	98	108	119
	22	228	246	263	217	234	251	206	222	238
	37	232	241	249	232	240	248	231	239	248
	55	272	245	218	284	256	227	297	267	237
	80	223	252	282	248	281	314	273	310	346
G	10	74	184	294	55	167	220	37	91	145
	20	136	226	316	92	152	213	47	78	110
	30	170	194	217	115	131	146	78	89	99
	50	129	141	153	100	109	118	71	77	84
	80	107	117	126	84	91	99	61	66	72

4.2.2.5 Limunska kiselina

U svežem *Futoškom* kupusu nađeno je 746 mg/kg dok je kod hibrida *Bravo* nađeno 764 mg /kg limunske kiseline. Pored jabučne i oksalne limunska kiselina je jedna od značajnih kiselina u svežem povrću, odnosno kupusu. U tabeli 4.16 prikazan je sadržaj limunske kiseline u nalivu i u glavicama *Futoškog* kupusa tokom fermentacije, a u tabeli 4.17 prikazan je sadržaj limunske kiseline u nalivu i glavicama hibrida *Bravo*. Tokom fermentacije je primetan rast sadržaja limunske kiseline u nalivu *Futoškog* i hibrida. Taj rast je intenzivniji kod naliva sa najnižom koncentracijom soli. U glavicama *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* dolazi do snižavanja sadržaja limunske kiseline u odnosu na svež kupus. Limunska kiselina tokom fermentacije hidrolizuje do sirćetne kiseline preko oksaloacetata u acetat pod dejstvom mikroorganizama *Leuconostoc* (heterofermentativna faza) i *Lactococci* (heterofermentativna faza) (Mellerick & Cogan 1981; Fleming et al. 1985).

Tabela 4.16 Sadržaj limunske kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	10	12	15	9	13	18	10	15	21
	6	71	80	89	91	87	84	85	81	78
	10	162	169	176	137	143	145	112	117	122
	15	311	239	166	385	295	205	458	351	244
	22	464	358	251	737	568	399	1010	778	547
	37	687	619	553	909	820	731	1132	1021	910
	55	798	729	659	1006	919	831	1215	1109	1003
	80	991	866	740	1280	1118	956	1568	1370	1172
G	10	469	538	606	328	375	423	186	213	240
	20	427	476	525	375	418	461	322	359	396
	30	410	447	483	362	394	427	314	342	370
	50	244	350	455	195	279	362	145	207	270
	80	194	311	427	144	230	316	93	149	204

Tabela 4.17 Sadržaj limunske kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije hibrida *Bravo* u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	5	7	10	5	7	9	0	4	8
	6	13	96	178	25	67	109	0	20	40
	10	79	287	496	45	163	281	10	38	65
	15	112	448	785	75	297	520	37	146	256
	22	231	493	755	167	357	547	104	222	340
	37	438	502	565	388	444	500	337	386	435
	55	522	477	432	559	511	463	597	545	494
	80	604	588	573	648	632	615	693	675	657
G	10	817	656	496	636	443	386	455	366	276
	20	553	514	474	572	531	490	590	548	506
	30	509	478	448	460	432	405	377	354	332
	50	409	400	391	345	338	330	281	275	269
	80	326	361	395	251	277	303	175	193	211

4.2.2.6 Čilibarna kiselina

U svežem *Futoškom* kupusu nađeno je 64,3 mg/kg, a u hibridu *Bravo* 58,8 mg/kg čilibarne kiseline. U tabelama 4.18 i 4.19 prikazane su promene sadržaja čilibarne kiseline u nalivu i glavicama *Futoškog* tokom fermentacije. Tokom fermentacije i u nalivu *Futoškog* i nalivu hibrida *Bravo* kako pokazuju tabele 4.18 i 4.19 dolazi do povećanja sadržaja čilibarne kiseline i njen sadržaj je do 80-tog dana fermentacije 3-4 puta veći nego u svežem kupusu. U glavicama *Futoškog* kupusa (tabela 4.18) i hibrida *Bravo* (tabela 4.19) u prvih 30 dana fermentacije dolazi do povećanja sadržaja čilibarne kiseline, i taj rast je najintenzivniji na najnižoj temperaturi fermentacije (16-18°C). Male količine čilibarne kiseline nastaju tokom heterofermentativne faze fermentacije i u gotovom proizvodu su prisutne količine ispod 2mM (Trail *et al.* 1996).

Tabela 4.18 Sadržaj čilibarne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	nd	2	4	6	7	7	9	10	11
	6	22	24	26	42	46	49	63	67	72
	10	120	91	61	137	104	70	154	116	79
	15	169	145	120	180	154	128	190	163	135
	22	211	184	157	209	182	156	207	181	154
	37	203	190	176	261	244	226	319	298	276
	55	190	211	232	219	242	266	247	274	301
	80	213	265	317	204	253	303	194	241	289
G	10	239	243	248	239	243	248	239	243	258
	20	337	320	303	323	307	290	309	293	248
	30	306	320	333	278	290	303	250	261	278
	50	234	248	262	206	219	231	179	189	272
	80	193	217	240	171	191,	212	148	166	200

Tabela 4.19 Sadržaj ćilibarne kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije hibrida *Bravo* u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
dani		1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	nd	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	6	9	9	10	15	16	18	22	24	25
	10	80	50	20	92	58	23	105	65	26
	15	119	96	72	160	128	97	200	161	122
	22	122	118	113	135	130	125	148	143	137
	37	191	154	117	201	162	123	210	170	129
	55	211	187	162	186	165	143	161	142	124
	80	203	189	176	189	176	164	175	163	152
G	10	518	436	353	437	289	298	356	300	243
	20	380	336	293	399	353	307	418	369	321
	30	335	338	342	339	342	345	345	348	352
	50	269	280	290	268	279	290	268	279	290
	80	203	237	271	181	212	242	160	187	214

4.2.2.7 Mravlja kiselina

Količina mravlje kiseline u svežem *Futoškom* kupusu iznosi 2040 mg/kg, dok je u svežem hibridu ima 1911 mg/kg. U tabelama 4.20 i 4.21 prikazan je rast sadržaja mravlje kiseline u nalivu i glavicama *Futoškog* i hibrida *Bravo*. Kod *Futoškog* kupusa najviše mravlje kiseline u nalivu zabeleženo kod kupusa fermetisanog na temperaturi 20-22°C, dok kod naliva hibrida nema značajne razlike po temperaturama. Kod obe vrste kupusa u glavicama prisutan je pad sadržaja mravlje kiseline u odnosu na vrednosti u svežem kupusu, a na kraju perioda merenja najviše mravlje kiseline se održalo tokom fermentacije na temperaturi 16-18°C kod oba kupusa.

Tabela 4.20 Sadržaj mravlje kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	48	72	96	58	87	116	68	102	136
	6	203	181	158	392	349	306	580	517	453
	10	372	357	343	455	438	420	538	518	497
	15	813	746	678	844	774	705	876	803	731
	22	970	1033	1096	928	988	1048	885	942	1000
	37	1152	1090	1028	1246	1179	1112	1339	1267	1195
	55	1243	1170	1096	1356	1276	1195	1468	1382	1295
	80	1341	1262	1183	1451	1365	1280	1560	1468	1376
G	10	1156	1362	1567	1156	1362	1569	1156	1362	1569
	20	1073	1067	1062	1073	1067	1062	1073	1067	1062
	30	971	1045	1119	859	924	989	747	803	860
	50	817	865	914	693	734	774	568	602	635
	80	618	725	832	504	591	678	390	457	524

Tabela 4.21 Sadržaj mravlje kiseline u nalivu (N), (mg/l) i u glavicama (G), (mg/kg) tokom fermentacije hibrida *Bravo* u zavisnosti od temperature i koncentracije soli

		16-18°C			18-20°C			20-22°C		
	dani	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%	1%	1,5%	2%
N	3	37	43	48	32	36	41	26	29	33
	6	119	155	191	147	191	236	175	228	282
	10	401	525	649	396	519	642	392	513	634
	15	768	716	664	814	759	703	860	801	743
	22	1021	885	748	1086	941	795	1151	997	843
	37	1170	1123	1076	1125	1080	1035	1081	1037	994
	55	1257	1236	1214	1213	1192	1171	1169	1149	1129
	80	1448	1388	1329	1463	1403	1342	1478	1417	1356
G	10	1604	1613	1623	1503	1629	1520	1402	1410	1418
	20	1911	1841	1772	1963	1891	1820	2015	1941	1867
	30	1181	1500	1819	2682	3405	4128	4390	5573	6757
	50	919	1266	1612	730	1005	1280	541	745	949
	80	745	1092	1439	548	803	1059	351	515	678

Metoda odzivne površine primenjena je za određivanje uticaja promenljivih na količinu organskih kiselina u toku fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, u nalivu i u glavici. Analiziran je uticaj koncentracije soli, temperature vremena trajanja fermentacije i vrste kupusa na sadržaj organskih kiselina u nalivu i glavici *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. U okviru

ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara na formiranje SOP modela sadržaja organskih kiselina (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

Tabela 4.22 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva organskih kiselina za uzorke naliva *Futoškog* kupusa

	df	Mlečna	Sirćetna	Oksalna	Jabučna	Limunska	Ćilibarna	Mravlja
T	1	3447267**	115382*	108982,5*	2257,06**	1318,36*	3038,10*	141866,0*
T ²	1	0	0	0,0	637,23	24,77	0,44	0,0
C	1	22490870*	90832*	51629,1*	3965,93*	230,15*	1980,15*	2343,0
C ²	1	0	0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,0
t		1154088310*	823887*	267131,8*	16717,06*	75064,49*	42614,48*	553439,7*
t ²	1	30223	1294337236,3*		54,36	1148,73*	30,44	74092,7*
T × C	1	7210011*	3191	1294,611870,49*		51,36	13,15	476,4
T × t	1	4748390*	32742*	72,9	756,29	2454,14*	177,42	8587,6
C × t	1	7221424*	176761*	41923,2*	1873,60	12,34	3910,75*	5228,1
Greška	17	18092692	28940	107670,8	12278,57	795,98	2001,32	74311,8
r ²		0,872	0,965	0,810	0,626	0,985	0,943	0,863

* statistički značajan na nivou p<0,05; ** statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja, df - broj stepeni slobode

U Tabeli 4.22 prikazana je analiza varijanse ANOVA za SOP modele sadržaja organskih kiselina u nalivu *Futoškog* kupusa tokom prvih 10 dana fermentacije, tokom I i II faze, kada su procesi fermentacije najintenzivniji. U tabeli se vidi da na formiranje SOP modela za sve kiseline statistički značajan uticaj ima linearni član vremena trajanja procesa, dok je kvadratni član vremena trajanja procesa značajan za oksalnu kiselinu, limunsku i mravlju kiselinu (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Linearni član koncentracije soli je statistički značajan za sve kiseline osim za mravlju kiselinu (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Linearni član temperature procesa je statistički značajan na nivou p<0,05 za sirćetnu, oksalnu, limunsku, ćilibarnu i mravlju kiselinu, dok je na nivou p<0,10 značajan samo za izračunavanje mlečna i jabučna kiselina u SOP modelima, dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Vrednosti koeficijenta determinacije r² koji variraju od 0,626-0,965 ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

Tabela 4.23 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva organskih kiselina za uzorke glavica *Futoškog* kupusa

	df	Mlečna	Sirćetna	Oksalna	Jabučna	Limunska	Ćilibarna	Mravlja
T	1	7324237*	1128409*	429187*	21965*	131980,6*	93,78	8231
T ²	1	0	0	0	185	0,0	96,83	0
C	1	477333	2414489*	10750*	328178*	12696,7*	1119,26*	163203*
C ²	1	0	0	0	4630	0,0	96,75	0
t	1	1347375**	18757	18109*	84530*	7679,6*	13520,82*	141099*
t ²	1	3997373*	83428	734	24433*	6551,4*	9014,28*	34368*
T×C	1	20392	167482	4493*	3693	1275,3	462,40	97
T×t	1	1417186**	10150	26955*	6738	36338,5*	1248,48*	43877*
C×t	1	453087	1761954*	45	103099*	711,3	852,10	59893*
Greška	17	7549282	1159620	5206	53745	10242,0	3857,43	94917
r ²		0,953	0,861	0,994	0,928	0,934	0,828	0,885

*statistički značajan na nivou $p < 0,05$; **statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja

U Tabeli 4.23 prikazana je ANOVA za rezultate sadržaja organskih kiselina u glavicama *Futoškog* kupusa tokom prvih 10 dana fermentacije. Na formiranje SOP modela svih kiselina osim ćilibarne i mravlje statistički značajan uticaj ima linearni član temperature. Linearni član koncentracije soli ima statistički značaja uticaj na izračunavanje SOP modela svih kiselina osim mlečne kiseline (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Linearni član trajanja procesa je statistički značajan kod oksalne, jabučne, limunske, ćilibarne i mravlje (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja), dok je na nivou $p < 0,10$ statistički značajan samo za formiranje SOP modela mlečne kiseline. Kvadratni član vremena trajanja procesa je značajan za mlečnu, jabučnu, limunsku, ćilibarnu i mravlju kiselinu (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Vrednosti koeficijenata determinacije r^2 variraju od 0,828-0,994 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

U Tabeli 4.24 prikazana je ANOVA za rezultate sadržaja organskih kiselina u nalivu hibrida *Bravo* tokom prvih 10 dana fermentacije. U tabeli se vidi da na formiranje SOP modela za sve organske kiseline statistički najznačajniji uticaj ima linearni član vremena trajanja procesa, kao i linearni član koncentracije soli (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Kvadratni član vremena trajanja procesa je statistički značajan za formiranje svih SOP modela organskih kiselina, osim za sirćetnu kiselinu gde je značajan na nivou $p < 0,10$. Linearni

član temperature procesa je statistički značajan na nivou $p < 0,05$ za sve kiseline osim za mravlju kiselinu, dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Tabela 4.24 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva organskih kiselina za uzorke naliva hibrida *Bravo*

	df	Mlečna	Sirćetna	Oksalna	Jabučna	Limunska	Ćilibarna	Mravlja
T	1	199764*	7664,6*	5816,0*	214,98**	59824,3*	460,48*	1125
T ²	1	0	0,2	0,1	0,00	80,7	0,07	0
C	1	225584*	24258,0*	38907,9*	2405,12*	62625,9*	2595,41*	64829*
C ²	1	0	0,0	0,1	0,00	0,0	0,02	0
T	1	32235097*	328860,5*	667782,7*	12324,50*	110293,4*	14906,89*	1049318*
t ²	1	954270*	1436,2**	38870,5*	2997,85*	904,2	413,85*	15811*
T × C	1	1850	80,1	320,3	44,08	19521,3*	24,08	52
T × t	1	128640*	8745,2*	5388,2*	305,59*	46996,8*	167,96	35
C × t	1	1181	5272,1*	11354,6*	3418,89*	40326,0*	3954,22*	42885*
Greška	17	228294	7318,8	4737,6	919,66	18518,1	1152,03	8067
r ²		0,990	0,971	0,991	0,940	0,919	0,926	0,990

*statistički značajan na nivou $p < 0,05$; **statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja

Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,919-0,990 ukazuju na odlično poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

U Tabeli 4.25 prikazana je ANOVA za rezultate sadržaja organskih kiselina u glavicama hibrida *Bravo* tokom prvih 10 dana fermentacije. Na formiranje SOP modela svih organskih kiselina statistički značajan uticaj ima linearni član temperature, dok je kvadratni član temperature značajan samo za formiranje SOP modela oksalne kiseline (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Linearni član koncentracije soli ima statistički značajan uticaj na izračunavanje SOP modela svih organskih kiselina, osim mravlje kiseline (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Linearni član trajanja procesa je statistički značajan kod sirćetne i oksalne kiseline (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Kvadratni član vremena trajanja procesa je značajan za izračunavanje sadržaja mlečne, sirćetne, limunske i mravlje kiseline (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja), dok je na nivou $p < 0,10$ značajan za formiranje SOP modela jabučne kiseline. Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,669-0,991 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

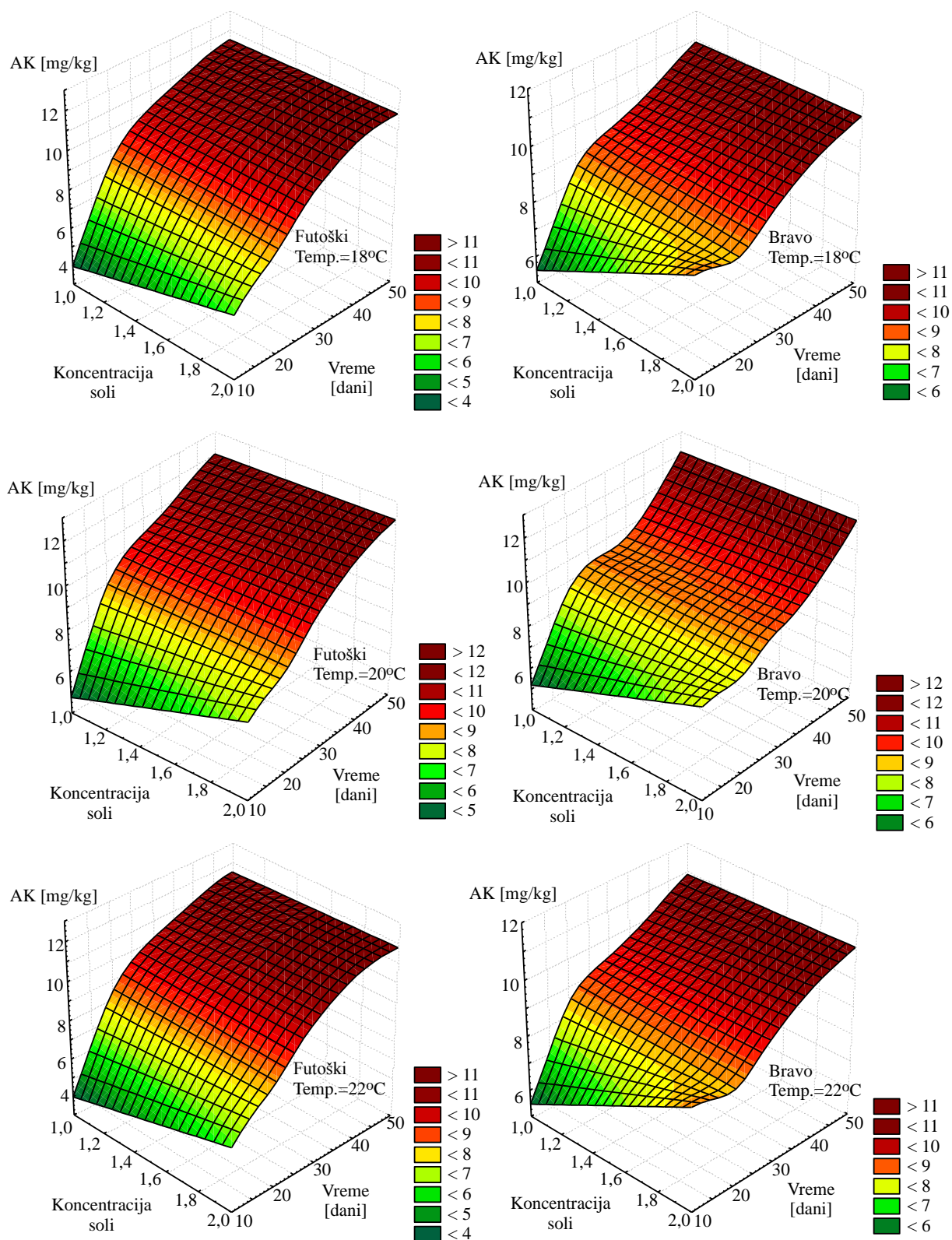
Tabela 4.25 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva organskih kiselina za uzorke glavica hibrida *Bravo*

	df	Mlečna	Sirćetna	Oksalna	Jabučna	Limunska	Ćilibarna	Mravlja
T	1	5910822*	939572*	184851*	13822,0*	68868,0*	20266,37*	2947509*
T ²	1	56989	8814	11314*	0,1	30,0	517,39	5657
C	1	1796360*	3867404*	765394*	45745,1*	82106,1*	36267,01*	347962
C ²	1	56989	54	43	76,4	349,3	461,42	1029
t	1	48708	1466267*	25123*	850,8	16278,0	5,21	367078
t ²	1	8721335*	1285797*	0	984,7**	28088,2*	24,01	2287014*
T × C	1	2489	29517	47160*	5367,9*	1938,8	155,23	246685
T × t	1	3338685*	41357*	1146	106,1	20773,4*	16016,21*	13717644*
C × t	1	7533394*	3136733*	17498*	12912,0*	28982,8*	15935,21*	1613165*
Greška	17	1506482	525230	35222	5243,8	70941,8	14950,31	709577
r ²		0,991	0,892	0,984	0,941	0,669	0,710	0,852

*statistički značajan na nivou p<0,05; **statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

4.2.3 Sadržaj askorbinske kiseline tokom fermentacije

Askorbinska kiselina odnosno vitamin C i njegovo očuvanje tokom fermentacije je važan segment dobre proizvođačke prakse pri proizvodnji fermentisanog kupusa. Askorbinska kiselina u kontaktu sa vazduhom je veoma podložna razgradnji pod dejstvom enzima askorbatoksidaze tokom procesa fermentacije, a očuvanje askorbinske kiseline je poželjno zbog pozitivnog dejstva na boju, opšti izgled i nutritivne osobine fermentisanog kupusa (Vaughn 1985). Na slici 4.11 prikazani su trodimenzionalni grafici promene sadržaja askorbinske kiseline tokom fermentacije na različitim temperaturama u zavisnosti od koncentracije soli za *Futoški* kupus i hibrid *Bravo*. Tokom fermentacije kod obe vrste kupusa dolazi do porasta sadržaja askorbinske kiseline sa povećanjem koncentracije soli na konstantnoj temperaturi. To može da se objasni sintezom L-askorbinske kiseline od strane mikroorganizama i kvasaca tokom fermentacije (Bremus *et al.* 2006) i degradacijom askorbigena u kiseloj sredini (Wolkers-Rooijackers *et al.* 2013).



Slika 4.11 Sadržaj L-askorbinske kiseline (AK) tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u zavisnosti od koncentracije soli i temperature

Metoda odzivne površine primenjena je za određivanje uticaja promenljivih na količinu L-askorbinske kiseline u toku fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. U okviru ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara na formiranje SOP modela promene sadržaja L-askorbinske kiseline u *Futoškom* i hibridu *Bravo* (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

Tabela 4.26 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za količinu L-askorbinske kiseline u toku fermentacije kod *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

	<i>Futoški</i>				<i>Bravo</i>		
	df	SS	F	p	SS	F	p
C	1	113,959*	10,076	0,013	5,025*	6,823	0,031
T	1	113,959*	10,076	0,013	5,025*	6,823	0,031
t	1	287,879*	25,453	0,001	223,896*	303,964	0,000
t ²	1	135,440*	11,975	0,009	13,541*	18,384	0,003
C × T	1	13,574	1,200	0,305	2,634	3,576	0,095
T × t	1	13,574	1,200	0,305	2,634	3,576	0,095
Greška	8	90,483			5,893		
r ²		0,867			0,967		

* statistički značajan na nivou p<0,05; ** statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

U Tabeli 4.26 prikazana je ANOVA za SOP modele sadržaja L-askorbinske kiseline u glavicama *Futoškog* kupus i hibrida *Bravo*. Na formiranje SOP modela askorbinske kiseline za obe vrste kupusa statistički značajan uticaj ima linearni član temperature, linearni član koncentracije soli, linearni član vremena trajanja procesa kao i kvadratni član trajanja procesa (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Vrednosti koeficijenata determinacije r² variraju od 0,867 kod *Futoškog* kupusa do 0,967 za hibrid *Bravo* i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

4.2.4 Sadržaj biogenih amina tokom fermentacije

Triptamin, feniletilamin, spermin i serotonin analizirani su, ali nisu detektovani ni u jednom uzorku fermentisanog *Futoškog* i hibrida *Bravo*. Triptamin i spermin se u ribanom kupusu nalaze u koncentraciji ispod 10 mg/kg ili ispod granice detekcije (Kalač *et al.* 2000b; Peñas *et al.* 2010). Tabela 4.27 pokazuje promenu sadržaja biogenih amina tokom fermentacije u zavisnosti od

uslova procesa. Tokom fermentacije *Futoškog* kupusa zabeleženo je prisustvo putrescina, kadaverina, histamina, tiramina i spermidina. Tokom fermentacije dolazi do povećanja sadržaja svih biogenih amina. Biogeni amini nastaju dejstvom mikroorganizama prisutnih tokom fermentacije. Rodovi mikroorganizama *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*, neke vrste *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Streptococcus* imaju sposobnost dekarboksilacije amino kiselina čime nastaju biogeni amini (Buckenhüskes 1993; Halász *et al.* 1999; Moreno-Arribas *et al.* 2003). Obzirom da histamin nastaje pod dejstvom Gram-pozitivnih bakterija *Enterobacteriaceae* i *Pediococcus*, u malim količinama se sintetiše u početku fermentacije (Buckenhüskes *et al.* 1997). Tokom fermentacije *Futoškog* kupusa najviše je prisutno putrescina dok tiramin i spermidin se nalaze u manjim koločinama u fermentisanom kupusu, ispod 10 mg/kg.

Najviši sadržaj putrescina kod *Futoškog* kupusa od $55,97 \pm 1,57$ mg/kg zabeležen je 50-og dana fermentacije na temperaturi 18-20°C i 2 % soli. Namanje putrescina ($20,37 \pm 0,20$ mg/kg) sadrži *Futoški* kupus 10-og dana fermentacije na temperature 20-22°C sa 1 % soli. Najviše kadaverina ($26,00 \pm 0,24$ mg/kg) i histamina ($13,90 \pm 0,12$ mg/kg) sadrži *Futoški* kupus fermentisan sa 2% soli na temperaturi 20-22°C. Najniže vrednosti za kadaverin ($4,15 \pm 0,07$) postignute su 10-og dana na temperaturi 20-22°C i sa 1 % soli, dok je histamina najmanje ($6,85 \pm 0,10$ mg/kg), 10-og dana fermentacije sa 1 % soli i na temperature 16-18°C.

Tabela 4.27 Sadržaj biogenih amina tokom fermentacije u zavisnosti od temperature i od koncentracije soli za *Futoški* kupus (mg/kg)

%soli	T(°C)	Dani	Putrescin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	Spermidin
1	18	10	24,21±0,42 ^{bc}	5,12±0,08 ^{de}	6,85±0,10 ^a	3,53±0,06 ^e	2,74±0,02 ^a
1	18	20	29,36±0,32 ^e	13,76±0,34 ^k	7,55±0,14 ^{cde}	4,67±0,03 ^{gh}	3,62±0,04 ^h
1	18	50	51,59±0,65 ^{hij}	17,41±0,42 ^m	11,04±0,18 ^l	7,06±0,04 ^l	6,06±0,08 ^k
1,5	18	10	26,42±0,67 ^d	5,62±0,03 ^{ef}	6,97±0,03 ^{ab}	1,77±0,02 ^c	3,01±0,02 ^{bcd}
1,5	18	20	33,94±0,67 ^f	14,26±0,19 ^{kl}	8,30±0,12 ^{gh}	4,65±0,05 ^{gh}	3,92±0,07 ⁱ
1,5	18	50	54,23±0,94 ^{klm}	18,08±0,17 ^{mn}	11,28±0,13 ^l	7,51±0,11 ^m	6,35±0,13 ^{lm}
2	18	10	28,63±0,79 ^e	6,12±0,18 ^f	7,08±0,07 ^{abc}	0,00±0,00 ^a	3,28±0,02 ^{efg}
2	18	20	38,52±0,32 ^g	14,76±0,25 ^l	9,06±0,18 ⁱ	4,63±0,08 ^g	4,22±0,13 ^j
2	18	50	56,87±0,43 ⁿ	18,74±0,41 ⁿ	11,52±0,26 ^l	7,96±0,07 ⁿ	6,64±0,12 ^{no}
1	20	10	22,29±0,22 ^{ab}	4,30±0,05 ^{bc}	7,23±0,14 ^{abcd}	0,00±0,00 ^a	2,81±0,04 ^{ab}
1	20	20	26,02±0,11 ^{cd}	12,07±0,13 ⁱ	8,14±0,10 ^{fg}	4,77±0,07 ^{gh}	3,63±0,03 ^h
1	20	50	50,77±0,90 ^{hi}	20,78±0,35 ^o	12,18±0,20 ^m	6,54±0,06 ^j	6,10±0,04 ^k
1,5	20	10	24,33±0,35 ^{bcd}	4,72±0,08 ^{cd}	7,35±0,08 ^{abcd}	1,02±0,00 ^b	3,09±0,06 ^{cde}
1,5	20	20	30,07±0,46 ^e	12,51±0,20 ^{ij}	8,96±0,01 ⁱ	4,75±0,04 ^{gh}	3,93±0,01 ⁱ
1,5	20	50	53,37±0,83 ^{jkl}	21,58±0,13 ^p	12,44±0,16 ^{mn}	6,96±0,14 ^{kl}	6,40±0,13
2	20	10	26,36±0,48 ^d	5,14±0,05 ^{de}	7,47±0,17 ^{bcd}	2,03±0,02 ^d	3,37±0, ^{fg}
2	20	20	34,13±0,14 ^f	12,95±0,18 ^j	9,77±0,17 ^j	4,73±0,0 ^{gh}	4,23±0,04 ^j
2	20	50	55,97±1,57 ^{mn}	22,37±0,42 ^q	12,71±0,22 ⁿ	7,38±0,15 ^m	6,69±0,09 ^o
1	22	10	20,37±0,20 ^a	3,47±0,04 ^a	7,60±0,17 ^{de}	0,00±0,00 ^a	2,88±0,02 ^{abc}
1	22	20	22,67±0,12 ^b	10,38±0,17 ^g	8,73±0,26 ^{hi}	4,87±0,08 ^h	3,64±0,03 ^h
1	22	50	49,95±1,18 ^h	24,15±0,12 ^f	13,32±0,28 ^o	6,02±0,04 ⁱ	6,15±0,10 ^{kl}
1,5	22	10	22,23±0,15 ^{ab}	3,81±0,02 ^{ab}	7,73±0,13 ^{def}	2,03±0,02 ^d	3,17±0,02 ^{def}
1,5	22	20	26,21±0,68 ^{cd}	10,76±0,18 ^{gh}	9,61±0,24 ^j	4,85±0,13 ^{gh}	3,94±0,08 ⁱ
1,5	22	50	52,50±0,55 ^{ijk}	25,08±0,43 ^s	13,61±0,17 ^{op}	6,41±0,06 ^j	6,44±0,10 ^{mn}
2	22	10	24,09±0,23 ^{bc}	4,15±0,07 ^{abc}	7,86±0,09 ^{efg}	4,06±0,08 ^f	3,45±0,05 ^{gh}
2	22	20	29,75±0,52 ^e	11,14±0,10 ^h	10,48±0,15 ^k	4,82±0,08 ^{gh}	4,25±0,06 ^j
2	22	50	55,06±1,44 ^{lmn}	26,00±0,24 ^t	13,90±0,12 ^p	6,79±0,09 ^k	6,74±0,13 ^o

Metoda odzivne površine primenjena je za određivanje uticaja promenljivih na količinu biogenih amina u toku fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. U okviru ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara na formiranje SOP modela za sadržaj biogenih amina (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

Tabela 4.28 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za sadržaj biogenih amina u toku fermentacije *Futoškog* kupusa

	Putrescin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	Spermidin
C	17,987*	5,088*	0,073	9,909*	3,078*
C ²	0,013	0,017	0,001	0,258	0,001
T	2,101*	0,330*	7,392*	9,367*	0,001
T ²	0,000	0,082	0,005	0,171	0,008
t	1670,799*	1129,531*	654,691*	87,758*	61,358*
t ²	0,029	129,329*	30,413*	7,917*	0,007
C × T	0,004	0,001	0,000	3,642*	0,015*
C × t	14,543*	0,053	2,161*	21,767*	0,137*
T × t	0,153	11,718*	12,215*	25,096*	0,001
Greška	3,318	0,467	0,460	10,959	0,053
r ²	0,997	0,999	0,999	0,895	0,999

* statistički značajan na nivou $p < 0,05$; ** statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja

U Tabeli 4.28 prikazana je ANOVA za SOP modele sadržaja biogenih amina u *Futoškom* kupusu tokom fermentacije. U Tabeli 4.28 se vidi da na formiranje SOP modela za putrescin, kadaverin, tiramin i spermidin vrednost statistički značajan uticaj ima linearni član koncentracije soli, linearni član temperature ima statistički značajan uticaj na putrescin, kadaverin, histamin i tiramin (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja). Linearni član vremena trajanja procesa ima statistički značajan uticaj na formiranje SOP modela svih nađenih biogenih amina, dok je kvadratni član vremena trajanja procesa statistički značajan za kadaverin, histamin i tiramin (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja), dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,895-0,999 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

U tabeli 4.29 prikazan je sadržaj biogenih amina tokom fermentacije hibrida *Bravo*. Tokom fermentacije hibrida *Bravo* prisutna je slična tendencija rasta sadržaja biogenih amina tokom fermentacije kao što je slučaj kod *Futoškog* kupusa. Maksimalna zabeležena vrednost za putrescin u hibridu je $69,64 \pm 0,69$ mg/kg, dok je kod *Futoškog* ta vrednost $55,97 \pm 1,57$ mg/kg. Nešto više vrednosti su zabeležene u hibridu *Bravou* odnosu na *Futoški* i za vrednost sadržaja histamine i tiramina, što je verovatno uslovljeno većim sadržajem BMK i UBM tokom fermentacije hibrida *Bravo* (Slike 4.8, 4.9, i 4.10).

Nađene količine biogenih amina u glavicama fermentisanog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* su niže od vrednosti nađenih u fermentisanom ribancu (Halász *et al.* 1994; Kalač *et al.* 1999; Kalač *et al.* 2002; Moret *et al.* 2005).

Tabela 4.29 Sadržaj biogenih amina tokom fermentacije u zavisnosti od temperature i od koncentracije soli za hibrid *Bravo* (mg/kg)

% soli	Temp. °C	Dani	Putrescin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	Spermidin
1	18	10	25,88±0,43 ^a	5,54±0,08 ^{abcd}	5,54±0,05 ^{abc}	2,19±0,04 ^c	3,2±0,08 ^b
1	18	20	30,82±0,50 ^{gh}	10,62±0,08 ^e	10,62±0,17 ^d	3,71±0,02 ^{gh}	2,94±0,03 ^a
1	18	50	56,82±1,10 ⁿ	19,38±0,46 ⁿ	16,38±0,19 ^f	5,89±0,10 ^k	3,67±0,04 ^c
1,5	18	10	27,82±0,13 ^{abcd}	5,83±0,08 ^{cd}	5,83±0,14 ^{abc}	2,73±0,05 ^d	3,72±0,07 ^{cd}
1,5	18	20	32,41±0,36 ^{hij}	10,79±0,14 ^{ef}	10,79±0,13 ^d	4,19±0,10 ⁱ	3,13±0,03 ^{ab}
1,5	18	50	52,06±0,47 ^m	17,37±0,37 ^m	15,87±0,38 ^{ef}	6,49±0,09 ^l	3,89±0,07 ^{cde}
2	18	10	29,76±0,78 ^{defg}	6,13±0,05 ^d	6,13±0,02 ^c	3,27±0,02 ^{ef}	4,23±0,05 ^f
2	18	20	34,00±0,48 ^{jk}	10,97±0,32 ^{efg}	10,97±0,30 ^d	4,67±0,09 ^j	3,32±0,02 ^b
2	18	50	47,29±0,10 ^l	15,36±0,07 ^l	15,36±0,34 ^e	7,08±0,11 ^m	4,11±0,07 ^{ef}
1	20	10	26,07±0,43 ^{ab}	5,12±0,03 ^{abc}	5,36±0,15 ^{ab}	0,00±0,00 ^a	3,97±0,05 ^{de}
1	20	20	31,08±0,48 ^{ghi}	11,58±0,20 ^{fgh}	10,69±0,19 ^d	3,39±0,08 ^f	4,72±0,05 ^g
1	20	50	63,23±0,34 ^o	23,97±0,65 ^q	18,21±0,08 ^{hi}	6,74±0,09 ^l	5,26±0,05 ^{hi}
1,5	20	10	28,02±0,75 ^{bcde}	5,39±0,11 ^{abcd}	5,65±0,05 ^{abc}	1,65±0,02 ^b	4,60±0,04 ^g
1,5	20	20	32,68±0,56 ^{hijk}	11,76±0,23 ^{ghi}	10,86±0,16 ^d	3,83±0,06 ^h	5,02±0,03 ^h
1,5	20	50	57,93±0,96 ⁿ	21,49±0,34 ^o	17,64±0,18 ^{gh}	7,42±0,12 ⁿ	5,57±0,10 ^j
2	20	10	29,98±0,54 ^{efg}	5,67±0,11 ^{bcd}	5,94±0,00 ^{bc}	3,30±0,06 ^{ef}	5,23±0,03 ^{hi}
2	20	20	34,28±0,57 ^{jk}	11,95±0,23 ^{hij}	11,04±0,25 ^d	4,27±0,02 ⁱ	5,33±0,06 ^{ij}
2	20	50	52,63±0,90 ^m	19,01±0,27 ⁿ	17,08±0,29 ^g	8,10±0,26 ^o	5,89±0,06 ^k
1	22	10	26,26±0,65 ^{abc}	4,70±0,08 ^a	5,19±0,06 ^a	0,00±0,00 ^a	4,73±0,10 ^g
1	22	20	31,33±0,95 ^{ghi}	12,53±0,10 ^{ijk}	10,75±0,02 ^d	3,08±0,09 ^e	6,50±0,11 ^m
1	22	50	69,64±0,69 ^p	28,56±0,58 ^s	20,03±0,43 ^k	7,59±0,08 ⁿ	6,85±0,09 ⁿ
1,5	22	10	28,23±0,18 ^{cdef}	4,95±0,03 ^{ab}	5,47±0,14 ^{ab}	1,67±0,02 ^b	5,48±0,13 ^{ij}
1,5	22	20	32,95±0,54 ^{ijk}	12,74±0,13 ^{jk}	10,93±0,12 ^d	3,48±0,06 ^{fg}	6,92±0,07 ⁿ
1,5	22	50	63,80±0,81 ^o	25,61±0,33 ^r	19,42±0,14 ^{jk}	8,35±0,03 ^o	7,26±0,16 ^o
2	22	10	30,19±0,61 ^{fg}	5,21±0,09 ^{abc}	5,74±0,10 ^{abc}	3,33±0,03 ^{ef}	6,23±0,15 ^l
2	22	20	34,56±0,91 ^k	12,94±0,17 ^k	11,10±0,26 ^d	3,88±0,04 ^h	7,34±0,09 ^o
2	22	50	57,96±1,10 ⁿ	22,65±0,24 ^p	18,80±0,27 ^{ij}	9,11±0,20 ^p	7,67±0,08 ^p

^{a-n} Različita slova u superskriptu, kod podataka prikazanih u istom redu, su oznaka da se sredine statistički značajno razlikuju, na nivou p<0,05

U Tabeli 4.30 prikazana je ANOVA za SOP modele sadržaja bigenih amina u hibridu *Bravo* tokom fermentacije. Na formiranje SOP modela za putrescin, histamin, tiramin i spermidin vrednost statistički značajan uticaj ima linearni član koncentracije soli, dok za kadaverin je statistički značajan na nivou $p < 0,10$. Linearni član temperature ima statistički značajan uticaj na putrescin, kadaverin, histamin i spermidin (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja), dok je za tiramin statistički značajan na nivou $p < 0,10$. Linearni član vremena trajanja procesa ima statistički značajan uticaj na SOP model svih nađenih biogenih amina, dok je kvadratni član vremena trajanja procesa statistički značajan za kadaverin, histamin i spermidin (statistički značajno na nivou $p < 0,05$; 95% granica poverenja), dok ostali članovi polinoma nisu statistički značajni.

Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,903-0,999 ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

Tabela 4.30 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za sadržaj biogenih amina u toku fermentacije hibrida *Bravo*

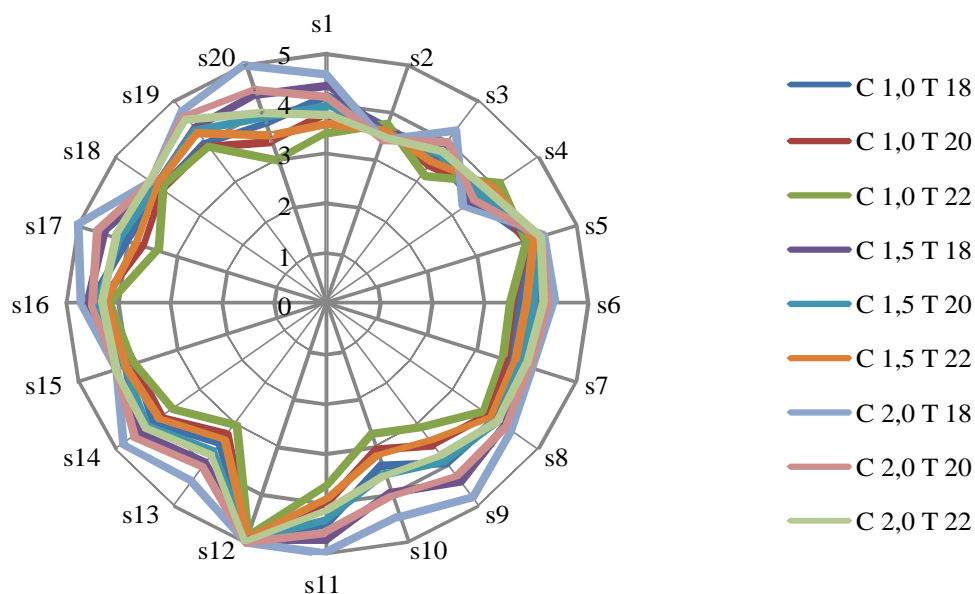
	df	Putrescin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	Spermidin
C	1	4,410*	0,076**	9,490*	3,242*	1,540*
C ²	1	0,088	0,003	0,149	0,009**	0,000
T	1	0,468*	9,943*	9,682*	0,011**	48,631*
T ²	1	0,002	0,019	0,145	0,001	0,000
t	1	1153,799*	647,742*	88,059*	60,925*	3,609*
t ²	1	125,307*	31,902*	7,727*	0,005	0,157*
C×T	1	0,193*	0,008	3,160*	0,000	0,003
C×t	1	0,034	1,958*	22,189*	0,142*	0,134*
T×t	1	12,361*	13,285*	25,826*	0,002	1,133*
Greška	7	0,601	0,397	10,148	0,048	0,037
r ²		0,999	0,999	0,903	0,999	0,999

* statistički značajan na nivou $p < 0,05$; ** statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja

4.2.5 Senzorska ocena fermentisanog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

Tokom fermentacije uzeti su uzorci *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* nakon 50-og dana od postavljanja ogleada. Ocenjivano je 20 parametara-faktora kvaliteta i to su: s1-oblik glavice, s2-boja glavice, s3-ujednačenost boje glavice, s4- tvrdoća glavice, s5-debljina lista, s6-elastičnost lista, s7-savitljivost lista, s8-nervatura lista, s9-boja na preseku, s10- ujednačenost boje na preseku, s11-sluzavost, s12- izgled naliva, s13-tekstura, s14-žvakljivost, s15-intezitet mirisa,

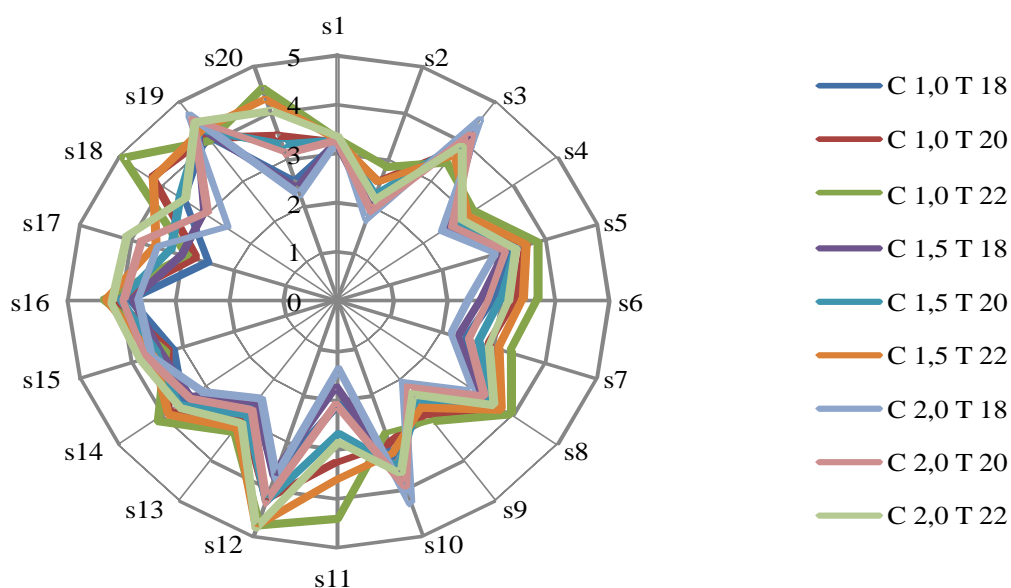
s16-kiselost mirisa, s17-nota mirisa, s18-kiselost ukusa, s19-slanost ukusa, s20-nota ukusa. Na slici 4.12 prikazani su rezultati senzorske ocene fermentisanog *Futoškog* kupusa u zavisnosti od temperature i koncentracije soli. Najbolje senzorski je ocenjen *Futoški* kupus fermentisan na temperaturi 16-18°C i sa 2% soli, dok je najniže ocene dobio kupus fermentisan sa 1 % soli na temperaturi 20-22°C. Izgled naliva (s12) je maksimalno ocenjen kod fermentisanog *Futoškog* kupusa u svim uslovima fermentacije što znači da je naliv bio bistar bez obzira na uslove, a pojava sluzavosti (s11) je u blagoj formi prisutna na višim temperaturama fermentacije. *Futoški* kupus fermentisan na 16-18°C i sa 2% soli je maksimalno ocenjen u pogledu note mirisa i note ukusa, što znači da u ovim uslovima se dobija fermentisani *Futoški* kupus najprijetnijih senzorskih svojstava.



Slika 4.12 Senzorska ocena fermentisanog *Futoškog* kupusa, C-concentracija soli (%), T-temperaturni interval (°C), T 18 (16-18), T 20 (18-20) i T 22 (20-22).

Na slici 4.13 prikazana je senzorska ocena fermentisanog hibrida *Bravo*. Svekupno je hibrid *Bravo* dobio znatno niže ocene u odnosu na *Futoški* kupus na svim uslovima fermentacije. Hibrid *Bravo* je na osnovu senzorskih svojstava više ocene dobio za kupus na fermentisan višoj temperaturi fermentacije. Kod hibrida fermentisanog na temperaturi 16-18°C prisutna je izražena sluzavost. Za pojavu sluzavosti odgovoran je *Leuconostoc mesenteroides*, sa početka fermentacije, koji stvara dekstran i druge polisaharide iz saharoze (Frazier & Westhoff 1988; Hutkins 2008). Neaktivnost enzima invertaze koji invertuje saharozu u redukujuće šećere što je karakteristika nekih hibrida (Stamer *et al.* 1969), uz prisustvo enzima dekstransukroze

Leuconostoc mesenteroides dovodi do pojave sluzavosti u fermentisanom kupusu (Breidt *et al.* 2007; Yamaner *et al.* 2010). Sluzavost je nepoželjna osobina fermentisanog kupusa (Pravilnik,1/79). Kod hibrida *Bravo* na poprečnom preseku je zabeleženo i nepoželjno smekšavanje tkiva u svim uslovima fermentacije (Slika 4.14.), najverovatnije pod dejstvom pektolitičkih enzima, izlučenih od strane mikroorganizama iz grupe Gram-negativnih mikroorganizama *Enterobacter*, *Flavobacterium*, i *Pseudomonas*, pošto difuzija soli nije bila dovoljno brza zbog morfoloških karakteristika glavica hibrida, odnosno zbog njihove zbijenosti i slepljenosti listova (Holzapfel *et al.* 2003; Hutkins 2008; Cvetković *et al.* 2012b).



Slika 4.13 Senzorska ocena fermentisanog hibrida *Bravo*, C-concentracija soli (%), T-temperaturni interval (°C), T 18 (16-18), T 20 (18-20) i T 22 (20-22).



a)

b)

Slika 4.14 Izgled poprečnog preseka glavice fermentisanog *Futoškog* kupusa (a) i hibrida *Bravo* (b)

4.2.5.1 Instrumentalna analiza teksture fermentisanog kupusa

U Tabeli 4.31 prikazani su rezultati instrumentalnog merenja teksture listova *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* fermentisanih na različitim temperaturama i koncentracijama soli. U tabeli su izražene vrednosti za silu, koja predstavlja čvrstinu lista, i rastojanje koje pređe sonda pre pucanja lista što predstavlja elastičnost lista. Za svež *Futoški* kupus dobijena vrednost za silu je $602,15 \pm 56,43$ g dok je za rastojanje dobijeno $78,93 \pm 0,33$ mm. Na osnovu dobijenih rezultata u fermentisanom *Futoškom* kupusu može se zaključiti da je došlo do značajnog smanjivanja čvrstoće listova. Pod uticajem mlečne kiseline tokom fermentacije dolazi do smekšavanja kupusa (Fleming *et al.* 1985). Najmekši su listovi fermentisani sa najnižom koncentracijom soli i na najvišoj temperaturi (Hutkins 2008). Kod *Futoškog* kupusa fermentisanog na $16-18^{\circ}\text{C}$ i sa 2% soli čvrstina listova se smanjila 40% u odnosu na svež kupus, dok je kod kupusa fermentisanog na temperaturi $20-22^{\circ}\text{C}$ i sa 1% soli to smanjenje iznosilo čak blizu 80%. Kod vrednosti za rastojanje odnosno elastičnosti listova nema statistički značajnih razlika ni između različitih režima fermentacije niti između svežeg i fermentisanog *Futoškog* kupusa.

Kod svežeg hibrida *Bravo* pre fermentacije zabeležena je vrednost za silu od $869,53 \pm 194,05$ g, a za rastojanje $78,93 \pm 0,33$ mm. Kod fermentisanog hibrida *Bravo* nije došlo do smanjenja čvrstoće ni elastičnosti listova u odnosu na svež kupus. Kao i kod *Futoškog* kupusa na najvišim temperaturama i najnižim koncentracijama soli čvrstoća listova je najmanja. Kod

vrednosti za elastičnost odnosno rastojanja, nema statistički značajnih razlika kod svih režima fermentacije hibrida *Bravo*.

Tabela 4.31 Tekstura fermentisanog kupusa

Concentracija soli %	Temp °C	<i>Futoški</i>		<i>Bravo</i>	
		Sila (g)	Rastojanje (mm)	Sila (g)	Rastojanje (mm)
1	16-18	144,59±1,58 ^a	77,94±4,52 ^a	870,49±19,34 ^{cd}	78,73±1,24 ^a
1	18-20	133,34±7,85 ^a	78,08±3,03 ^a	752,58±14,73 ^{ab}	78,88±3,87 ^a
1	20-22	122,09±8,96 ^a	78,23±1,14 ^a	634,68±18,43 ^e	79,02±3,27 ^a
1,5	16-18	252,43±16,43 ^c	78,07±4,43 ^a	992,52±4,95 ^f	78,48±5,77 ^a
1,5	18-20	232,79±8,48 ^{bc}	78,22±4,28 ^a	858,09±40,12 ^{bcd}	78,62±2,88 ^a
1,5	20-22	213,15±8,81 ^b	78,36±5,29 ^a	723,65±30,18 ^{ae}	78,77±3,13 ^a
2	16-18	360,27±11,70 ^e	78,21±0,98 ^a	1114,56±31,86 ^g	78,23±3,23 ^a
2	18-20	332,24±9,74 ^{de}	78,35±3,24 ^a	963,59±25,77 ^{df}	78,37±,98 ^a
2	20-22	304,20±15,90 ^d	78,50±2,85 ^a	812,63±37,79 ^{abc}	78,51±1,23 ^a

^{a-n} Različita slova u superskriptu, kod podataka prikazanih u istom redu, su oznaka da se sredine statistički značajno razlikuju, na nivou $p < 0,05$

4.3 Proces osmotske dehidracije kupusa

4.3.1 Kinetika osmotske dehidracije

U Tabeli 4.32 prikazana je promena sadržaja suve materije u *Futoškom* kupusu i hibridu *Bravo* nakon osmotske dehidracije u rastvorima R₁ (saharoza, natrijum hlorid i kalijum hlorid), R₂ (mešavina rastvora R₁ i melase u odnosu 1:1) i rastvoru R₃ (čista melasa). Osmotska dehidracija se odvijala sa tri različite koncentracije rastvora i na tri temperature.

Tabela 4.32. Sadržaj suve materije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* nakon 5 sati osmotske dehidracije

Vrsta i koncentracija rastvora	Sadržaj suve materije					
	<i>Futoški</i>			Hibrid <i>Bravo</i>		
	Temperatura °C					
	20	35	50	20	35	50
R ₁ , 40%	23,89	25,11	30,75	23,99	26,87	32,34
R ₁ , 50%	25,76	28,05	33,99	26,56	29,98	36,03
R ₁ , 60%	26,16	30,35	35,98	29,99	32,33	38,95
R ₂ , 50%	27,87	30,56	34,14	28,02	31,34	35,55
R ₂ , 60%	29,76	33,89	36,88	29,91	33,88	38,57
R ₂ , 70%	30,47	35,21	39,04	32,33	36,43	40,88
R ₃ , 40%	26,43	29,19	36,84	29,86	31,23	37,98
R ₃ , 60%	30,55	32,12	38,16	32,66	34,66	39,55
R ₃ , 80%	33,16	36,24	40,82	34,56	37,11	41,22

Pre osmotske dehidracije prosečni sadržaj suve materije u uzorcima *Futoškog* kupusa bio je 9,78%, a kod hibrida *Bravo* iznosio je 9,82 % (Tabela 4.5). Nakon 5 sati osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa sadržaj suve materije je povećan 2,3 do 4 puta, dok je kod hibrida *Bravo* sadržaj suve materije povećan 2,7 do 4,1 puta. Povećanjem radne temperature i koncentracije osmotskog rastvora smanjuje se količina vode u uzorcima kupusa, tj. više vode je difundovalo iz biljnog tkiva u rastvor. Najveći sadržaj suve materije *Futoškog* kupusa postignut je osmotskim tretmanom na 50°C u melasi koncentracije 80% i iznosi 40,82%. Isti je slučaj i sa hibridom *Bravo* gde je dostignuta suva materija od 41,22% pod istim uslovima. Uzorci kupusa koji su dehidrirani u melasi imaju veći sadržaj suve materije u odnosu na iste dehidrirane u rastvoru saharoze, natrijum hlorida i mineralne soli. Ovo je posledica razlike u koncentraciji rastvora ali i

sastava rastvora za osmotsku dehidraciju. Rastvor R1 je trokomponentni sistem dok melasa ima višestruko više komponenata (sastav melase naveden je u Tabeli 4.38). Obzirom da osmotski pritisak zavisi od broja čestica u rastvoru odnosno od koligativnih osobina rastvora, može da se pretpostavi da veći broj jedinjenja u melasi doprinosi višoj vrednosti osmotskog pritiska (Đaković 2006).

Kodirane vrednosti tehnoloških parametara prikazani su u Tabeli 4.33. U tabelama 4.34 i 4.35 prikazane su srednje vrednosti praćenih odziva WL, SG, DEI, za *Futoški* kupus i hibrid *Bravo* dehidrirane u tri različita osmotska rastvora R₁, R₂ i R₃, tokom 1, 3 i 5 časova trajanja procesa (τ) osmotske dehidracije, kao i na tri različite temperature procesa (t) i tri različite koncentracije osmotskih rastvora (C).

Tabela 4.33 Kodirane vrednosti tehnoloških parametara

	Tehnološki parametri	Kodirane vrednosti		
		-1	0	+1
X_1	Temperatura (°C)	20	35	50
X_2	Vreme (h)	1	3	5
X_3	R1 (%)	40	50	60
	R2 (%)	50	60	70
	R3 (%)	60	70	80

Tabela 4.34 Gubitak vode (Water Loss) $g/g_{p.u.}$, priraštaj suve materije (Solid Gain) $g/g_{p.u.}$ i index osmotske dehidracije (DEI) za *Futoški* kupus dehidriran u rastvorima R₁, R₂ i R₃

Red. br.	Ulazne vrednosti			Rastvor R ₁			Rastvor R ₂			Rastvor R ₃		
	X ₁ (t)	X ₂ (τ)	X ₃ (C)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)
1	-1	-1	-1	0,078	0,049	1,594	0,078	0,033	2,356	0,074	0,021	3,545
2	-1	0	-1	0,122	0,093	1,315	0,123	0,049	2,503	0,089	0,025	3,577
3	-1	+1	-1	0,150	0,093	1,617	0,202	0,068	2,968	0,128	0,040	3,203
4	-1	-1	0	0,121	0,080	1,510	0,112	0,047	2,384	0,085	0,024	3,558
5	-1	0	0	0,148	0,113	1,311	0,172	0,065	2,639	0,102	0,029	3,524
6	-1	+1	0	0,182	0,108	1,683	0,247	0,074	3,334	0,145	0,041	3,534
7	-1	-1	+1	0,166	0,102	1,628	0,189	0,072	2,631	0,114	0,032	3,570
8	-1	0	+1	0,179	0,092	1,944	0,251	0,075	3,353	0,165	0,044	3,741
9	-1	+1	+1	0,191	0,114	1,678	0,282	0,080	3,526	0,228	0,057	4,008
10	0	-1	-1	0,147	0,111	1,325	0,133	0,050	2,664	0,074	0,022	3,368
11	0	0	-1	0,162	0,097	1,667	0,168	0,066	2,549	0,103	0,030	3,418
12	0	+1	-1	0,219	0,100	2,193	0,203	0,074	2,737	0,145	0,039	3,724
13	0	-1	0	0,238	0,098	2,432	0,143	0,057	2,504	0,092	0,028	3,285
14	0	0	0	0,249	0,100	2,485	0,184	0,070	2,633	0,143	0,043	3,327
15	0	+1	0	0,401	0,134	2,991	0,231	0,079	2,924	0,151	0,045	3,366
16	0	-1	+1	0,330	0,124	2,658	0,193	0,073	2,645	0,114	0,032	3,570
17	0	0	+1	0,349	0,110	3,175	0,219	0,077	2,849	0,190	0,049	3,881
18	0	+1	+1	0,372	0,109	3,42	0,273	0,090	3,037	0,224	0,056	4,008
19	+1	-1	-1	0,357	0,099	3,605	0,138	0,060	2,299	0,106	0,030	3,540
20	+1	0	-1	0,367	0,099	3,705	0,168	0,066	2,549	0,144	0,039	3,687
21	+1	+1	-1	0,479	0,121	3,960	0,206	0,077	2,673	0,161	0,043	3,735
22	+1	-1	0	0,455	0,112	4,060	0,213	0,065	3,279	0,129	0,032	4,037
23	+1	0	0	0,478	0,119	4,018	0,262	0,077	3,398	0,231	0,054	4,271
24	+1	+1	0	0,598	0,144	4,154	0,287	0,085	3,379	0,277	0,059	4,701
25	+1	-1	+1	0,484	0,121	3,997	0,264	0,070	3,764	0,185	0,039	4,754
26	+1	0	+1	0,541	0,133	4,069	0,375	0,087	4,312	0,301	0,059	5,103
27	+1	+1	+1	0,676	0,153	4,418	0,438	0,100	4,383	0,337	0,065	5,188

Tabela 4.35 Gubitak vode (Water loss) $g/g_{p.u.}$, priraštaj suve materije (Solid gain) $g/g_{p.u.}$ i index osmotske dehidracije (DEI) za hibrid *Bravo* dehidriran u rastvorima R₁, R₂ i R₃

Red. br.	Ulazne vrednosti			Rastvor R ₁			Rastvor R ₂			Rastvor R ₃		
	X ₁ (t)	X ₂ (τ)	X ₃ (C)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)	Y ₁ (WL)	Y ₂ (SG)	Y ₃ (DEI)
1	-1	-1	-1	0,077	0,044	1,742	0,073	0,030	2,433	0,072	0,019	3,784
2	-1	0	-1	0,118	0,091	1,291	0,122	0,042	2,894	0,084	0,023	3,666
3	-1	+1	-1	0,147	0,088	1,671	0,197	0,065	3,038	0,127	0,037	3,423
4	-1	-1	0	0,117	0,072	1,622	0,110	0,041	2,679	0,081	0,021	3,858
5	-1	0	0	0,146	0,111	1,312	0,166	0,062	2,684	0,098	0,025	3,927
6	-1	+1	0	0,178	0,101	1,767	0,245	0,071	3,444	0,142	0,039	3,631
7	-1	-1	+1	0,162	0,099	1,637	0,184	0,070	2,623	0,111	0,029	3,813
8	-1	0	+1	0,178	0,089	1,997	0,247	0,070	3,525	0,162	0,041	3,952
9	-1	+1	+1	0,184	0,109	1,688	0,280	0,073	3,840	0,227	0,050	4,533
10	0	-1	-1	0,146	0,100	1,456	0,130	0,044	2,953	0,073	0,020	3,631
11	0	0	-1	0,161	0,089	1,808	0,167	0,060	2,786	0,099	0,025	3,956
12	0	+1	-1	0,215	0,089	2,415	0,182	0,070	2,607	0,143	0,031	4,603
13	0	-1	0	0,236	0,091	2,599	0,139	0,050	2,788	0,091	0,022	4,114
14	0	0	0	0,247	0,088	2,808	0,181	0,060	3,017	0,141	0,033	4,280
15	0	+1	0	0,389	0,132	2,950	0,227	0,071	3,192	0,146	0,040	3,659
16	0	-1	+1	0,327	0,119	2,751	0,186	0,069	2,703	0,111	0,028	3,949
17	0	0	+1	0,345	0,094	3,673	0,216	0,070	3,092	0,186	0,041	4,549
18	0	+1	+1	0,365	0,099	3,690	0,267	0,087	3,067	0,219	0,049	4,476
19	+1	-1	-1	0,349	0,090	3,873	0,128	0,051	2,519	0,102	0,022	4,645
20	+1	0	-1	0,362	0,091	3,974	0,164	0,059	2,784	0,138	0,023	5,998
21	+1	+1	-1	0,474	0,101	4,694	0,203	0,068	2,979	0,154	0,032	4,802
22	+1	-1	0	0,438	0,109	4,021	0,208	0,059	3,526	0,123	0,028	4,393
23	+1	0	0	0,474	0,110	4,307	0,256	0,070	3,660	0,227	0,044	5,151
24	+1	+1	0	0,584	0,132	4,427	0,262	0,079	3,312	0,277	0,050	5,533
25	+1	-1	+1	0,476	0,116	4,106	0,256	0,070	3,655	0,178	0,030	5,925
26	+1	0	+1	0,535	0,117	4,573	0,365	0,078	4,684	0,293	0,049	5,973
27	+1	+1	+1	0,665	0,141	4,719	0,434	0,088	4,935	0,328	0,059	5,567

Primenom metode odzivne površine i ANOVA-e ispitivan je uticaj procesnih promenljivih (koncentracije rastvora, temperature i vremena imerzije) na promenu kinetičkih parametara tokom osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. U okviru ANOVA-e ispituje se uticajnost parametara na formiranje SOP modela WL i SG (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

U tabeli 4.36 prikazana je analiza varijanse (ANOVA) za odzive modela kinetičkih parametara procesa osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa.

Table 4.36 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za kinetičke parametre procesa osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa

	d f	Rastvor R ₁		Rastvor R ₂		Rastvor R ₃	
		WL	SG	WL	SG	WL	SG
Temp.	1	6931994*	0,003669*	27503	0,000558*	0,001276	0,000072*
Temp. ²	1	890470*	0,000008	91940	0,000009	0,038882*	0,000038
Vreme	1	1050331*	0,001800*	7941	0,001191*	0,003190	0,000091*
Vreme ²	1	66525	0,000067	13512	0,000002	0,003651	0,000028
Conc.	1	627552*	0,002134*	21156	0,000065**	0,000186	0,000010
Conc. ²	1	123977	0,000171	91870	0,000016	0,004108	0,000003
Temp. × t	1	414999*	0,000000	119941*	0,000001	0,010092**	0,000002
Temp. × Conc.	1	456500	0,000019	413457	0,000044	0,024480*	0,000001
Vreme × Conc.	1	4514	0,000056	120007	0,000037	0,024300*	0,000056*
Greška	$\frac{1}{7}$	1200082	0,003016	829762	0,000301	0,045623	0,000237
r ²		0,898	0,724	0,641	0,943	0,952	0,942

*statistički značajan na nivou p<0,05; **statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

Kod rastvora R₁ na formiranje SOP modela za WL je statistički značajan linerni i kvadratni član temperature, linerani član vremena trajanja procesa i linearni član koncentracije rastvora. Na izračunavanje SG u rastvoru R₁ značajan uticaj imaju linearni članovi temperature, vremena trajanja i koncentracije rastvora (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Kod rastvora R₂ statistički značajan uticaj na izračunavanje SG ima linerani član temperature i linearni član vremena trajanja, dok je linerni član koncentracije rastvora značajan na nivou p<0,10. Kod rastvora R₃ na formiranje SOP modela WL statistički značajan uticaj ima kvadratni član temperature. Kod izračunavanja SG statistički je značajan linerni član temperature i linerni član vremena trajanja procesa. Vrednosti koeficijenta determinacije r² variraju od 0,724-0,952 ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

U tabeli 4.37 prikazana je analiza varijanse (ANOVA) za odzive modela kinetičkih parametara procesa osmotske dehidracije hibrida *Bravo*.

Table 4.37 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za za kinetičke parametre procesa osmotske dehidracije hibrida *Bravo*

	df	RastvorR ₁		RastvorR ₂		RastvorR ₃	
		WL	SG	WL	SG	WL	SG
Temp.	1	0,516806*	0,002289*	0,001875	0,000347	0,000183	0,000000
Temp. ²	1	0,011911*	0,000001	0,004817*	0,000005	0,004741	0,000034
T	1	0,042341*	0,001284*	0,011745	0,001350	0,000420	0,000041
t ²	1	0,002919**	0,000096	0,000060	0,000004	0,000422	0,000000
Conc.	1	0,078408*	0,002222*	0,001767	0,000052	0,000047	0,000019
Conc. ²	1	0,002041	0,000294	0,000840	0,000027	0,000445	0,000000
Temp.× t	1	0,007854*	0,000048	0,000192	0,000014	0,001281	0,000001
Temp.× Conc.	1	0,007957*	0,000027	0,004840	0,000027	0,002945	0,000033
t×Conc.	1	0,000019	0,000070	0,000901	0,000127	0,003234	0,000085
Error	17	0,013469	0,003635	0,013605	0,000361	0,007114	0,000231
r ²		0,980	0,641	0,913	0,928	0,942	0,929

*statistički značajan na nivou p<0,05; **statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

Na izračunavanje WL u rastvoru R₁ značajan uticaj ima linearni i kvadratni član temperature i linerani članovi vremena trajanja porcesa i koncentracije rastvora (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Na izračunavanje SG u rastvoru R₁ značajan uticaj ima linearni članovi temperature, vremena trajanja i koncentracije rastvora (statistički značajno na nivou p<0,05; 95% granica poverenja). Kod rastvora R₂ statistički značajan uticaj na računanje SG ima linerani član temperature i linearni član vremena trajanja, dokje linerni član koncentracije rastvora značajan na nivou p<0,10. Kod rastvora R₃ na SOP model WL statistički značajan uticaj ima kvadratni član temperature. Za izračunavanje SG u rastvoru R₃ statistički je značajan linerni član temperature i linerni član vremena trajanja procesa.

Vrednosti koeficijenata determinacije r² variraju od 0,641-0,980 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

4.3.2 Promena sadržaja nutritivnih komponenata tokom procesa osmotske dehidracije kupusa

Osnovni hemijski sastav korišćene melase za osmotsku dehidraciju kupusa prikazan je u tabeli 4.38.

Tabela 4.38 Osnovni hemijski sastav melase šećerne repe korišćene za osmotsku dehidraciju kupusa

Suva materija (%)	85,04
Voda (%)	21,26
Proteini (%)	10,15
Ukupni fosfati (%)	0,28
Ukupni pepeo (%)	8,46
Masti (%)	0,10
Natrijum hlorid (%)	0,06
Saharoza (%)	49,11
Kalijum(mg/100g)	55844
Natrijum (mg/100g)	1448
Magnezijum(mg/100g)	689
Gvožđe(mg/100g)	32,27
Kalcijum(mg/100g)	2749

4.3.2.1 Mineralni sastav osmotski dehidriranog kupusa

Tokom procesa osmotske dehidracije pored povećanja suve materije, dolazi i do razmene materija između osmotskog rastvora i tretiranog materijala-kupusa. Obzirom da je melasa između ostalog bogata mineralnim materijama (opisano u poglavlju 2.4.1), predstavlja povoljan osmotski rastvor. U Tabeli 4.39 prikazan je mineralni sastav svežeg i osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. U Tabeli 4.40 prikazan je sadržaj minerala u osmotskim rastvorima R₁, R₂ i R₃ nakon osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Sadržaj gvožđa u svežem *Futoškom* kupusu iznosio je 30,93±1,16 mg/kg suve materije, dok je u hibridu *Bravo* iznosio 17,75±0,15 mg/kg suve materije. Osmotska dehidracija predstavlja proces kojim se može postići nutritivno obogaćen gotov proizvod (Barrera *et al.* 2004; Santacruz-Vazquez *et al.* 2008). Nakon procesa osmotske dehidracije u rastvoru R₁ došlo je do gubitka gvožđa u *Futoškom* i hibridu *Bravo* za približno 60%. U rastvoru R₂ kod *Futoškog* kupusa održala se ista količina gvožđa u odnosu na svež kupus, dok je kod hibrida *Bravo* zabeležen porast sadržaja gvožđa od 155%. Tokom dehidracije u rastvoru R₃ došlo je do blagog porasta sadržaja gvožđa

kod *Futoškog* kupusa za 25%. Porast sadržaja gvožđa u kupusu tokom dehidracije u rastvorima R₂ i R₃ potiče najverovatnije od melase gde je zabeleženo pre dehidracije 32,27mg/ kg gvožđa (Tabela 4.38). Tokom dehidracije u rastvoru R₁ došlo je dopada sadržaja Fe, Cu, Mg i Ca u odnosu na svež kupus što je u skladu sa navodima autora o gubitku 30-60% minerala nakon dehidracije u rastvoru saharoze (Peiró *et al.* 2006).

Tabela 4.39 Mineralni sastav *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* nakon osmotske dehidracije u rastvorima za osmotsku dehidraciju R₁, R₂ i R₃ (mg/kg suve materije)

Uzorak	Fe	Cu	K	Na	Mg	Ca
<i>Futoški</i> svež	30,93±	5,26±	41836,50±	979,99±	2172,82±	2467,62±
	1,16 ^{bcd}	0,38 ^c	2018,22 ^{bc}	45,58 ^a	44,35 ^{ef}	100,24 ^h
Hibrid svež	17,75±	6,50±	47619,95±	1555,20±	2448,05±	2046,75±
	0,15 ^{abc}	0,31 ^d	4466,91 ^c	141,79 ^{bc}	568,32 ^f	46,28 ^g
<i>Futoški</i> R ₁	10,93±	0,00±	65460,51±	6616,79±	742,66±	466,79±
	1,30 ^{ab}	0,00 ^a	3136,87 ^{de}	253,82 ^g	44,35 ^{bc}	143,71 ^b
<i>Futoški</i> R ₂	29,34±	0,00±	85346,22±	3465,62±	1199,72±	1379,12±
	2,68 ^{bcd}	0,00 ^a	2261,65 ^f	57,80 ^{ef}	75,51 ^{cd}	42,53 ^d
<i>Futoški</i> R ₃	38,92±	0,00±	86391,66±	923,86±	2017,02±	1552,24±
	2,04 ^{cd}	0,00 ^a	4016,16 ^f	75,89 ^a	489,92 ^{ef}	90,45 ^e
<i>Bravo</i> R ₁	11,59±	0,00±	61294,19±	6994,64±	742,06±	360,47±
	0,99 ^{ab}	0,00 ^a	3957,39 ^d	351,48 ^g	21,30 ^{bc}	15,88 ^a
<i>Bravo</i> R ₂	44,53±	0,00±	73158,28±	3735,79±	1202,19±	1381,53±
	28,27 ^d	0,00 ^a	6391,30 ^{de}	11,18 ^f	17,55 ^{cd}	17,29 ^d
<i>Bravo</i> R ₃	37,63±	0,00±	77558,35±	1128,88±	1650,15±	1818,63±
	3,03 ^{cd}	0,00 ^a	8772,07 ^{ef}	164,40 ^{ab}	180,83 ^{de}	47,63 ^f

U tabeli 4.39 se vidi da je sadržaj gvožđa smanjen u rastvoru R₃ (čista melasa) u odnosu na polaznu vrednost. U svežem *Futoškom* nađeno je kalijuma oko 42 g/kg suve materije, dok kod hibrida *Bravo* oko 48 g/kg sm. Naveći porast sadržaja kalijuma nakon dehidracije obe vrste kupusa postignut je u rastvoru R₃ tj. čistoj melasi. Obzirom da je melasi izuzetno bogata kalijumom (sadrži oko 55 mg/kg), došlo je do obogaćivanja dehidriranog kupusa ovim

elementom. Najveće povećanje sadržaja natrijuma zabeleženo je tokom osmotske dehidracije urastvoru R₁ i kod *Futoškog* i kod hibrida *Bravo*. Najviše magnezijuma se nalazi u osmotski dehidriranom kupusu u rastvoru R₃, i to za *Futoški* 2017,02±489,92 mg/ kg suve materije, a za *Bravo* 1650,15±180,83 mg/kg suve materije. Tokom osmotske dehidracije obe vrste kupusa došlo je do smanjenja sadržaja kalcijuma u odnosu na svež kupus. Nakon dehidracije u rastvoru R₁ sadržaj kalcijuma u *Futoškom* kupusu je 5, a u hibridu *Bravo* 5,5 puta niži u odnosu na svež kupus.

Tabela 4.40 Mineralni sastav rastvora R₁, R₂ i R₃ nakon osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* (mg/ kg)

Uzorak	Fe	Cu	K	Na	Mg	Ca
Melasa	32,27±	0,00±	55844,73±	1447,98±	688,9±	2748,8±
	3,46 ^c	0,00 ^b	14287,46 ^c	263,54 ^a	68,05 ^d	408,05 ^c
R ₁ <i>Futoški</i>	0,72±	0,43±	10256,06±	2936,35±	0,00±	1148,14±
	0,24 ^a	0,01 ^a	1087,40 ^b	117,68 ^c	0,00 ^a	65,62 ^a
R ₂ <i>Futoški</i>	9,85±	0,41±	32378,26±	1900,20±	200,10±	1983,66±
	5,85 ^{ab}	0,02 ^a	1803,41 ^a	80,53 ^b	2,01 ^b	92,20 ^b
R ₃ <i>Futoški</i>	17,03±	0,41±	34434,38±	1449,90±	308,45±	2854,35±
	1,47 ^b	0,03 ^a	4279,40 ^a	163,40 ^a	13,89 ^c	86,30 ^c
R ₁ <i>Bravo</i>	0,86±	0,34±	9495,24±	3263,13±	0,00±	4431,55±
	0,10 ^a	0,08 ^a	560,84 ^b	178,72 ^c	0,00 ^a	576,93 ^d
R ₂ <i>Bravo</i>	10,46±	0,39±	31302,36±	1896,57±	197,35±	1998,47±
	6,39 ^{ab}	0,04 ^a	1419,13 ^a	50,61 ^b	7,12 ^b	80,63 ^b
R ₃ <i>Bravo</i>	18,28±	0,39±	36390,35±	1466,38±	374,17±	2763,39±
	1,67 ^b	0,02 ^a	2924,81 ^a	118,96 ^a	25,11 ^c	73,23 ^c

4.3.2.2 Promena sadržaja askorbinske kiseline u kupusu tokom procesa osmotske dehidracije

Tokom osmotske dehidracije došlo je do pada sadržaja askorbinske kiseline u odnosu na svež kupus i za *Futoški* i za hibrid *Bravo*. Osmotskoj dehidraciji prethodi operacija sečenja listova kupusa kao i manipulacija tokom samog procesa, što umnogome doprinosi padu sadržaja L-

askorbinske kiseline. Sadržaj L-askorbinske kiseline u svežem *Futoškom* kupusu iznosio je 10,76 mg/100 g, a kod hibrida *Bravo* 8,82 mg/ kg (Tabela 4.5). Gubitak L-askorbinske kiseline u *Futoškom* kupusu nakon osmotske dehidracije je od 16% (rastvor R₃) do 19% (rastvor R₁). Gubitak L-askorbinske kiseline kod hibrida *Bravo* iznosi 32% u rastvoru R₂ do 38% u rastvoru R₁. Navodi drugih autora pokazuju da je gubitak L-askorbinske kiseline nakon osmotske dehidracije u saharozi oko 6-25% (Peiró *et al.* 2006). Pad sadržaja askorbinske kiseline može da se objasni s jedne strane usled izdvajanja vode tokom dehidracije, (askorbinska kiselina rastvorljiva u vodi) (Marfil *et al.* 2008), a s druge strane hemijskom i enzimatskom degradacijom tokom sečenja kupusa i pripreme (Devic *et al.* 2009; Moraga *et al.* 2011; Phisut *et al.* 2013). Tabela 4.41 prikazuje deskriptivnu statistiku za sadržaj askorbinske kiseline nakon procesa osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*.

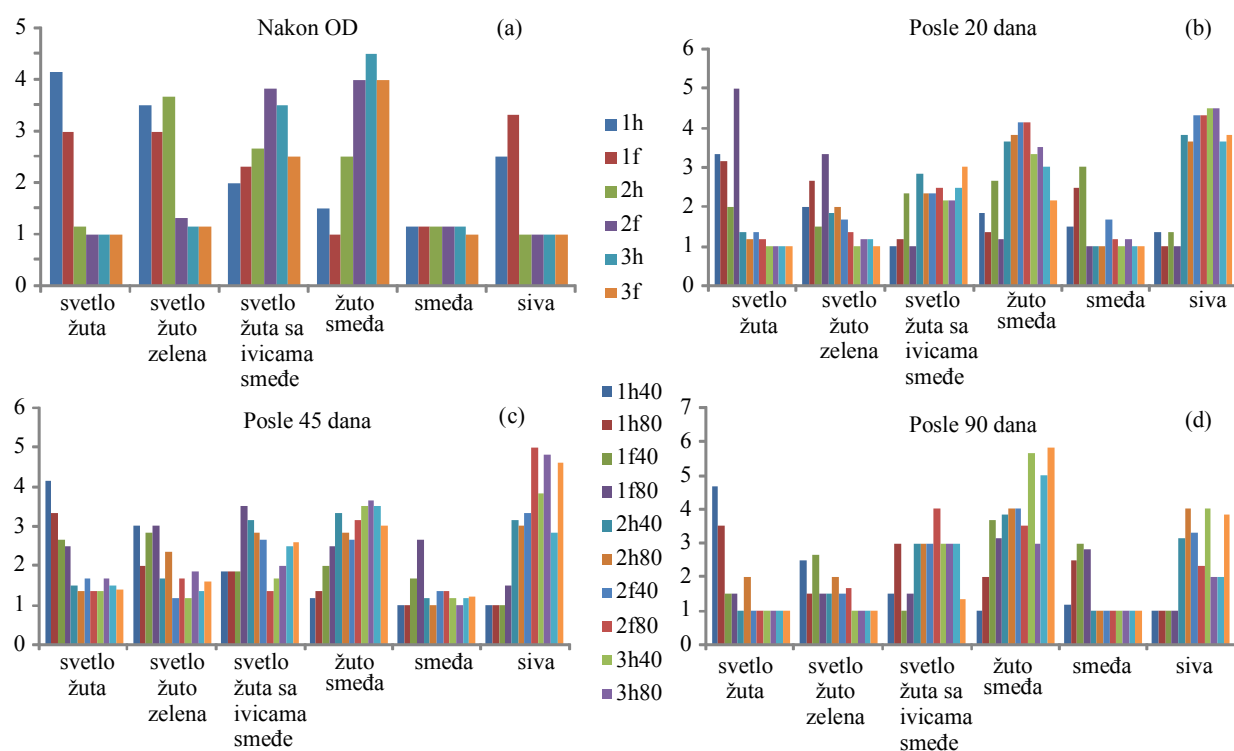
Tabela 4.41 Deskriptivna statistika za sadržaj L-askorbinske kiseline nakon osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*.

	<i>Futoški</i> R ₁	<i>Futoški</i> R ₂	<i>Futoški</i> R ₃	<i>Bravo</i> R ₁	<i>Bravo</i> R ₂	<i>Bravo</i> R ₃
Average	8,709	8,818	8,996	5,501	6,045	5,874
St. dev.	1,576	0,724	1,498	0,660	0,536	1,499
Min.	7,346	8,123	7,552	4,948	5,433	4,345
Max.	10,435	9,567	10,542	6,232	6,429	7,342
Var.	2,484	0,524	2,243	0,436	0,287	2,248

4.3.3 Senzorska ocena osmotski dehidriranog kupusa, *Futoški* i hibrid *Bravo* tokom skladištenja

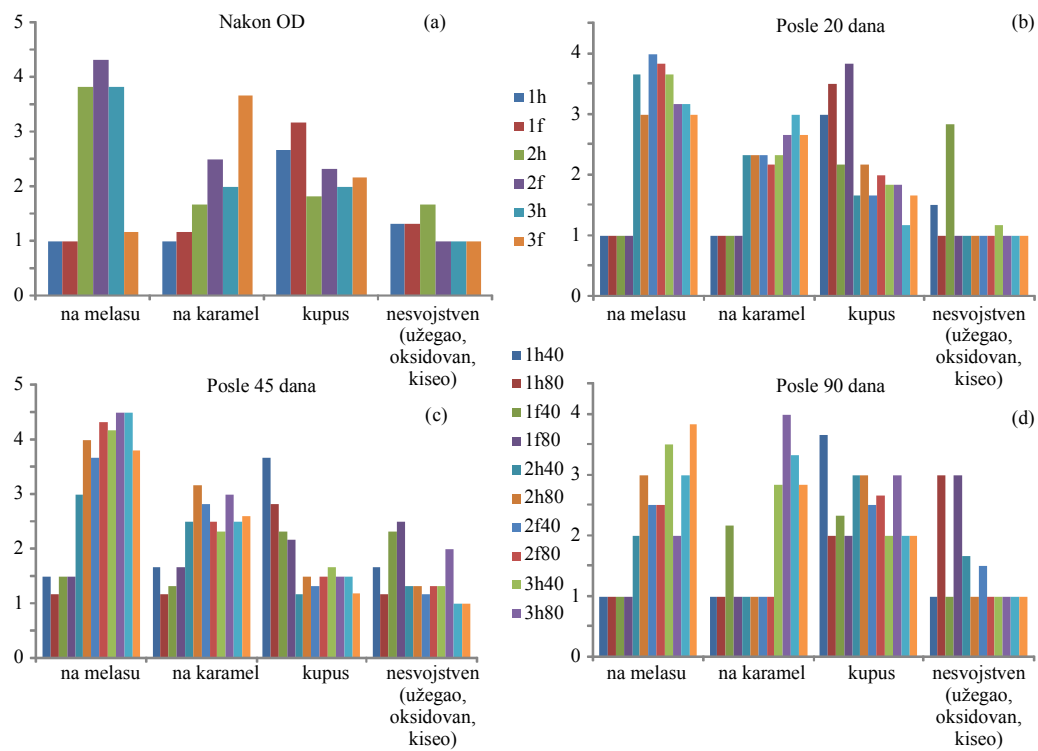
Na slici 4.15 prikazan je histogram senzorske ocene boje osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, kao i promene boje tokom skladištenja. Nakon osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u tri različita osmotska rastvora, kupus je upakovan u modifikovanoj atmosferi različitih smeša gasova CO₂ i N₂ i ispitivana je njegova održivost.

Nakon procesa osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa u rastvoru R₁ panel je najvišom ocenom, tj kao najintenzivnijom označio svetložutu boju, a kod hibrida *Bravo* u istom rastvoru svetložuto zelenu boju. Osmotski dehidriran *Futoški* kupus u rastvoru R₂ opisan je kao žutosmeđ, a hibrid kao žut sa ivicama smeđe boje. *Futoški* kupus i hibrid *Bravo* dehidrirani u čistoj melasi imali su žuto smeđu u boju. Tokom procesa skladištenja u pakovanju sa modifikovanom atmosferom nije zabeležena značajna promena nijanse i intenziteta boje.



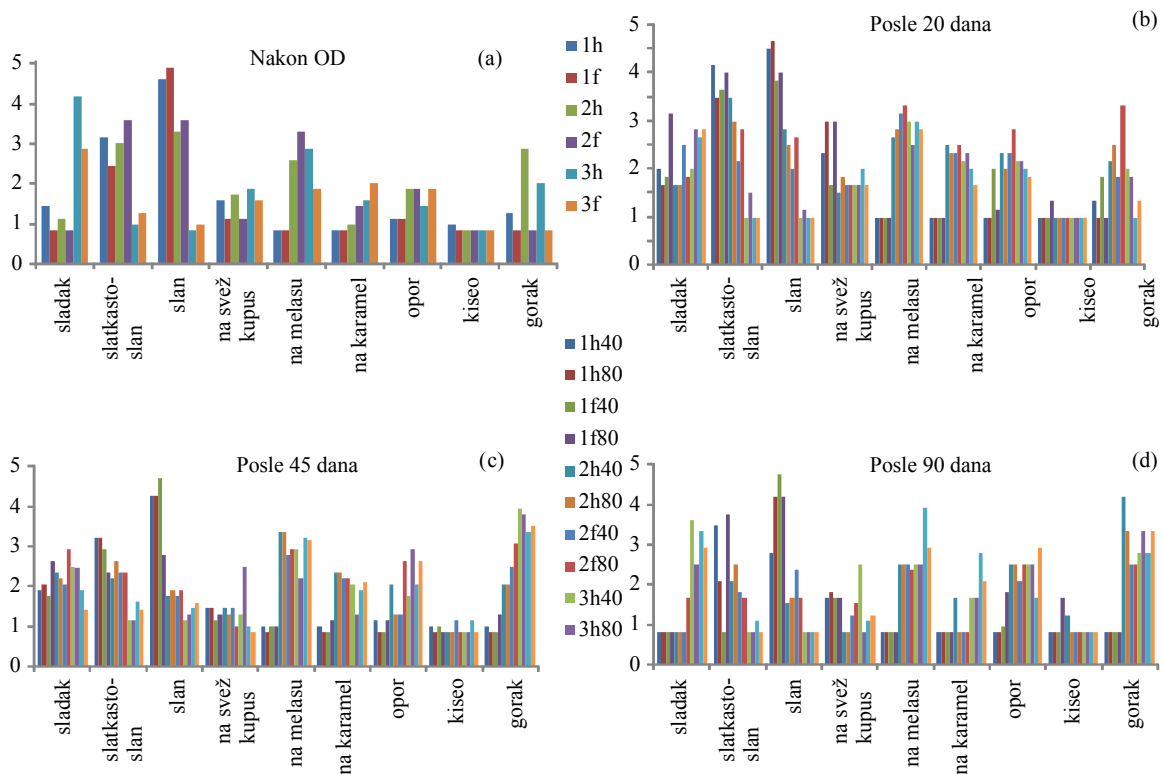
Slika 4.15 Senzorska ocena boje osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* tokom skladištenja, 1,2,3-rastvor R_1, R_2 i R_3 ; h-hibrid *Bravo*, f-*Futoški* kupus, 40-40%CO₂:60%N₂; 80-80%CO₂:20%N₂.

Na slici 4.16 prikazana je senzorska ocena mirisa osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. *Futoškik* kupus i hibrid *Bravo* dehidrirani u rastvoru R₁ zadržali su miris svežeg kupusa, dok je kod obe vrste kupusa dehidriranim u rastvorima R₂ i R₃, dominantna nota mirisa je bila na melasu i karamel. Tokom perioda skladištenja od 45 dana dolazi do pojave blago izraženog nesvojstvenog mirisa i to kod *Futoškog* dehidriranog u rastvoru R₁ pakovanih u obe mešavine gasova. Nakon 90 dana skladištenja neprijatan izražen miris se pojavio kod *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* dehidriranih u rastvoru R₁ upakovanih u 80:40% (CO₂:N₂).



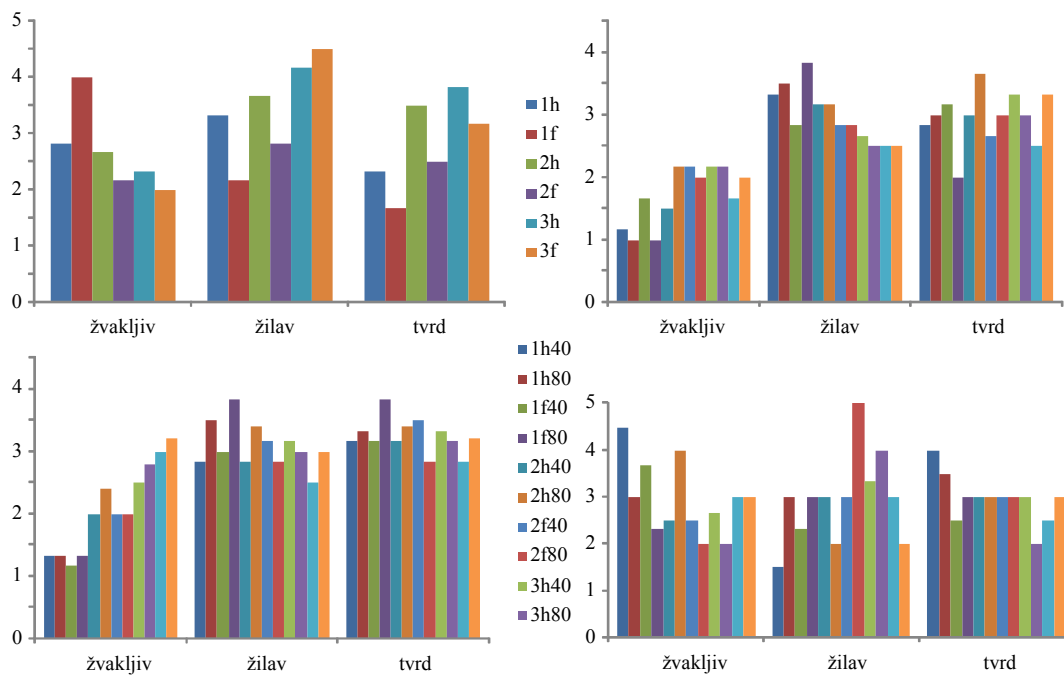
Slika 4.16 Senzorska ocena mirisa osmotski dehidriranog *Futošog* kupusa i hibrida *Bravo* tokom skladištenja, 1,2,3-rastvor R_1, R_2 i R_3 ; h-hibrid *Bravo*, f-*Futoški* kupus, 40-40%CO₂:60%N₂; 80-80%CO₂:20%N₂.

Na slici 4.17 prikazana je senzorska ocena ukusa *Futoškog* i hibrida *Bravo* nakon procesa osmotske dehidracije i nakon skladištenja u modifikovanoj atmosferi. Kod kupusa dehidriranih u rastvoru R_1 ukus je označen kao dominantno slan. Kod kupusa dehidriranih u rastvoru R_2 ukus je ocenjen kao slatkasto-slan i slan sa podjednakim intezitetom. Tokom skladištenja kupusa nakon 20 dana dolazi do pojave gorkog ukusa kod svih uzoraka dehidriranih kupusa, osim onih dehidriranih u rastvoru R_1 . Takav trend je nastavljen do 45-og i 90-og dana skladištenja.



Slika 4.17 Senzorska ocena ukusa osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* tokom skladištenja, 1,2,3-rastvor R_1, R_2 i R_3 ; h-hibrid *Bravo*, f-*Futoški* kupus, 40-40%CO₂:60%N₂; 80-80%CO₂:20%N₂.

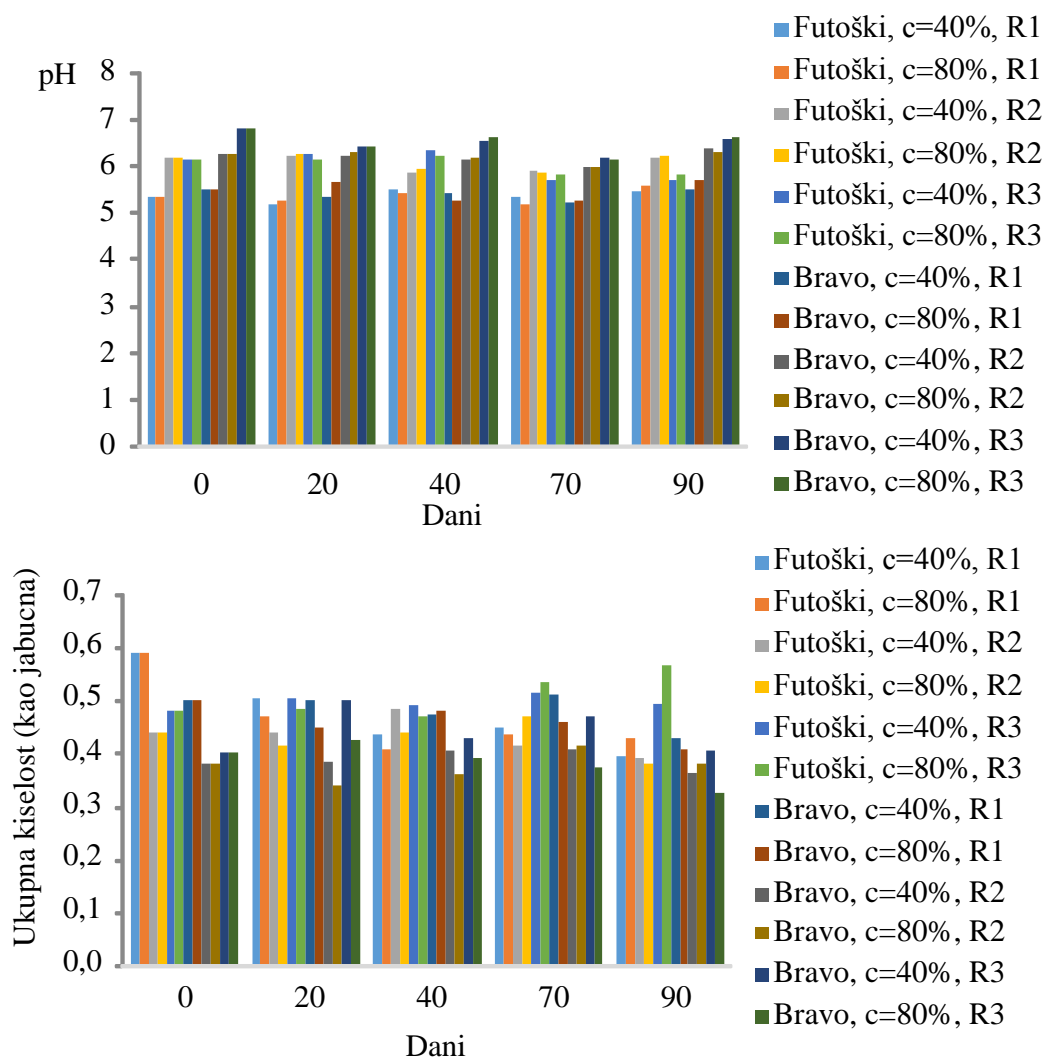
Slika 4.18 prikazuje senzorsku ocenu teksture osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Tekstura je ocenjivana senzorski žvakanjem. Najnežniju žvakljivu strukturu ima *Futoški* kupus dehidriran u rastvoru R₁. Nasuprot žvakljivosti najveću žilavost pokazao je *Futoški* kupus dehidriran u rastvoru R₃. Tvrdoća kupusa je naizraženija kod hibrida *Bravo* nakon dehidratacije u R₃. Tokom skladištenja žvakljivost se smanjuje dok se žilavost i tvrdoća povećavaju kod svih posmatranih uzoraka.



Slika 4.18 Senzorska ocena teksture osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* tokom skladištenja, 1,2,3-rastvor R₁,R₂ i R₃; h-hibrid *Bravo*, f-*Futoški* kupus, 40 40%CO₂:60%N₂; 80-80%CO₂:20%N₂

4.3.4 Promena hemijskih i mikrobioloških parametara osmotski dehidriranog kupusa tokom skladištenja

Na slici 4.19 prikazana je promena sadržaja ukupnih kiselina (izraženo na jabučnu kiselinu) i pH vrednosti tokom vremena čuvanja osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*. Najvišu vrednost ukupne kiselosti i najnižu pH vrednost ima kupus dehidriran u R₁ rastvoru.



Slika 4.19 pH vrednost i ukupna kiselost (%) tokom čuvanja osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*

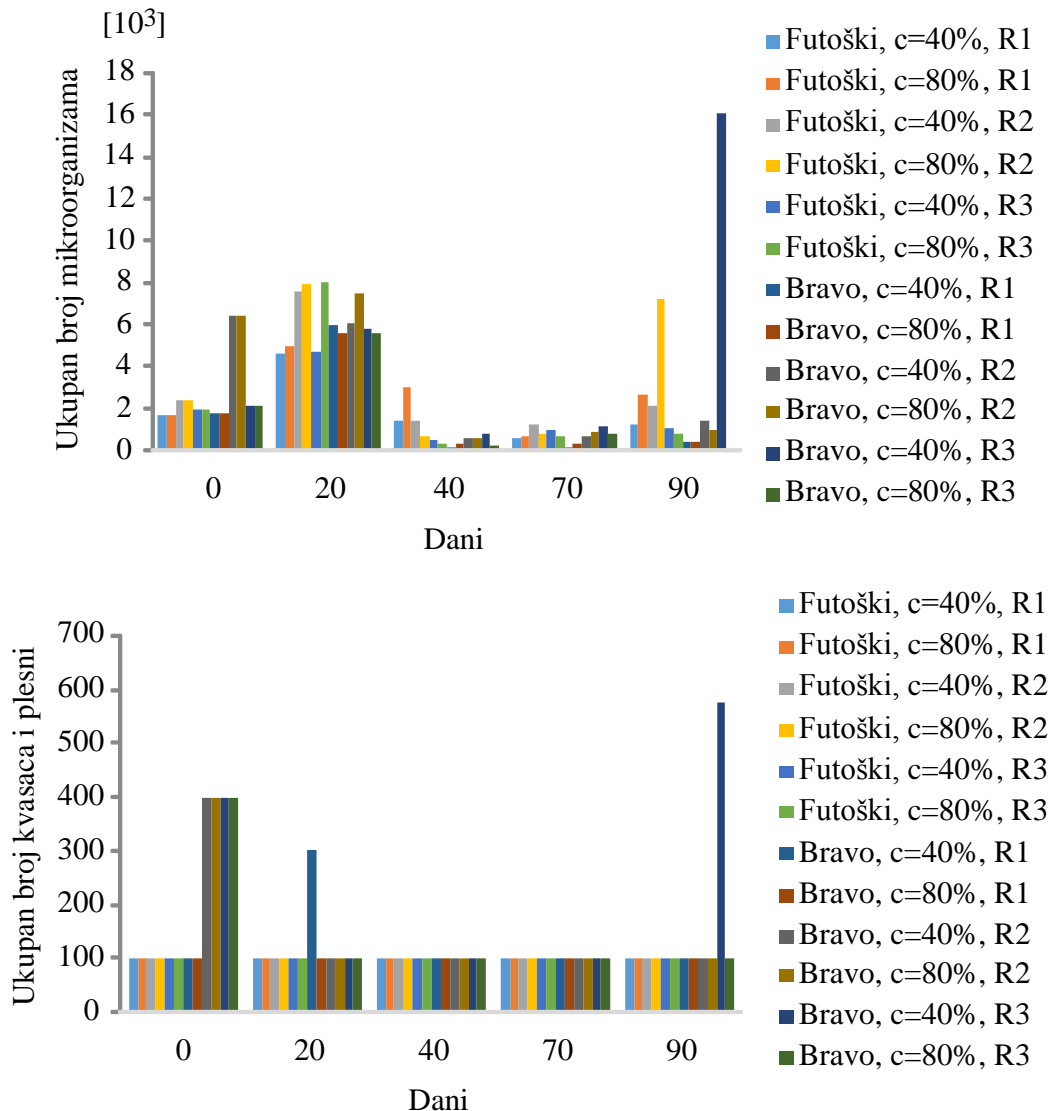
Najniži sadržaj ukupnih kiselina ima hibrid *Bravo* dehidriran u čistoj melasi R₃. Tokom čuvanja osmotski dehidriranog kupusa došlo je do blagog pada ukupne kiselosti *Futoškog*

kupusa i hibrida *Bravo* u rastvoru R₁, što je u skladu sa navodima autora o dehidraciji u rastvoru saharoze (Rodrigues *et al.* 2006). Kod pH vrednosti nema značajnih promena tokom čuvanja osmotski dehidriranog kupusa bez obzira na vrstu kupusa, vrstu rastvora za osmotsku dehidraciju i odabranu smešu gasova.

Na slici 4.20 prikazana je promena mikrobioloških parametara, i to ukupnog broja mikroorganizama-UBM i ukupnog broja kvasaca i plesni-KP. Pored navedenih mikrobioloških parametara, patogeni mikroorganizmi nisu detektovani u osmotski dehidriranom kupusu tokom 90 dana (Tabela 4.40), što je u skladu sa navodima nekih autora (Pereira *et al.* 2004; Rodrigues *et al.* 2006). Mikroorganizmi prisutni odmah nakon procesa osmotske dehidracije verovatno su posledica manualne pripreme (sečenje, pranje ispiranje) kupusa. Kasnije tokom perioda čuvanja između 20-og i 45-og dana dolazi do znatnog pada ukupnog broja mikroorganizama, zbog nedostupnosti kiseonika u MAP-u. Kasnije oko 70-og i 90-og dana čuvanja dolazi do ponovnog rasta broja mikroorganizama koji su verovatno anaerobni mikroorganizmi. Na slici 4.20 vidi se da je rast kvasaca i plesni suzbijen pakovanjem u MAP, što je u skladu sa ranijim istraživanjima (Mohd-Som *et al.* 1995).

Tabela 4.40 Patogeni mikroorganizmi analizirani u osmotski dehidriranom *Futoškom* kupusu i hibridu *Bravo*.

Mikroorganizmi	Nađeno
<i>Enterobacteriaceae</i> (CFU/ml)	< 10
<i>Escherichia coli</i> (CFU/ml)	< 10
Koagulaza pozitivne stafilokoke(CFU/ml)	< 100
<i>Salmonella spp</i>	Nije nađeno u 25g
Sulforedukujuće klostridije	< 10



Slika 4.20 Mikrobiološki parametri (CFU/g) tokom čuvanja osmotski dehidriranog kupusa

4.3.4.3 Instrumentalno merenje promene boje tokom skladištenja osmotski dehidriranog kupusa

U Tabeli 4.41 prikazani su parametri boje *Futoškog* kupusa nakon osmotske dehidratacije i tokom čuvanja u uslovima modifikovane atmosfere. Tokom čuvanja osmotski dehidriranog kupusa vrednost b^* (udeo žute i plave) se vremenom smanjuje, dok vrednost a^* (udeo crvene i zelene) ostaje približno ista. Svetloća boje L^* se takođe tokom skladištenja smanjuje kod svih uzoraka osim kod *Futoškog* kupusa dehidriranog u rastvoru R_3 i pakovanog sa 80% CO_2 .

Tabela 4.41 Parametri boje *Futoškog* kupusa osmotski dehidriranog u tri različita rastvora tokom čuvanja

Rastvor	Dani	% CO ₂	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
R ₁	20	40	64,125	1,648	24,969	25,168	86,742
R ₁	45	40	49,552	9,349	24,079	25,937	68,359
R ₁	90	40	60,26	4,214	19,64	20,154	77,85
R ₁	20	80	69,138	-0,951	29,196	29,327	91,941
R ₁	45	80	40,861	10,679	16,678	19,881	56,76
R ₁	90	80	46,189	10,986	20,821	23,585	61,892
R ₂	20	40	50,686	8,825	25,682	27,268	70,958
R ₂	45	40	43,934	8,761	19,3	21,286	65,016
R ₂	90	40	44,84	11,763	20,428	23,63	59,911
R ₂	20	80	42,93	9,633	20,928	23,138	64,561
R ₂	45	80	44,426	11,492	20,36	23,419	60,224
R ₂	90	80	42,173	11,587	19,823	22,977	59,562
R ₃	20	40	48,275	8,285	21,531	23,141	68,784
R ₃	45	40	51,388	2,204	27,927	28,045	85,375
R ₃	90	40	45,868	11,003	19,687	22,624	60,269
R ₃	20	80	47,579	9,529	23,177	25,207	67,343
R ₃	45	80	62,892	2,503	19,604	19,876	81,869
R ₃	90	80	63,347	1,869	19,134	19,405	82,899

U Tabeli 4.42 prikazani su parametri instrumentalnog merenja boje osmotski dehidriranog hibrida *Bravo*. Vrednost a*(udeo crvene i zelene boje) raste tokom skladištenja kod sve tri vrste rastvora dok se vrednost b* (udeo žute i plave boje) se kod hibrida *Bravo* ne menja.

U okviru ANOVA-e ispituje se uticajnost procesnih parametara na formiranje SOP modela promene boje u osmotski dehidriranom *Futoškom kupusu* i hibridu *Bravo* (jednačina 3.4), kao i statistička značajnost svakog od članova polinoma (koja se izražava preko p - vrednosti).

Tabela 4.42 Parametri boje hibrida *Bravo* osmotski dehidriranog u tri različita rastvora tokom čuvanja

Rastvor	Dani	% CO ₂	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
R ₁	20	40	65,53	0,69	21,08	21,18	88,22
R ₁	45	40	45,37	9,38	22,52	24,49	67,43
R ₁	90	40	41,27	9,57	20,46	22,67	64,54
R ₁	20	80	63,47	1,57	22,74	22,91	85,31
R ₁	45	80	47,37	7,52	23,26	24,51	72,06
R ₁	90	80	44,11	9,84	22,94	25,06	66,88
R ₂	20	40	51,39	2,20	27,93	28,05	85,38
R ₂	45	40	45,54	8,94	20,66	22,56	66,38
R ₂	90	40	43,57	8,96	19,45	21,70	65,16
R ₂	20	80	62,89	2,50	19,60	19,88	81,87
R ₂	45	80	46,17	9,06	20,71	22,70	66,68
R ₂	90	80	40,14	10,85	18,73	21,65	59,84
R ₃	20	40	63,35	1,87	19,13	19,41	82,90
R ₃	45	40	41,45	10,94	18,72	21,73	59,39
R ₃	90	40	42,96	11,20	19,69	22,69	60,00
R ₃	20	80	61,22	4,75	16,61	17,35	73,98
R ₃	45	80	42,64	9,96	18,98	21,47	62,11
R ₃	90	80	47,05	10,47	20,82	23,36	62,85

U tabeli 4.43 prikazana je analiza varijanse (ANOVA) za odzive modela parametara boje osmotski dehidriranog *Futoškog* kupusa.

Table 4.43 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za parametre boje za osmotski dehidriran *Futoški* kupus

	df	L*	a*	b*	C*	h*
Rastvor	1	3,243	0,5708	1,0437	2,3074	4,947
Rastvor ²	1	345,316*	77,4517**	4,9885	0,0328	466,697**
t	1	33,520	17,4074	56,1169**	36,3103**	191,568
t ²	1	54,843	0,8830	7,3928	5,8435	26,332
CO ₂	1	0,062	0,0388	9,6563	5,9857	11,355
Rastvor×t	1	127,189	27,8133	3,6408	1,3157	142,595
Rastvor × CO ₂	1	176,609	14,2877	2,2855	9,8211	133,607
t× CO ₂	1	0,880	0,7873	0,2646	0,0005	13,928
Error	9	592,623	164,5010	106,3045	82,3969	1097,415
r ²		0,554	0,456	0,433	0,414	0,470

*statistički značajan na nivou p<0,05; **statistički značajan na nivou p<0,10; 95% granica poverenja

Na formiranje SOP modela za svetloću boje L^* statistički značajan uticaj pokazuje kvadratni član vrste rastvora za dehidrataciju. Za vrednost a^* (udeo crvene i zelene boje) kvadratni član vrste rastvora je značajan na nivou statističke značajnosti $p < 0,10$. Za vrednost b^* (udeo žute i plave boje) značajan je linearni član vremena skladištenja na nivou $p < 0,10$. Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,414-0,554.

U tabeli 4.44 prikazana je analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za parametre boje osmotski dehidriranog hibrida *Bravo*. Za svetloću boje L^* na formiranje SOP modela statistički je značajan linearni i kvadratni član vremena trajanja skladištenja. Za izračunavanje a^* (udeo crvene i zelene boje) u SOP modelu statistički je značajan linearni član vrste rastvora, linearni i kvadratni član vremena trajanja skladištenja. Za izračunavanje b^* (udeo žute i plave boje) u SOP modelu značajan je linearni član vrste rastvora na nivou $p < 0,10$. Vrednosti koeficijenta determinacije r^2 variraju od 0,490-0,966 i ukazuju na dobro poklapanje izabranih matematičkih modela (SOP) sa eksperimentalnim vrednostima ispitivanih odziva.

Tabela 4.44 Analiza varijanse (ANOVA) modela odziva za parametre boje za osmotski dehidriranog hibrida *Bravo*

	df	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
Rastvor	1	3,982	8,7417*	27,4208**	16,09665**	144,690*
Rastvor ²	1	19,345	0,2085	1,4440	1,08507	0,681
t	1	985,547*	186,5197*	2,0833	5,81021	1168,016*
t ²	1	395,538*	69,3662*	0,0223	3,51173	406,830*
CO ₂	1	10,966	0,3563	0,7430	0,90349	2,048
Rastvor×t	1	14,002	0,6059	3,9319	4,23120	10,088
Rastvor × CO ₂	1	0,011	0,2945	3,0100	2,79367	4,576
t× CO ₂	1	0,998	0,2048	10,3223	9,82728	12,233
Error	9	129,512	8,2462	52,5957	47,90225	72,708
r^2		0,907	0,966	0,500	0,490	0,956

* statistički značajan na nivou $p < 0,05$; ** statistički značajan na nivou $p < 0,10$; 95% granica poverenja

5. ZAKLJUČCI

U ovom radu su tradicionalna populacija *Futoškog* kupusa i hibrid *Bravo* podvrgnuti tehnološkim procesima mlečne fermentacije i osmotske dehidracije, pri različitim procesnim parametrima.

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može da se zaključi sledeće:

- Analiza glavnih komponenata (engl. Principal Component Analysis – PCA) je primenjena da izvrši klasifikaciju i podelu uzorakasvežeg *Futoškog* i *Bravo* kupusa na osnovu njihovih fizičkih, hemijskih i senzorskih osobina. Rezultati ove analizeupoređivani susa analizom standardne ocene (engl. Standard Score analysis – SS). Analizom SS vredosti za hemijske, fizičke, senzorske i teksturne osobine *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo*, zaključeno je da je *Futoški* kupus sa parcele 9 pokazao najveće SS vrednosti za hemijske i senzorske osobine (0,82 i 0,85, respektivno), dok je hibrid *Bravo* pokazao najbolje vrednosti SS za hemijske i senzorske osobine sa parcele 34 (0,77 i 0,37, respektivno). Najbolje SS vrednosti za fizičke i teksturne osobine za hibrid *Bravo* dobijene su na parceli 35 (0,77 i 0,83, respektivno), dok je najveća vrednost SS za fizičke osobine *Futoškog* kupusa dobijena na parceli 33, a najveća vrednost SS za teksturne osobine na parceli 31 (0,88 i 0,95, respektivno). Zaključeno je da je najbolji *Futoški* kupus uzgajan na parceli 9 (zbirna ocena je bila 0,76), a da je najbolji hibrid *Bravo* uzgajan na parceli 34 (zbirna ocena je bila 0,56).

Nakon odabira sa određenih parcela na osnovu pomenutih parametara kvaliteta *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* primenjen je proces spontane mlečne fermentacije kupusa u glavicama tradicionalnim postupkom.

- Sniženje pH vrednosti je brže kod *Futoškog* kupusa u odnosu na hibrid *Bravo*. Na pH vrednost značajan uticaj ima koncentracija soli, a statistički najznačajniji uticaj ($p < 0,05$) na formiranje SOP modela za pH ima vreme trajanja procesa fermentacije.

- Nabakterije mlečne kiseline (BMK) statistički značajan uticaj ima koncentracija soli, a najznačajniji uticaj ima vreme trajanja procesa i za *Futoški* kupus i za hibrid *Bravo*. Veća koncentracija soli dovodi do većeg broja BMK. Kod hibrida *Bravo* prisutna je nešto viša maksimalna vrednost broja BMK (8,17 log CFU/ml), pošto je u burad za fermentaciju stala veća masa hibrida (više supstrata za rast mikroorganizama) u odnosu na *Futoški* (maks BMK =8,02 log CFU/ml) zbog razlika u morfološkim karakteristikama glavica.
- Na sadržaj mlečne kiseline, kao dominantne kiseline, u nalivu *Futoškog* kupusa tokom fermentacije na osnovu RSM statistički značajno ($p < 0,05$) utiče koncentracija soli, najznačajniji uticaj ima vreme trajanja procesa, dok je kod naliva hibrida *Bravo* značajna koncentracija soli, temperatura procesa, vreme trajanja procesa i kvadratni član vremena trajanja procesa. Na sadržaj mlečne kiseline u glavicama *Futoškog* kupusa statistički značajno utiče temperatura procesa, dok je kod hibrida *Bravo* sadržaj mlečne kiseline u glavicama hibrida statistički značajno uticala temperatura, koncentracija soli i kvadratni član vremena trajanja procesa.
- Druga najznačajnija kiselina kod fermentisanog kupusa je sirćetna kiselina koja utiče na senzornu prihvatljivost i ukupan kvalitet proizvoda. U nalivu *Futoškog* i hibrida *Bravo* na formiranje SOP modela na sirćetnu kiselinu statistički značajan uticaj imaju linearni članovi temperature, koncentracije soli i vremena trajanja procesa, kao i kvadratni član trajanja procesa. U glavicama *Futoškog* kupusa na izračunavanje sadržaja sirćetne kiseline statistički najznačajnije ($p < 0,05$) je uticao linearni član koncentracije soli, a zatim i temperature, dok je kod glavica hibrida *Bravo* najznačajniji uticaj na izračunavanje sadržaja sirćetne kiseline imao linearni član koncentracije soli, temperature procesa, vremena trajanja procesa i kvadratni član vremena trajanja procesa.
- Tokom fermentacije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* došlo je do rasta sadržaja L-askorbinske kiseline u odnosu na sadržaj L-askorbinske kiseline u svežem kupusu. Kod *Futoškog* kupusa to povećanje iznosi oko 20%, dok je kod fermentisanog hibrida nakon fermentacije 40% više L-askorbinske kiseline u odnosu na svež kupus.

- Dobile vrednosti sadržaja biogenih amina za fermentisane glavice *Futoškog* i hibrida *Bravo* su nešto niže u odnosu na vrednosti dobijene u fermentisanom ribancu. Kod *Futoškog* kupusa statistički najznačajniji uticaj na formiranje SOP modela svih nađenih biogenih amina ima vreme trajanja procesa. To znači da se biogeni amini ubrzano formiraju tokom skladištenja fermentisanog kupusa. Na formiranje SOP modela većine biogenih amina statistički značajan uticaj imaju i koncentracija soli i temperatura procesa. Dobile vrednosti za hibrid *Bravo* su nešto više u odnosu na *Futoški*, u skladu sa većim brojem BMK kod hibrida *Bravo*. Dobile vrednosti za putrescin, kadaverin, tiramin i spermidin u *Futoškom* i hibridu *Bravo* ne prelaze koncentracije od 10 mg /kg nakon 50 dana fermentacije.
- Senzorska analiza fermentisanog *Futoškog* i hibrida *Bravo* pokazala je da je najbolje ocenjen *Futoški* kupus fermentisan na temperaturi 16-18°C, sa 2% soli, dok je najslabije ocenjen fermentisani *Futoški* kupus sa 1% soli na temperaturi 20-22°C. Kod fermentisanog hibrida *Bravo* na svim uslovima fermentacije prisutna je nepoželjna pojava sluzavosti i smekšavanja u unutrašnjosti glavice. Instrumentalno merenje teksture je pokazalo da postoji značajno smanjivanje čvrstoće listova *Futoškog* kupusa nakon fermentacije. Smanjivanje čvrstoće listova na temperaturi 20-22°C i sa 1% soli iznosi 80% u odnosu na sveži list *Futoškog* kupusa. Kod hibrida *Bravo* nema značajne razlike u čvrstoći listova pre i posle fermentacije, ali postoje statistički značajne razlike u teksturi fermentisanog *Bravo* kupusa pod uticajem različite temperature i koncentracije soli.

Nakon procesa spontane fermentacije, isti uzorci svežeg *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* su osmotski dehidrirani uz varijaciju parametara procesa i upakovani u modifikovanoj atmosferi. Analizom dobijenih rezultata može da se zaključi sledeće:

- Povećanje koncentracije osmotskih rastvora i produženje vremena trajanja procesa pospešuje prenos mase između tretiranih uzoraka kupusa i osmotskih rastvora što je rezultiralo konstantnim rastom vrednosti WL i SG. Najveće vrednosti su postignute nakon 5h procesa u najkoncentrovanijim rastvorima i to u rastvoru R₁ (saharoza i mineralne soli) (60°Bx), zatim u rastvoru R₂ (mešavina R₁ i melase šećerne repe) (70°Bx) i rastvoru R₃ (melasa šećerne repe) (80 °Bx).

- Nakon osmotske dehidracije *Futoškog* kupusa i hibrida *Bravo* u osmotskim rastvoru saharoze i natrijum hlorida došlo je do gubitka sadržaja Fe, Cu, Mg i Ca u odnosu na svež kupus. Najmanji gubitak mineralnih materija zabeležen je kod osmotske dehidracije u čistoj melasi R₃. Sadržaj kalijuma nakon dehidracije u rastvorima R₂ i R₃ približno je dvostruko viši u odnosu na svež *Futoški* i hibrid *Bravo*.
- Gubitak L-askorbinske kiseline u *Futoškom* kupusu nakon osmotske dehidracije je od 16% (rastvor R₃) do 19% (rastvor R₁). Gubitak L-askorbinske kiseline kod hibrida *Bravo* iznosi 32% u rastvoru R₂ do 38% u rastvoru R₁.
- Mikrobiološka analiza tokom skladištenja pokazala je da se patogeni mikroorganizmi nisu pojavili u upakovanom osmotski dehidriranom kupusu tokom 90 dana. UBM se smanjuje tokom skladištenja osmotski dehidriranog kupusa u MAP-u. Takođe kvasci i plesni se ne razvijaju osim u slučaju uzorka *Bravo* dehidriran u R₃ pakovan u 40:60% CO₂:N₂ gde se kvasci i plesni javljaju 90-og dana.
- Tokom skladištenja osmotski dehidriranog kupusa u MAP-u na temperaturi 4-8°C, ne dolazi do značajnih promena u hemijskim, senzornim i mikrobiološkim parametrima. Stoga može da se smatra da ovakav proizvod upakovan usmeši gasova (MAP) ima održivost od 90 dana.

6. SPISAK REFERENCI:

- Adams M. (1990). Topical aspects of fermented foods. *Trends in Food Science & Technology*, 1, 140-144.
- Adams M. & Hall C. (1988). Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *International Journal of Food Science & Technology*, 23, 287-292.
- Adams M.R., Nout M.R. & Nout R. (2001). *Fermentation and food safety*. Aspen Publishers.
- Agnelli M., Marani C. & Mascheroni R. (2005). Modelling of heat and mass transfer during (osmo) dehydrofreezing of fruits. *Journal of Food Engineering*, 69, 415-424.
- Allende A., Tomás-Barberán F.A. & Gil M.I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 513-519.
- An K., Ding S., Zhao D., Wang X., Wang Z. & Hu X. (2013). Response surface optimisation of osmotic dehydration of Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) slices. *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 28-34.
- Babić L., Babić M. & Pavkov I. (2003). Kombinovano osmotsko i konvektivno sušenje kajsije. *Časopis za procesnu tehniku i energetiku u poljoprivredi/PTEP*, 7, 1-2.
- Balkaya A., Yanmaz R., Apaydin A. & Kar H. (2005). Morphological characterisation of white head cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* subvar. *alba*) genotypes in Turkey. *New Zealand journal of crop and horticultural science*, 33, 333-341.
- Barbosa-Cánovas G.V. (2003). *Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas: Technical manual*. Food & Agriculture Org.
- Barrangou R., Yoon S.-S., Breidt Jr F., Fleming H.P. & Klaenhammer T.R. (2002). Identification and characterization of *Leuconostoc fallax* strains isolated from an industrial sauerkraut fermentation. *Applied and environmental microbiology*, 68, 2877-2884.
- Barrera C., Betoret N. & Fito P. (2004). Ca²⁺ and Fe²⁺ influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices (var. Granny Smith). *Journal of Food Engineering*, 65, 9-14.
- Beganović J., Kos B., Leboš Pavunc A., Uroić K., Jokić M. & Šušković J. (2014). Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiological research*, 169, 623-632.
- Beganović J., Pavunc A.L., Gjuračić K., Špoljarec M., Šušković J. & Kos B. (2011). Improved sauerkraut production with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* L4 and *Leuconostoc mesenteroides* LMG 7954. *Journal of Food Science*, 76, M124-M129.

- Beristain C., Azuara E., Cortes R. & Garcia H. (1990). Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple rings. *International Journal of Food Science & Technology*, 25, 576-582.
- Bohrer B. (1984). Untersuchung über den Einfluss der Technologie auf den Vitamin C-Gehalt von pasteurisiertem Sauerkraut.
- Bolin H., Huxsoll C., Jackson R. & Ng K. (1983). Effect of osmotic agents and concentration on fruit quality. *Journal of Food Science*, 48, 202-205.
- Bourdichon F., Casaregola S., Farrokh C., Frisvad J.C., Gerds M.L., Hammes W.P., Harnett J., Huys G., Laulund S. & Ouwehand A. (2012). Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *International journal of food microbiology*, 154, 87-97.
- Box G. & Draper N.R. (1987). Empirical Model Building and Response Surfaces John Wiley & Sons. *New York*, 74.
- Breidt F., McFeeters R.F. & Díaz-Muñiz I. (2007). Fermented vegetables. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 3, 783-793.
- Bremus C., Herrmann U., Bringer-Meyer S. & Sahn H. (2006). The use of microorganisms in l-ascorbic acid production. *Journal of Biotechnology*, 124, 196-205.
- Brlak T., Pezo L., Voća N., Krička T., Vukmirović Đ., Čolović R. & Bodroža-Solarov M. (2013). Chemometric approach for assessing the quality of olive cake pellets. *Fuel Processing Technology*, 116, 250-256.
- Brooks J.D., Paton V.G. & Vidanes G. (2001). Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 10, 949-954.
- Bruhn C.M. (1995). Consumer attitudes and market response to irradiated food. *Journal of Food Protection*, 58, 175-181.
- Bruhn C.M. (1997). Consumer concerns: motivating to action. *Emerging Infectious Diseases*, 3, 511.
- Buckenhüskes H., Jensen H.A., Andersson R., Fernández A.G. & Rodrigo M. (1997). Fermented vegetables. *Food microbiology. Fundamentals and frontiers. ASM, Washington, DC*, 595-609.
- Buckenhüskes H.J. (1993). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiology Reviews*, 12, 253-271.
- Bukowska H., Pieczul-Mroz J., Jastrzebska M., Chelstowski K. & Naruszewicz M. (1998). Decrease in fibrinogen and LDL-cholesterol levels upon supplementation of diet with *Lactobacillus plantarum* in subjects with moderately elevated cholesterol. *Atherosclerosis*, 137, 437-438.
- Cartea M.E. & Velasco P. (2008). Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 213-229.
- Carvalho C.A.d., Fernandes K.M., Matta S.L.P., Silva M.B.d., Oliveira L.L.d. & Fonseca C.C. (2011). Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea* var. capitata (cabbage) on Wistar rat gastric ulceration. *Arquivos de gastroenterologia*, 48, 276-282.
- Červenski J., Gvozdenović Đ., Gvozdenović-Varga J., Nikolić Z. & Balaž F. (2006). *Prikaz eksperimentalnih hibrida kupusa (Brassica oleracea var. capitata L.)*.

- Červenski J., Gvozdenović M.V. & D Bugarski J. (2003). Gvozdanović-Varga (2003). Mode of inheritance of head height and head width in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *Genetika*, 35, 21-29.
- Cheney G. (1950). Anti-peptic ulcer dietary factor (vitamin" U") in the treatment of peptic ulcer. *Journal of the American Dietetic Association*, 26, 668-672.
- Cho J., Lee D., Yang C., Jeon J., Kim J. & Han H. (2006). Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS microbiology letters*, 257, 262-267.
- Choi S.H. & Chin K.B. (2003). Evaluation of sodium lactate as a replacement for conventional chemical preservatives in comminuted sausages inoculated with *Listeria monocytogenes*. *Meat Science*, 65, 531-537.
- Conway J., Castaigne F., Picard G. & Vovan X. (1983). Mass transfer considerations in the osmotic dehydration of apples. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 16, 25-29.
- Couto S.R. & Sanromán M.A. (2006). Application of solid-state fermentation to food industry—a review. *Journal of Food Engineering*, 76, 291-302.
- Cox D.R. & Reid N. (2002). *The theory of the design of experiments*. CRC Press.
- Ćurčić B.L., Pezo L.L., Lević L.B., Knežević V.M., Nićetin M.R., Filipović V.S. & Kuljanin T.A. (2013). Osmotic dehydration of pork meat cubes: Response surface method analysis. *Acta periodica technologica*, 11-19.
- Cvetković B., Jokić A., Lević L. & Kevrešan Ž. (2013). Osmotic dehydration of white cabbage in different hypertonic solutions: Mass transfer kinetics and improvement of nutritional value of the developed product. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 17, 154-157.
- Cvetković B.R., Malbaša R.V., Lončar E.S., Nježić Z.B., Šimurina O., Filipčev B. & Tepić A. (2012a). Poređenje tehnika i metoda određivanja L-askorbinske kiseline u voću. *Chemical Industry/Hemijska Industrija*, 66.
- Cvetković B.R., Pestorić M.V., Gubić J.M., Novaković A.R., Mastilović J.S., Kevrešan Ž.S. & Červenski J.F. (2012b). The dynamics of the fermentation process and sensorial evaluation of sauerkraut, cultivar Futoški and hybrid Bravo-comparative study. In: *Proceedings of 6th Central European Congress on Food-CEFood Congress*. Institute of Food Technology, Novi Sad (Serbia).
- Cvetković B.R., Pezo L.L., Tasić T., Šarić L., Kevrešan Ž. & Matilović J. (2014). The optimization of traditional fermentation process of white cabbage (in relation to biogenic amines and polyamines content and microbiological profile). *Food Chemistry*.
- Đaković L. (2006). Koloidna hemija. *Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd*.
- De Vuyst L. & Leroy F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 13, 194-199.
- Demir N., BAHÇECİ K.S. & Acar J. (2006). The effects of different initial *Lactobacillus plantarum* concentrations on some properties of fermented carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 352-363.
- Dermesonlouoglou E.K., Pourgouri S. & Taoukis P.S. (2008). Kinetic study of the effect of the osmotic dehydration pre-treatment to the shelf life of frozen cucumber. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9, 542-549.

- Devic E., Guyot S., Daudin J.-D. & Bonazzi C. (2009). Effect of temperature and cultivar on polyphenol retention and mass transfer during osmotic dehydration of apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 606-614.
- Dötsch M., Busch J., Batenburg M., Liem G., Tareilus E., Mueller R. & Meijer G. (2009). Strategies to reduce sodium consumption: a food industry perspective. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49, 841-851.
- Doyle M.E. & Glass K.A. (2010). Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 44-56.
- El-Aouar Á.A., Azoubel P.c.M., Barbosa Jr J.L. & Xidieh Murr F.E. (2006). Influence of the osmotic agent on the osmotic dehydration of papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Food Engineering*, 75, 267-274.
- Eren İ. & Kaymak-Ertekin F. (2007). Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 79, 344-352.
- Filipović V., Lončar B., Nićetin M., Knežević V., Filipović I. & Pezo L. (2014). Modeling Counter-Current Osmotic Dehydration Process of Pork Meat in Molasses. *Journal of Food Process Engineering*.
- Filipović V.S., Čurčić B.L., Nićetin M.R., Plavšić D.V., Koprivica G.B. & Mišljenović N.M. (2012). Mass transfer and microbiological profile of pork meat dehydrated in two different osmotic solutions. *Hemijska industrija*, 66, 743-748.
- Fleming H., McFeeters R. & Daeschel M. (1985). The lactobacilli, pediococci, and leuconostocs: vegetable products. *Bacterial starter cultures for foods*, 97-118.
- Fleming H., McFeeters R. & Humphries E.G. (1988). A fermentor for study of sauerkraut fermentation. *Biotechnology and bioengineering*, 31, 189-197.
- Fleming H. & McFeters R. (1985). Residual sugars and fermentation products in raw and finished commercial sauerkraut. *Special report New York State Agricultural Experiment Station, Geneva*.
- Frazier W. & Westhoff D. (1988). Food microbiology, 1988. In. McGraw-Hill, Inc. New York, NY.
- Gal J. (2008). The discovery of biological enantioselectivity: Louis Pasteur and the fermentation of tartaric acid, 1857—a review and analysis 150 yr later. *Chirality*, 20, 5-19.
- Gálvez A., López R.L., Abriouel H., Valdivia E. & Omar N.B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical reviews in biotechnology*, 28, 125-152.
- Gardner N.J., Savard T., Obermeier P., Caldwell G. & Champagne C.P. (2001). Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *International journal of food microbiology*, 64, 261-275.
- Genkinger J.M., Platz E.A., Hoffman S.C., Comstock G.W. & Helzlsouer K.J. (2004). Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *American journal of epidemiology*, 160, 1223-1233.
- Giraffa G., Chanishvili N. & Widyastuti Y. (2010). Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in microbiology*, 161, 480-487.

- Gontard N. & Guillaume C. (2009). 16 Packaging and the Shelf Life of Fruits and Vegetables. *Food Packaging and Shelf Life*, 297.
- Gravesen A., Diao Z., Voss J., Budde B.B. & Knöchel S. (2004). Differential inactivation of *Listeria monocytogenes* by d- and l-lactic acid. *Letters in applied microbiology*, 39, 528-532.
- Greenly L.W. (2005). A Doctor's Guide to Diet Plans from A–Z. *Journal of chiropractic medicine*, 3, 25-32.
- Grubb C.D. & Abel S. (2006). Glucosinolate metabolism and its control. *Trends in plant science*, 11, 89-100.
- Gurfinkel D. & Rao A. (2003). Soyasaponins: the relationship between chemical structure and colon anticarcinogenic activity. *Nutrition and cancer*, 47, 24-33.
- Halász A., Baráth Á. & Holzapfel W.H. (1999). The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 208, 434-438.
- Halász A., Baráth Á., Simon-Sarkadi L. & Holzapfel W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 42-49.
- Hang Y., Hui Y., Meunier-Goddik L., Hansen A. & Josephsen J. (2004). Sauerkraut. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, 669-676.
- Hanif R., Iqbal Z., Iqbal M., Hanif S. & Rasheed M. (2006). Use of vegetables as nutritional food: role in human health. *J. Agri. Biol Sci*, 1, 18-22.
- Harris L.J. (1997). The microbiology of vegetable fermentations. In: *Microbiology of fermented foods*. Springer, pp. 45-72.
- Holzapfel W., Geisen R. & Schillinger U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International journal of food microbiology*, 24, 343-362.
- Holzapfel W., Schillinger U., Buckenhüskes H. & Farnworth E. (2003). Sauerkraut. In: *Handbook of fermented functional foods*. CRC Press, pp. 343-360.
- Hough G. (2010). *Sensory shelf life estimation of food products*. CRC Press.
- Hough G. & Garitta L. (2012). Methodology For Sensory Shelf-Life Estimation: A Review. *Journal of Sensory Studies*, 27, 137-147.
- Hrnčirik K., Valusek J. & Velisek J. (2001). Investigation of ascorbigen as a breakdown product of glucobrassicin autolysis in Brassica vegetables. *Eur Food Res Technol*, 212, 576-581.
- Hui Y.H., Ghazala S., Graham D.M., Murrell K. & Nip W.-K. (2003a). *Handbook of vegetable preservation and processing*. CRC press.
- Hui Y.H., Meunier-Goddik L., Josephsen J., Nip W.-K. & Stanfield P.S. (2003b). *Handbook of food and beverage fermentation technology*. CRC Press.
- Hutkins R.W. (2008). *Microbiology and technology of fermented foods*. Wiley-Blackwell.
- ISO E. (2001). 16654: 2001-Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. *International Organization for Standardization*.
- ISO E. (2002). 6579, 2002: Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff—Horizontal Method for the Detection of *Salmonella* spp. *International Organisation for Standardization, Geneva, Switzerland*.

- ISO E. (2003). 4833. Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of micro organisms—Colony-count technique at 30 C. *International Organization for Standardization, Genova, Switzerland*, 1-9.
- ISO H. (2004). 21528–2 (2008). *Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae—Part 2: Colonycount method (ISO 21528, 2.*
- ISO S. (1999). 6888-1 (1999): Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. *International Organization for Standardization, Geneva*.
- ISO. (2008). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff: Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds*. ISO.
- Jagannath A., Raju P. & Bawa A. (2012). A TWO-STEP CONTROLLED LACTIC FERMENTATION OF CABBAGE FOR IMPROVED CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITIES*. *Journal of Food Quality*, 35, 13-20.
- Jayabalan R., Marimuthu S. & Swaminathan K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102, 392-398.
- Jevšnik M., Hlebec V. & Raspor P. (2009). Survey of safe and hygienic practices among Slovenian sauerkraut growers. *Food control*, 20, 677-685.
- Johanningsmeier S., McFeeters R.F., Fleming H.P. & Thompson R.L. (2007). Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter culture on fermentation of cabbage with reduced salt concentrations. *Journal of Food Science*, 72, M166-M172.
- Johanningsmeier S.D., Fleming H.P., Thompson R. & McFeeters R.F. (2005). Chemical and sensory properties of sauerkraut produced with *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures of differing malolactic phenotypes. *Journal of Food Science*, 70, S343-S349.
- Jongen W. (2002). *Fruit and vegetable processing: improving quality*. Woodhead Publishing.
- Jung J.Y., Lee S.H., Kim J.M., Park M.S., Bae J.-W., Hahn Y., Madsen E.L. & Jeon C.O. (2011). Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food. *Applied and environmental microbiology*, 77, 2264-2274.
- Kalač P., Špička J., Křížek M. & Pelikánová T. (2000a). Changes in biogenic amine concentrations during sauerkraut storage. *Food Chemistry*, 69, 309-314.
- Kalač P., Špička J., Křížek M. & Pelikánová T. (2000b). The effects of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amines formation in sauerkraut. *Food Chemistry*, 70, 355-359.
- Kalač P., Špička J., Křížek M., Steidlová Š. & Pelikánová T. (1999). Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. *Food Chemistry*, 67, 275-280.
- Kalač P., Švecová S. & Pelikanova T. (2002). Levels of biogenic amines in typical vegetable products. *Food Chemistry*, 77, 349-351.
- Kandler O., Hammes W., Schneider M. & Stetter K. (1986). Microbial interaction in sauerkraut fermentation. In: *Proceedings of the 4th International Symposium on Microbial Ecology*, pp. 302-308.

- Kantor L.S. (1998). *A dietary assessment of the US food supply: comparing per capita food consumption with Food Guide Pyramid serving recommendations*. US Department of Agriculture, Economic Research Service.
- Karovičová J. & Kohajdová Z. (2003). Lactic acid fermented vegetable juices. *Horticultural Science*, 30, 152-158.
- Kim S.-W., Park S.-K., Kang S.-I., Kang H.-C., Oh H.-J., Bae C.-Y. & Bae D.-H. (2003). Hypocholesterolemic property of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts in human body. *Archives of pharmacal research*, 26, 1042-1046.
- Klieber A. & Franklin B. (1998). Ascorbic acid content of minimally processed chinese cabbage. In: *XXV International Horticultural Congress, Part 8: Quality of Horticultural Products 518*, pp. 201-206.
- Koocheki A. & Azarpazhooh E. (2010). Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of plum using response surface methodology. *International Journal of Food Properties*, 13, 155-166.
- Koprivica G.B., Pezo L.L., Čurčić B.L., Lević L.B. & Šuput D.Z. (2013a). Optimization of Osmotic Dehydration of Apples in Sugar Beet Molasses. *Journal of Food Processing and Preservation*, n/a-n/a.
- Koprivica G.B., Pezo L.L., Čurčić B.L., Lević L.B. & Šuput D.Z. (2013b). Optimization of Osmotic Dehydration of Apples in Sugar Beet Molasses. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-11.
- Koprivica G.B., Pezo L.L., Čurčić B.L., Lević L.B. & Šuput D.Z. (2013c). Optimization of Osmotic Dehydration of Apples in Sugar Beet Molasses. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Künsch U., Schärer H. & Temperli A. (1989). Biogene Amine als qualitätsindikatoren von sauerkraut. *XXIV Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung. Qualitätsaspekte von Obst und Gemüse*.
- Kusznierewicz B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S. & Namieśnik J. (2008). Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1-9.
- Läuchli A. (1976). Apoplasmic transport in tissues. In: *Transport in Plants II*. Springer, pp. 3-34.
- Lazarides H.N., Gekas V. & Mavroudis N. (1997). Apparent mass diffusivities in fruit and vegetable tissues undergoing osmotic processing. *Journal of Food Engineering*, 31, 315-324.
- Lazarides H.N., Katsanidis E. & Nickolaidis A. (1995). Mass transfer kinetics during osmotic preconcentration aiming at minimal solid uptake. *Journal of Food Engineering*, 25, 151-166.
- Lazić B., Đurovka M., Marković V. & Ilin Ž. (1998). *Povrtarstvo*. Univerzitet.
- Le Maguer M. (1988). Osmotic dehydration: review and future directions. In: *Proc. Int. Symp. Progress Food Preser. Process*, p. 126.
- Le Maguer M., Shi J. & Fernandez C. (2003). Mass transfer behavior of plant tissues during osmotic dehydration. *Food Science and Technology International*, 9, 187-192.

- Lee C.-H. (2004). Creative fermentation technology for the future. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-*, 69, CRH31-CRH32.
- Lee C., Acree T., Butts R. & Stamer J. (1976). Flavor constituents of fermented cabbage. In: *Proc. IV Int. Congress Food Sci. and Technol*, pp. 175-178.
- Lee Y., Choi J., Kwon M., Kim J., Suh H. & Song Y. (2004). Isolation and identification of active principle in Chinese cabbage Kimchi responsible for antioxidant effect. *Korean Journal of Food Science and Technology*.
- Lenart A. (1996). Osmo-convective drying of fruits and vegetables: technology and application. *Drying Technology*, 14, 391-413.
- Lenart A. & Flink J. (1984). Osmotic concentration of potato. *International Journal of Food Science & Technology*, 19, 65-89.
- Leroy F. & De Vuyst L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 67-78.
- Lewicki P. & Lenart A. (1995). Osmotic dehydration of fruits and vegetables. *Handbook of industrial drying*, 1, 691-714.
- Li K.-Y. (2003). Fermentation: Principles and microorganisms. *Handbook of Vegetable Preservation and Processing*, 155.
- Lu Z., Breidt F., Plengvidhya V. & Fleming H. (2003). Bacteriophage ecology in commercial sauerkraut fermentations. *Applied and environmental microbiology*, 69, 3192-3202.
- Madamba P.S. (2002). The response surface methodology: an application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. *LWT-Food Science and Technology*, 35, 584-592.
- Maki M. (2004). Lactic acid bacteria in vegetable fermentations. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139, 419-430.
- Malbaša R., Lončar E. & Kolarov L. (2009). Određivanje vitamina C u fermentisanim mlečnim proizvodima od kombuhe. *Prehrambena industrija-mleko i mlečni proizvodi*, 20, 1-2.
- Malinowska-Pan'czyk E. (2012). 10 Fermented Vegetables Products. *Fermentation: Effects on Food Properties*, 231.
- Marfil P.H.M., Santos E.M. & Telis V.R.N. (2008). Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1642-1647.
- Maritess C., Small S. & Waltz-Hill M. (2005). Alternative nutrition therapies in cancer patients. In: *Seminars in oncology nursing*. Elsevier, pp. 173-176.
- Martínez-Ballesta M., Dominguez-Perles R., Moreno D., Muries B., Alcaraz-López C., Bastías E., García-Viguera C. & Carvajal M. (2010). Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agronomy for sustainable development*, 30, 295-309.
- Martinez-Villaluenga C., Peñas E., Frias J., Ciska E., Honke J., Piskula M., Kozłowska H. & Vidal-Valverde C. (2009). Influence of fermentation conditions on glucosinolates, ascorbigen, and ascorbic acid content in white cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata cv. Taler) cultivated in different seasons. *Journal of Food Science*, 74, C62-C67.

- Martínez S., Olmos I., Carballo J. & Franco I. (2010). Quality parameters of Brassica spp. grown in northwest Spain. *International Journal of Food Science & Technology*, 45, 776-783.
- Mastilović J., Čevenski J., Novaković A. Jovanović P., Cvetković B. (2008). Elaborat o načinu proizvodnje i specifičnim karakteristikama proizvoda Futoški svež i kiseli kupus. Rešenje broj: G-09/05/5, 12.05.2008. godine, Zavod za intelektualnu svojinu, Republika Srbija
- Mattila-Sandholm T., Myllärinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fonden R. & Saarela M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12, 173-182.
- Mauro M.A., Monnerat S.M. & Rodrigues A.E. (2004). Vacuum drying of osmotic dehydrated apple slices. In: *Proceedings of the 14th International Drying Symposium, São Paulo, Brazil*, pp. 2084-2090.
- Mayor S. & Rao M. (2004). Rafts: scale-dependent, active lipid organization at the cell surface. *Traffic*, 5, 231-240.
- McDonald L., Fleming H. & Hassan H. (1990). Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Applied and environmental microbiology*, 56, 2120-2124.
- McFeeters R. (2004). Fermentation microorganisms and flavor changes in fermented foods. *Journal of Food Science*, 69, FMS35-FMS37.
- McGregor D.I., Mullin W.J. & Fenwick G.R. (1983). Analytical methodology for determining glucosinolate composition and content. *J. Assoc. off. Anal. chem*, 66, 826-849.
- McNaughton S. & Marks G. (2003). Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of cruciferous vegetables. *British journal of nutrition*, 90, 687-698.
- Mellerick D. & Cogan T.M. (1981). Induction of some enzymes of citrate metabolism in *Leuconostoc lactis* and other heterofermentative lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Research*, 48, 497-502.
- Menrad K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181-188.
- Mercali G.D., Ferreira Marczak L.D., Tessaro I.C. & Zapata Noreña C.P. (2011). Evaluation of water, sucrose and NaCl effective diffusivities during osmotic dehydration of banana (< i> Musa sapientum, shum</i>.). *LWT-Food Science and Technology*, 44, 82-91.
- Meyers R.H. & Montgomery D.C. (2002). Response surface methodology. In. Wiley New York NY.
- Mišljenović N., Koprivica G. & Lević L. (2010). Comparison of the kinetics of osmotic drying apples in sugar beet molasses and sucrose solutions. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 14, 32-35.
- Mišljenović N.M., Koprivic G.B., Pezo L.L., Lević L.B., Čurčić B.L., Filipović V.S. & Nićetin M.R. (2012a). Optimization of the osmotic dehydration of carrot cubes in sugar beet molasses *Thermal Science*, 16.
- Mišljenović N.M., Koprivica G.B., Lević L.B., Filipčev B.V. & Kuljanin T.A. (2009). Osmotic dehydration of red cabbage in sugar beet molasses: Mass transfer kinetics. *Acta periodica technologica*, 145-154.

- Mišljenović N.M., Koprivica G.B., Pezo L.L., Lević L.B., Ćurčić B.L., Filipović V.S. & Nićetin M.R. (2012b). Optimization of the osmotic dehydration of carrot cubes in sugar beet molasses. *Thermal Science*, 16, 43-52.
- Mithen R.F. (2001). Glucosinolates and their degradation products. *Advances in Botanical Research*, 35, 213-262.
- Mohd-Som F., Spomer L., Martin S.E. & Schmidt S.J. (1995). Microflora changes in misted and nonmisted broccoli at refrigerated storage temperatures. *Journal of Food Quality*, 18, 279-293.
- Molin G. (2008). Lactobacillus plantarum: the role in foods and in human health. *Handbook of fermented functional foods*, 353-393.
- Montgomery D.C. (2013). *Applied Statistics and Probability for Engineers 6th edition*. Wiley.
- Montgomery D.C. & Runger G.C. (2009). Applied statistics and probability for engineers. In. John Wiley & Sons.
- Montgomery D.C., Runger G.C. & Calado V. (2003). *Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros*. Livros Técnicos e Científicos.
- Moon N.J. (1983). Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Microbiology*, 55, 453-460.
- Moraga M.J., Moraga G. & Martínez-Navarrete N. (2011). Effect of the re-use of the osmotic solution on the stability of osmodehydro-refrigerated grapefruit. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 35-41.
- Moreno-Arribas M., Polo M.C., Jorganes F. & Muñoz R. (2003). Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *International journal of food microbiology*, 84, 117-123.
- Moret S., Smela D., Populin T. & Conte L.S. (2005). A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chemistry*, 89, 355-361.
- Nagura J., Iso H., Watanabe Y., Maruyama K., Date C., Toyoshima H., Yamamoto A., Kikuchi S., Koizumi A. & Kondo T. (2009). Fruit, vegetable and bean intake and mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women: the JACC Study. *British journal of nutrition*, 102, 285-292.
- Naruszewicz M., Johansson M.-L., Zapolska-Downar D. & Bukowska H. (2002). Effect of Lactobacillus plantarum 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. *The American journal of clinical nutrition*, 76, 1249-1255.
- Nestle M. (1997). Broccoli sprouts as inducers of carcinogen-detoxifying enzyme systems: clinical, dietary, and policy implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 11149-11151.
- Nguyen T., Kang J. & Lee M. (2007). Characterization of Lactobacillus plantarum PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *International journal of food microbiology*, 113, 358-361.
- Nicoli M.C. (2012). *Shelf life assessment of food*. CRC Press.
- Niketić A.G. (1988). Tehnologija voća i povrća. *Naučna knjiga, Poljoprivredni fakultet, Beograd*, 139-158.
- Niksic M., Niebuhr S.E., Dickson J.S., Mendonca A.F., Koziczkowski J.J. & Ellingson J.L.E. (2005). Survival of Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157:H7 during Sauerkraut Fermentation. *Journal of Food Protection*, 68, 1367-1374.

- Nilsson J., Olsson K., Engqvist G., Ekvall J., Olsson M., Nyman M. & Åkesson B. (2006). Variation in the content of glucosinolates, hydroxycinnamic acids, carotenoids, total antioxidant capacity and low-molecular-weight carbohydrates in Brassica vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 528-538.
- Nout M. & Rombouts F. (1992). Fermentative preservation of plant foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 73, 136s-147s.
- Oehlert G.W. (2000). Design and analysis of experiments: Response surface design. In: New York: WH Freeman and Company.
- Ohlsson T. (1994). Minimal processing-preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 341-344.
- Olbrich H. (1963). The Molasses. Fermentation Technologist. *Institute für Zuckerindustrie, Berlin, Germany*.
- Organization W.H. (2012). *Guideline: sodium intake for adults and children*. World Health Organization.
- Ouwehand A.C. (1998). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139-160.
- Ozdemir M., Ozen B.F., Dock L.L. & Floros J.D. (2008). Optimization of osmotic dehydration of diced green peppers by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 2044-2050.
- Papadakis S.E., Abdul-Malek S., Kamdem R.E. & Yam K.L. (2000). A versatile and inexpensive technique for measuring color of foods. *Food Technology*, 54, 48-51.
- Park K.-Y. & Kim B.K. (2011). Lactic Acid Bacteria in Vegetable Fermentations. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 187.
- Pasteur L. (1879). Studies on fermentation. In:
- Paul Ross R., Morgan S. & Hill C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*, 79, 3-16.
- Pederson C. (1973). Sauerkraut In Advances in Food Research. In: *Stamer, JR (1973), Itesent Developments in Fermentation of Sauerkraut, Proceeding of Fouth Long Ashton Symposium*.
- Pederson C.S. (1931). *Sauerkraut*. New York State Agricultural Experiment Station.
- Pederson C.S. & Albury M.N. (1969). *The sauerkraut fermentation*. Cornell University.
- Pederson C.S., Niketić G. & Albury M.N. (1962). Fermentation of the Yugoslavian pickled cabbage. *Applied microbiology*, 10, 86-89.
- Peiró R., Dias V., Camacho M. & Martínez-Navarrete N. (2006). Micronutrient flow to the osmotic solution during grapefruit osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 74, 299-307.
- Peñas E., Frias J., Sidro B. & Vidal-Valverde C. (2010). Impact of fermentation conditions and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chemistry*, 123, 143-150.
- Peñas E., Frias J., Sidro B. & Vidal-Valverde C.n. (2010). Chemical Evaluation and Sensory Quality of Sauerkrauts Obtained by Natural and Induced Fermentations at Different NaCl Levels from Brassica oleracea Var. capitata Cv. Bronco Grown in Eastern Spain. Effect of Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3549-3557.
- Pereira D.I., McCartney A.L. & Gibson G.R. (2003). An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and

- determination of its cholesterol-lowering properties. *Applied and environmental microbiology*, 69, 4743-4752.
- Pereira L., Rodrigues A., Sarantópoulos C., Junqueira V., Cunha R. & Hubinger M. (2004). Influence of modified atmosphere packaging and osmotic dehydration on the quality maintenance of minimally processed guavas. *Journal of Food Science*, 69, FEP172-FEP177.
- Pezo L.L., Čurčić B.L., Filipović V.S., Nićetin M.R., Koprivica G.B., Mišljenović N.M. & Lević L.B. (2013). Artificial neural network model of pork meat cubes osmotic dehydration. *Hemijaska industrija*, 67, 465-475.
- Phisut N. (2012a). Factors affecting mass transfer during osmotic dehydration of fruits. *International Food Research Journal*, 19.
- Phisut N. (2012b). Factors affecting mass transfer during osmotic dehydration of fruits. *International Food Research Journal*, 19, 7-18.
- Phisut N., Rattanawedee M. & Aekkasak K. (2013). Effect of osmotic dehydration process on the physical, chemical and sensory properties of osmo-dried cantaloupe. *International Food Research Journal*, 20.
- Plengvidhya V., Breidt F., Lu Z. & Fleming H.P. (2007). DNA fingerprinting of lactic acid bacteria in sauerkraut fermentations. *Applied and environmental microbiology*, 73, 7697-7702.
- Prajapati J.B. & Nair B.M. (2003). The history of fermented foods. *Fermented Functional Foods*. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Washington DC, 1-25.
- Pravilnik o kvalitetu proizvoda od voća, povrća, pečurki i pektinskih preparata (Sl. list SFRJ br. 1/79).
- Pravilnik o prehrambenim aditivima (Sl. glasnik RS br. 63-2013).
- Prior R.L. & Cao G. (2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35, 588-592.
- Prior R.L., Wu X. & Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4302.
- Pundir R. & Jain P. (2010). Change in microflora of sauerkraut during fermentation and storage. *World J. Dairy Food Sci*, 5, 221-225.
- Rahman M.S. (2007). *Handbook of food preservation*. CRC press.
- Rastogi N. & Raghavarao K. (2004). Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple: considering Fickian diffusion in cubical configuration. *LWT-Food Science and Technology*, 37, 43-47.
- Rattanachaikunsopon P. & Phumkhachorn P. (2010). Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of biological research*, 1.
- Rico D., Martin-Diana A.B., Barat J. & Barry-Ryan C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 373-386.
- Robertson G.L. (2009a). 1 Food Packaging and Shelf Life. *Food Packaging and Shelf Life*, 1.
- Robertson G.L. (2009b). *Food Packaging and Shelf Life: A Practical Guide*. CRC Press.
- Robertson G.L. (2012). *Food packaging: principles and practice*. CRC press.

- Robinson D.S. (1987). *Food-biochemistry and nutritional value*. Longman Scientific & Technical.
- Rodrigues A.C.C., Pereira L.M., Sarantópoulos C.I.G.L., Bolini H.M.A., Cunha R.L., Junqueira V.C.A. & Hubinger M.D. (2006). IMPACT OF MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING ON THE OSMODEHYDRATED PAPAYA STABILITY. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 563-581.
- Russell J. (1992). Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. *Journal of Applied Microbiology*, 73, 363-370.
- Sagar V. & Kumar P.S. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of food science and technology*, 47, 15-26.
- Šamec D., Piljac-Žegarac J., Bogović M., Habjanič K. & Grúz J. (2011). Antioxidant potency of white (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) and Chinese (*Brassica rapa* L. var. *pekinensis*(Lour.)) cabbage: The influence of development stage, cultivar choice and seed selection. *Scientia horticulturae*, 128, 78-83.
- Santacruz-Vazquez C., Santacruz-Vazquez V., Jaramillo-Flores M.E., Chanona-Perez J., Welti-Chanes J. & Gutiérrez-López G.F. (2008). Application of osmotic dehydration processes to produce apple slices enriched with β -carotene. *Drying Technology*, 26, 1265-1271.
- Satyawali Y. & Balakrishnan M. (2008). Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: A review. *Journal of Environmental Management*, 86, 481-497.
- Saurel R., RAOULT-WACK A.L., Rios G. & GUILBERT S. (1994a). Mass transfer phenomena during osmotic dehydration of apple I. Fresh plant tissue. *International Journal of Food Science & Technology*, 29, 531-542.
- Saurel R., RAOULT-WACK A.L., Rios G. & GUILBERT S. (1994b). Mass transfer phenomena during osmotic dehydration of apple II. Frozen plant tissue. *International Journal of Food Science & Technology*, 29, 543-550.
- Settanni L. & Corsetti A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International journal of food microbiology*, 121, 123-138.
- Shi J. & Le Maguer M. (2002). Osmotic dehydration of foods: Mass transfer and modeling aspects. *Food Reviews International*, 18, 305-335.
- Shi J. & Xue J. (2009). Application and development of osmotic dehydration technology in food processing. *Advances in food dehydration*. CRC Press. USA.
- Singh J., Upadhyay A., Bahadur A., Singh B., Singh K. & Rai M. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Scientia horticulturae*, 108, 233-237.
- Singh J., Upadhyay A., Prasad K., Bahadur A. & Rai M. (2007). Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in *Brassica* vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 106-112.
- Siro I., Kapolna E., Kapolna B. & Lugasi A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51, 456-467.

- Sivakumar G., Aliboni A. & Bacchetta L. (2007). HPLC screening of anti-cancer sulforaphane from important European Brassica species. *Food Chemistry*, 104, 1761-1764.
- Song L. & Thornalley P.J. (2007). Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food and chemical toxicology*, 45, 216-224.
- Soomro A., Masud T. & Anwaar K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health—a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1, 20-24.
- Souci S. (2000). Souci Fachmann Kraut Food Composition and Nutrition Tables. 6th revised and completed edition. In. Medpharm Scientific Publishers Stuttgart, CRC Press, London.
- Špička J., Kalač P., Bover-Cid S. & Křížek M. (2002). Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut. *Eur Food Res Technol*, 215, 509-514.
- SRPS I. (2002). 4121 (2002). *Senzorske analize—Metodologija—Procenjivanje prehrambenih proizvoda pomoću metoda skale*.
- Stamer J., Dickson M., Bourke J. & Stoyla B. (1969). Fermentation patterns of poorly fermenting cabbage hybrids. *Applied microbiology*, 18, 323-327.
- Stamer J., Hrazdina G. & Stoyla B. (1973). Induction of red color formation in cabbage juice by *Lactobacillus brevis* and its relationship to pink sauerkraut. *Applied microbiology*, 26, 161-166.
- Steinkraus K.H. (1997). Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. *Food control*, 8, 311-317.
- Steinkraus K.H. (2002). Fermentations in world food processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, 23-32.
- Steinkraus K.H., Hui Y., Meunier-Goddik L., Hansen A. & Josephsen J. (2004). Origin and history of food fermentations. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, 1.
- Suido H., Tanaka T., Tabei T., Takeuchi A., Okita M., Kishimoto T., Kasayama S. & Higashino K. (2002). A mixed green vegetable and fruit beverage decreased the serum level of low-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3346-3350.
- Šušić S., Kukić G., Sinobad V., Perunović P. & Koronovac B. (1995). i Bašić Đ. (1995). *Osnovi tehnologije šećera. Industrija šećera Jugoslavije “Jugošećer” “DD, Beograd*.
- Šušić S. & Sinobad V. (1989). *Istraživanja u cilju unapređenja industrije šećera Jugoslavije: o hemijskim sastavima pčelinjeg meda i melase šećerne repe i njihovim biološkim vrednostima za ljudsku ishranu*.
- Tamang J.P. & Kailasapathy K. (2010). *Fermented foods and beverages of the world*. CRC Press Inc.
- Tasić T., Ikonić P., Mandić A., Jokanović M., Tomović V., Savatić S. & Petrović L. (2012). Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage (Petrovská klobása) as possible indicator of good manufacturing practice. *Food control*, 23, 107-112.
- Taylor S.L., Leatherwood M. & Lieber E.R. (1978). Histamine in sauerkraut. *Journal of Food Science*, 43, 1030-1030.

- Tolonen M., Rajaniemi S., Pihlava J.-M., Johansson T., Saris P.E. & Ryhänen E.-L. (2004). Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut. *Food Microbiology*, 21, 167-179.
- Tormo M. & Izco J. (2004). Alternative reversed-phase high-performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products. *Journal of Chromatography A*, 1033, 305-310.
- Torreggiani D. (1993). Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. *Food Research International*, 26, 59-68.
- Tortoe C. (2010). A review of osmodehydration for food industry.
- Trail A., Fleming H., Young C. & McFeeters R. (1996). CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF COMMERCIAL SAUERKRAUT1. *Journal of Food Quality*, 19, 15-30.
- Valli M., Sauer M., Branduardi P., Borth N., Porro D. & Mattanovich D. (2006). Improvement of lactic acid production in *Saccharomyces cerevisiae* by cell sorting for high intracellular pH. *Applied and environmental microbiology*, 72, 5492-5499.
- van Poppel G., Verhoeven D.T., Verhagen H. & Goldbohm R.A. (1999). Brassica vegetables and cancer prevention. In: *Advances in Nutrition and Cancer 2*. Springer, pp. 159-168.
- Vaughn R. (1985). microbiology of vegetable fermentations. *Microbiology of fermented foods/edited by Brian JB Wood*.
- Vaughn R.H. (1982). Lactic acid fermentation of cabbage, cucumbers, olives, and other produce.
- Velasco P., Francisco M. & Cartea M.E. (2010). 1 Glucosinolates in Brassica and Cancer. *Bioactive Foods and Extracts: Cancer Treatment and Prevention*, 1.
- Verhoeven D., Goldbohm R.A., van Poppel G., Verhagen H. & van den Brandt P.A. (1996). Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 5, 733-748.
- Viander B., Mäki M. & Palva A. (2003). Impact of low salt concentration, salt quality on natural large-scale sauerkraut fermentation. *Food Microbiology*, 20, 391-395.
- Vieira G.S., Pereira L.M. & Hubinger M.D. (2012). Optimisation of osmotic dehydration process of guavas by response surface methodology and desirability function. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 132-140.
- Vokbeck M., Albury M., Mattick L., Lee F. & Pederson C. (1963). Lipid Alterations During the Fermentation of Vegetables by the Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science*, 28, 495-502.
- Vorbeck M.L., Mattick L.R., Lee F.A. & Pederson C.S. (1961). Volatile Flavor of Sauerkraut. a, b Gas Chromatographic Identification of a Volatile Acidic Off-Odor. *Journal of Food Science*, 26, 569-572.
- Wang H., Cao G. & Prior R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 701-705.
- Warczok J. (2005). Concentration of Osmotic Dehydration Solutions Using Membrane Separation Processes: Tesi Doctoral. In. Universitat Rovira i Virgili. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Química. Departament d'Enginyeria Química.
- Warriner K. (2005). Pathogens in vegetables. *Improving the safety of fresh fruit and vegetables*, 1-43.

- Watzl B. (2001). Glucosinolates. *Ernahrungs-Umschau*, 48, 330-333.
- Wennberg M., Ekvall J., Olsson K. & Nyman M. (2006). Changes in carbohydrate and glucosinolate composition in white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) during blanching and treatment with acetic acid. *Food Chemistry*, 95, 226-236.
- Wennberg M., Engqvist G. & Nyman M. (2002). Effects of harvest time and storage on dietary fibre components in various cultivars of white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1405-1411.
- Wiander B. & Palva A. (2008). Sauerkraut and sauerkraut juice fermented spontaneously using mineral salt, garlic and algae. *Agricultural and Food Science*, 20, 169-174.
- William H. (2000). Official methods of analysis of AOAC international. USA, AOAC *International Suite*, 500, 481.
- Wolkers-Rooijackers J., Thomas S. & Nout M. (2013). Effects of sodium reduction scenarios on fermentation and quality of sauerkraut. *LWT-Food Science and Technology*, 54, 383-388.
- Yamaner C.I., Sezen I.Y. & Tanriseven A. (2010). Selection of psychrotrophic *Leuconostoc* spp. from native fruits, and studies on their dextransucrases. *Food Science and Biotechnology*, 19, 175-184.
- Yang E. & Chang H. (2010). Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi. *International journal of food microbiology*, 139, 56-63.
- Zhang Z.Y., Jin B. & Kelly J.M. (2007). Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. *Biochemical Engineering Journal*, 35, 251-263.
- Zhuang J.P., Li X.P. & Liu Y. (2012). Hydrolysis of Lignocellulosics into Fermentable Sugars for Cellulosic Ethanol Production: An Overview. *Advanced Materials Research*, 538, 2401-2404.