



UNIVERZITET U NOVOM SADU

TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD

**RAZVOJ I OPTIMIZACIJA
FUNKCIONALNOG PROIZVODA OD
ŠLJIVE UTEMELJENOG NA
PREFERENCIJAMA POTROŠAČA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:
Prof. dr Aleksandra Tepić Horecki

Kandidat:
Aleksandra Bajić, mast. inž.

Novi Sad, 2023. godine

Dugačak je spisak onih kojima dugujem ogromnu zahvalnost za to što danas imam završenu doktorsku disertaciju u svojim rukama. Bez timskog rada na Institutu i fakultetu, kao i kod moje kuće, ne bih uspela.

Veliku zahvalnost osećam prema profesoru Aleksandri Tepić Horecki, mom mentoru i za mene izuzetnom čoveku u svakom smislu, za nesebičnu podršku koju mi je pružila, za svaki savet i ideju koju je podelila sa mnom na ovom putu. Hvala i mom internom mentoru na Institutu, Biljani Cvetković, na pruženim naučnim i praktičnim savetima. Zahvalna sam članovima Komisije, Zdravku Šumiću, Mariji Jokanović i Aniti Milić na konstruktivnim savetima i na podršci tokom izrade i pisanja disertacije.

Ogromnu zahvalnost dugujem Jasni Mastilović i Žarku Kevrešanu što su mi otvorili vrata nauke i osmehom me dočekali u svoj svet istraživanja, pružili znanje i izuzetno naučno iskustvo, ne samo pri izradi disertacije već i daleko izvan nje.

Veliku zahvalnost upućujem Lati Pezi, mom genijalnom kolegi i prijatelju koji je uvek spremam na brzu i efiksanu saradnju.

Hvala Mladenki Pestorić, Dubravki Škrobot i Dragani Ubiparip Samek, što su me upoznale sa senzorskom analizom i što su mi pomogle da savladam izazove sa potrošačkim testiranjima. Zahvaljujem se prijateljima i kolegama Aleni Stupar, Renati Kovač, Marijani Sakač, Aleksandri Mišan, Bojani Filipčev, kao i mnogim tehničarima na Institutu na pomoći i savetima tokom izvođenja eksperimenta.

Posebnu zahvalnost dugujem Aleksandru Glediću, što je sa mnom provodio dane pored vakuum ukuvača pripremajući šarže proizvoda od šljive u Pilot postrojenju.

Zahvaljujem se iznova prijateljicama Dragani i Danki, što su me podsticale da nastavim dalje.

Hvala mojim roditeljima, Milani i mojoj Sari što su uvek bili uz mene tokom svih mojih uspona i padova. Neizmernu zahvalnost dugujem mami, mom večitom osloncu tokom školovanja i u životu, koja je uvek verovala u mene, i kad ja nisam. Hvala deda Tomi, što me je slušao i podržavao moju nauku.

I na kraju, ili na početku svega, zahvaljujem se mojoj čerkici Lenki i mom Bajketu na bezgraničnoj ljubavi, neizmernom strpljenju i podršci, što ste moja večita snaga, vera i nada. Bez vas bi sve bilo nemoguće.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA¹

Vrsta rada:	Doktorska disretacija
Ime i prezime autora:	Aleksandra Bajić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje, institucija)	dr Aleksandra Tepić Horecki, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad
Naslov rada:	Razvoj i optimizacija funkcionalnog proizvoda od šljive utemeljenog na preferencijama potrošača
Jezik publikacije (pismo):	Srpski jezik (latinica)
Fizički opis rada:	Uneti broj: Stranica (166) Poglavlja (7) Referenci (220) Tabela (35) Slika (40) Priloga (3)
Naučna oblast:	Biotehničke nauke
Uža naučna oblast (naučna disciplina):	Tehnologija biljnih proizvoda
Ključne reči / predmetna odrednica:	Funkcionalna hrana; funkcionalna svojstva tropa šljive; optimizacija formulacije funkcionalnog proizvoda; hemijska, fizička i senzorska svojstva proizvoda od šljive; potrošački testovi
Rezime na jeziku rada:	Raznovrsna grupa želiranih proizvoda od šljive, uključujući probni proizvod obogaćen tropom od šljive (sporednim proizvodom iz prerađe šljiva), ocenjeni su u inicijalnoj fazi doktorske disertacije pomoću panela potrošača, a prikupljeni rezultati su postali osnov za razvoj novog proizvoda. Optimizacija i razvoj novog funkcionalnog proizvoda od šljive se zasniva na variranju sastojaka inicijalne smeše (liofiliziran trop šljive, saharoza i LMA pektin) u izradi formulacije, pri čemu se balansira između postizanja maksimalne koncentracije fenolnih komponenti i proizvodnji namirnice optimalnih parametara boje i teksture koja je dopadljiva potrošaćima. Pored iskorišćenja tropa kao nove sirovine i kreiranja

¹ Autor doktorske disertacije potpisao je i priložio sledeće Obrasce:

5b – Izjava o autorstvu;

5v – Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije i o ličnim podacima;

5g – Izjava o korišćenju.

Ove Izjave se čuvaju na fakultetu u štampanom i elektronskom obliku i ne koriče se sa tezom.

	inovativnog proizvoda prihvatljivog za potrošače, razvijeni proizvod karakteriše snižena energetska vrednost i snižen sadržaj šećera, povećane koncentracije ukupnih fenola, flavonoida, monomernih antocijana i prehrambenih vlakana (>6%). Optimalan odnos sastojaka u proizvodu je: 10% liofiliziranog tropa, 15% saharoze i 0% LMA pektina, te se primenom liofilizata potpuno eliminiše primena komercijalnog pektina. Razvijen je model veštačke neuronske mreže (<i>eng.</i> ANN) koji može uspešno predvideti fizičko-hemijske parametre funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa (r^2 je 0,888), te se može primeniti u prehrambenoj industriji.
Datum prihvatanja teme od strane nadležnog veća:	29.11.2018.
Datum odbrane: (popunjava odgovarajuća služba)	
Članovi komisije: (titula, ime, prezime, zvanje, institucija)	Predsednik: dr Marija Jokanović, vanredni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad Član (mentor): dr Aleksandra Tepić Horecki, redovni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad Član: dr Zdravko Šumić, docent, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad Član: dr Anita Milić, naučni saradnik, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad Član: dr Biljana Cvetković, viši naučni saradnik, Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije
Napomena:	nema

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OR CENTER

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Monographic publication
Author:	Aleksandra Bajić
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Dr. Aleksandra Tepić Horecki, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad
Thesis title:	Development and optimization of a functional plum product based on consumers' preferences
Language of text (script):	Serbian language (latin)
Physical description:	Number of: Pages (166) Chapters (7) References (220) Tables (35) Illustrations (40) Appendices (3)
Scientific field:	Biotechnical Sciences
Scientific subfield (scientific discipline):	Technology of plant based products
Subject, Key words:	Functional food; functional properties of plum pomace; optimization of functional fruit product formulation; chemical, physical and sensory properties of plum products; consumer testing.
Abstract in English language:	A diverse group of plum jams, including a test product with added plum pomace (a by-product from plum processing), had undergone consumer testing in the initial stage of the experiment, and for further functional plum product development obtained results were used. Optimization and development of functional plum product were carried through variation of ingredients of input mixture (lyophilized plum pomace, sucrose, and LMA pectin) while balancing between reaching a maximal concentration of phenolic compounds and development of food with optimal textural and color attributes (which are liked by consumers). Besides the utilization of by-product as a novel raw material and the creation

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

5b – Statement on the authority,

5v – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5g – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

	<p>of innovative fruit preparation accepted by consumers, the functional plum product can be described as a reduced-calorie product with a reduced level of sugar, increased levels of total phenols, flavonoids, monomeric anthocyanins and dietary fibers (>6%).</p> <p>The optimal levels of ingredients for the plum product are 10% lyophilized plum pomace, 15% sucrose, and 0% LMA pectin. Integration of plum pomace eliminated commercial pectin addition.</p> <p>The developed artificial neural network (ANN) model showed a reasonably good predictive capability of physicochemical characteristics of plum products incorporated with lyophilized plum pomace (r^2 was 0,888) and provided adequate precision for practical use in the food industry.</p>
Accepted on Scientific Board on:	29.11.2018.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: Dr. Marija Jokanović, associate professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad</p> <p>Member: Dr. Aleksandra Tepić Horecki, full professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad</p> <p>Member: Dr Zravko Šumić, assistant professor, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad</p> <p>Member: Dr Anita Milić, research associate, University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad</p> <p>Member: Dr Biljana Cvtković, senior research associate, University of Novi Sad, Institute of Food Technology</p>
Note:	none

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	4
2.1. Šljiva kao tradicionalna voćna kultura - proizvodnja i prerada u Srbiji.....	5
2.2. Proizvodnja soka od šljive i nastanak sporednog proizvoda	7
2.3. Funkcionalna hrana.....	10
2.3.1. Iskorišćenje sporednih proizvoda iz prerade voća i povrća.....	14
2.3.2. Funkcionalni potencijal tropa šljive.....	15
2.4. Nutritivni sastav, fitohemikalije ploda i pregled funkcionalnih biokomponenti u pokožici šljive	16
2.4.1. Fenolne komponente	18
Fenolne komponente u šljivi	19
2.4.2. Prehrambena vlakna.....	24
Prehrambena vlakna u šljivi.....	26
2.5. Upotreba prehrambenih vlakana u hrani, tehnološka svojstva pektina i značaj u proizvodnji želiranih proizvoda	28
2.6. Senzorska analiza hrane i podela senzorskih metoda	30
2.6.1. Podela potrošačkih testova	32
Testovi preferencije	33
Testovi prihvatljivosti	33
Just About Right (JAR) skala.....	35
2.6.2. Senzorski kvalitet želiranih prerađevina od voća	36
2.7. Veštačke neuronske mreže	38
3. EKSPERIMENTALNI DEO	41
3.1. Reagensi	42
3.2. Materijal	42
3.3. Priprema proizvoda od šljive pod vakuumom	45
3.4. Liofilizacija tropa od šljive i priprema funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa šljive.....	48
3.4.1. Liofilizacija tropa u laboratorijskim uslovima	48
3.4.2. Proizvodnja funkcionalnih proizvoda na bazi šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa u laboratorijskim uslovima	48
3.4.3. Liofilizacija tropa u industrijskim uslovima.....	49
3.4.4. Proizvodnja razvijenog funkcionalnog proizvoda na bazi šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa pod vakuumom.....	50

3.5. Metode rada.....	51
3.5.1. Analitičke metode ispitivanja fizičko-hemijskih osobina sirovina, proizvoda od šljive i mikrobiološka ispravnost razvijenog funkcionalnog i kontrolnog proizvoda.....	51
3.5.2. Ekstrakcija fenolnih komponenti.....	52
3.5.2.1. Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih komponenti	53
3.5.2.2. Određivanje sadžaja ukupnih flavonoida	53
3.5.2.3. Određivanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana	53
3.5.2.4. Određivanje antiradikalske aktivnosti na DPPH radikal	54
3.5.3. Određivanje šećera, organskih kiselina i individualnih fenolnih jedinjenja visokopritisnom tečnom hromatografijom.....	55
3.5.3.1. Ekstrakcija organskih kiselina i šećera.....	55
3.5.3.2. Određivanje šećera HPLC- ELSD metodom	55
3.5.3.3. Određivanje organskih kiselina HPLC- DAD metodom.....	55
3.5.3.4. Određivanje fenolnih komponenti HPLC metodom	56
3.5.4. Instrumentalno merenje površinske boje sirovina i proizvoda od šljive	57
3.5.5. Instrumentalno određivanje teksturnih svojstava proizvoda od šljive	58
3.5.6. Senzorska analiza proizvoda od šljive pomoću panela potrošača.....	60
3.5.7. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn i statistička obrada rezultata	65
Statistička obrada podataka.....	65
4. REZULTATI I DISKUSIJA	70
4.1. Karakterizacija sirovina za proizvodnju pilot proizvoda od šljive	71
4.2. Karakterizacija komercijalnih i pilot proizvoda od šljive	73
4.3. Potrošački testovi i pronalaženje vodećih senzorskih karakteristika za razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive	77
4.3.1. Testovi preferencije	80
4.3.1.1. Test preferencije između dva komercijalna proizvoda sa forsiranim izborom	80
4.3.1.2. Test preferencije u odnosu na zadati proizvod sa forsiranim izborom: između polaznog funkcionalnog proizvoda od šljive i domaće marmelade proizvedenih u pilot postrojenju.....	81
4.3.1.3. Test preferencije između džema proizведенog u pilot postrojenju i komercijalnog pekmeza sa mogućnošću neopredeljenosti	82
4.3.1.4. Rangiranje proizvoda	83
4.3.2. Testovi prihvatljivosti pojedinačnih senzorskih karakteristika	84
4.3.2.1. Test prihvatljivosti boje i teksture.....	84
4.3.2.2. Test prihvatljivosti ukusa u pogledu slatkoće i kiselosti	86
4.3.3. Tradicionalno proizveden pekmez od šljiva kao model za modifikaciju i razvoj novog funkcionalnog proizvoda od šljive	87
4.4. Karakterizacija sirovina za proizvodnju funkcionalnih proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa od šljive.....	89

4.4.1. Pregled fenolnih komponenti i antioksidativne aktivnosti sirovina	94
4.5. Hemijske osobine, tekstura i boja funkcionalnih proizvoda od šljive obogaćenih liofiliziranim tropom od šljive	97
4.5.1. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na fenolne komponente i antioksidativnu aktivnost funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa	99
4.5.2. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na parametre boje funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa.....	101
4.5.3. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na teksturne karakteristike funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa	102
4.6. Analiza glavnih komponenti	104
4.7. Optimizacija formulacije funkcionalnog proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa	105
4.8. ANN model	107
4.9. Karakterizacija razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda od šljive	110
4.9.1. Fenolna jedinjenja i antioksidativna aktivnost razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda.....	113
4.9.2. Boja i tekstura razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda	119
4.10. Analiza rezultata dopadljivosti razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive.....	122
4.10.1. Testovi ukupne dopadljivosti proizvoda i dopadljivosti pojedinačnih senzorskih atributa.....	125
4.10.2. Test prihvatljivosti glavnih činilaca ukusa (slatkoća i kiselost)	129
5. ZAKLJUČCI.....	132
6. LITERATURA.....	136
7. PRILOG	151

REZIME

Raznovrsna grupa želiranih proizvoda od šljive, uključujući probni proizvod obogaćen tropom od šljive (sporednim proizvodom iz prerađe šljiva), ocenjeni su u inicijalnoj fazi doktorske disertacije pomoću panela potrošača, a prikupljeni rezultati su postali osnov za razvoj novog proizvoda.

Optimizacija i razvoj novog funkcionalnog proizvoda od šljive se zasniva na variranju sastojaka inicijalne smeše (liofiliziran trop šljive, saharoza i LMA pektin) u izradi formulacije, pri čemu se balansira između postizanja maksimalne koncentracije fenolnih komponenti i proizvodnji namirnice optimalnih parametara boje i teksture koja je dopadljiva potrošačima.

Pored iskorišćenja tropa kao nove sirovine i kreiranja inovativnog proizvoda prihvatljivog za potrošače, razvijeni proizvod karakteriše snižena energetska vrednost i snižen sadržaj šećera, povećane koncentracije ukupnih fenola, flavonoida, monomernih antocijana i prehrambenih vlakana (>6%).

Optimalan odnos sastojaka u proizvodu je: 10% liofiliziranog tropa, 15% saharoze i 0% LMA pektina, te se primenom liofilizata potpuno eliminiše primena komercijalnog pektina.

Razvijen je model veštačke neuronske mreže (*eng. ANN*) koji može uspešno predvideti fizičko-hemijske parametre funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa (r^2 je 0,888), te se može primeniti u prehrambenoj industriji.

SUMMARY

A diverse group of plum jams, including a test product with added plum pomace (a by-product from plum processing), had undergone consumer testing in the initial stage of the experiment, and for further functional plum product development obtained results were used.

Optimization and development of functional plum product were carried through variation of ingredients of input mixture (lyophilized plum pomace, sucrose, and LMA pectin) while balancing between reaching a maximal concentration of phenolic compounds and development of food with optimal textural and color attributes (which are liked by consumers). Besides the utilization of by-product as a novel raw material and the creation of innovative fruit preparation accepted by consumers, the functional plum product can be described as a reduced-calorie product with a reduced level of sugar, increased levels of total phenols, flavonoids, monomeric anthocyanins and dietary fibers (>6%).

The optimal levels of ingredients for the plum product are 10% lyophilized plum pomace, 15% sucrose, and 0% LMA pectin. Integration of plum pomace eliminated commercial pectin addition.

The developed artificial neural network (ANN) model showed a reasonably good predictive capability of physicochemical characteristics of plum products incorporated with lyophilized plum pomace (r^2 was 0,888) and provided adequate precision for practical use in the food industry.

1. UVOD

Šljiva (*Prunus domestica* L.) je tradicionalno koštičavo voće koje se vekovima uzgaja u voćnjacima širom Srbije, a posebno u šumadijskoj regiji i zapadnoj Srbiji. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu za 2022. godinu (FAOSTAT, 2022), Srbija se nalazi na trećem mestu po proizvodnji šljiva u svetu, te je prepoznata kao strateški važna voćna kultura za našu zemlju. Plod šljive ima povoljan nutritivni i hemijski sastav (Sahamishirazi i sar., 2017; Stacewicz-Sapuntzakis, i sar., 2001), kao i bioaktivna jedinjenja fenolne prirode koja su korisna za ljudsko zdravlje (Čakarević i sar., 2019; Sahamishirazi i sar., 2017; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a; Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001).

Sveža i sušena šljiva se najviše konzumiraju u svetu u odnosu na ostale prerađevine od šljive. Nepovoljan i neujednačen sortiment šljiva, zastarela tehnologija proizvodnje i odsustvo monitoringa tokom proizvodnje i skladištenja umanjuju konkurentnost šljiva sa ovog područja na svetskom tržištu. Prerada šljiva u Srbiji svedena je na mali broj artikala, uprkos potencijalu koji ima. Danas preko 80% šljiva namenjenih za preradu u Srbiji završi u formi alkoholnog pića od šljive, rakiji, dok se ostatak prerađuje do želiranih proizvoda, komposta, zamrznutih proizvoda itd. Ipak, permanentno prisutna konkurentnost u prehrambenoj industriji zahteva razvoj i distribuciju inovativnih proizvoda na domaće i svetsko tržište, te je nužno povećati asortiman novih proizvoda. Na svetskom tržištu raste interesovanje za proizvode poput soka od šljive i koncentrata soka, što je za srpske sorte trenutno jedan od perspektivnijih načina prerade. Proizvodnja funkcionalne hrane je još jedan od okvira za plasiranje novih proizvoda od šljive i predstavlja trend u prehrambenoj industriji. Obogaćivanje konvencionalnog proizvoda dodatkom različitih funkcionalnih sastojaka i/ili na primer smanjenje sadržaja šećera primenjuju se kao obećavajući metodi u trci za bolje pozicioniranje funkcionalne namirnice na tržištu (Hasler, 2002). Proizvodi od voća poput džemova, pekmeza, marmelada i dr., predstavljaju povoljne medijume za dodatak funkcionalnih sastojaka, te se u ovoj doktorskoj disertaciji teži proizvodnji funkcionalno vrednog voćnog proizvoda iz te grupe namirnica.

Indsutrija soka je jedan od najvećih proizvođača biootpada koji poseduje potencijalno vredne funkcionalne sastojke i biokomponente. U proizvodnji soka od šljive kao sporedni proizvod nastaje trop koji čini pokožica (egzokarp ploda), koja je prirodan izvor prehrambenih vlakana (Kosmala i sar., 2013; Milala i sar., 2013) i bioaktivnih fenolnih jedinjenja sa zdravstveno povoljnim svojstvima. Prehrambena vlakna su neophodna za normalno funkcionisanje gastrointestinalnog trakta, što se odražava na imunitet, te je povećanje dnevног unosa vlakana poželjno u ishrani savremenog čoveka. Najznačajniji antioksidanti u šljivi su fenolne komponente (dominantno antocijani) i akumuliraju se u pokožici šljiva tamnoljubičastih i crvenoljubičastih sorti. Ispitanje tropa iz industrije soka od šljiva i njegovo integrisanje u sastav funkcionalnog proizvoda može biti osnov modela za smanjenje biljnog otpada, iskorišćenje čitavog jestivog dela ploda i proizvodnju funkcionalne hrane.

Niz eksperimentalnih istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji prožet je senzorskom analizom iz ugla potrošačkih testova (testova preferencije, dopadljivosti/prihvatljivosti), s obzirom da je postizanje prihvatljivog senzorskog kvaliteta namirnice neophodno u razvoju novog proizvoda. Glavni cilj ove doktorske disertacije bio je da se razvije i okarakteriše funkcionalni proizvod na bazi šljive koji je dopadljiv za potrošača i poseduje uravnotežen odnos nutrijenata i visok udeo bioaktivnih komponenti. Da bi se postavili osnovni ciljevi optimizacije u pogledu senzorskih osobina kojima se teži, ispitan je senzorski status probnog (polaznog) funkcionalnog proizvoda obogaćenog tropom šljive i proizvoda od šljive iz iste grupe voćnih prerađevina (džem, pekmez, domaća marmelada). Sekundarni cilj ove teze zasnivao se na karakterizaciji i maksimalnom iskorišćenju sporednog proizvoda iz prerade šljiva (tropa) u

razvoju novog proizvoda kako bi se podstakla upotreba čitavog jestivog dela ploda tokom prerade.

Oba cilja su ispunjena kroz proces optimizacije recepture funkcionalnog proizvoda od šljive, a doktorska teza izvedena je u sledećim fazama:

- Karakterizacija polaznih sirovina za proizvodnju funkcionalnog proizvoda;
- Analiza preferencija potrošača u odnosu na senzorska svojstva želiranih proizvoda od šljive u cilju definisanja svojstva proizvoda u skladu sa stavovima potrošača;
- Razvoj i optimizacija recepture funkcionalnog proizvoda od šljive u cilju postizanja: optimalne boje i teksture proizvoda, maksimalnih koncentracija fenolnih biokomponenti (fenola, flavonoida, monomernih antocijana) u proizvodu i maksimalne antioksidativne aktivnosti proizvoda;
- Probna proizvodnja optimizovanog razvijenog funkcionalnog proizvoda i njegova fizička, hemijska i senzorska karakterizacija.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Šljiva kao tradicionalna voćna kultura - proizvodnja i prerada u Srbiji

Srbija je zemlja koštičavog voća, gde najveći deo voćnjaka čine stabla evropske šljive (*Prunus domestica L.*). Kroz vekove se užgajala na ovim prostorima kao jedna od tradicionalnih poljoprivrednih kultura, a pejzaž proplanaka oko srpskih sela neizostavno su činili šljivici. Šljiva se užgaja u brdskim i brdsko-planinskim prodrugačima, najviše u Šumadiji i Zapadnoj Srbiji. Poznat je veliki broj autohtonih sorti šljive (Arapka, Bela Požegača, Belošljiva, Cerovački Piskavac, Crnošljiva, Trnovača, Crvena Ranka, Požegača, Kapavac, Marićevka, Petrovača, Turgulja i mnoge druge), a pojedine, poput Crvene Ranke, smatraju se pravim bogatstvom, s obzirom da su dragoceni izvor genetičkog materijala za dalje oplemenjivanje i razvoj novih varijeteta šljive (Tomić i sar., 2019). Poslednjih decenija razvijen je i priznat veliki broj domaćih sorti zahvaljujući naporima istraživača sa Instituta za voćarstvo u Čačku (Čačanska Lepotica, Čačanska Rodna, Boranka, Čačanska Rana, Valerija, Timočanka, Čačanska Najbolja, Nada, Zlatka, Jelica, Mildora, Krina, Valjevka, Čačanski Šećer, Pozna Plava, Divna, Petra, Lana). Autohtone sorte čine većinu u voćnjacima, te Požegača čini 35% ukupnog sortimenta, ostale autohtone sorte polovinu (50%), dok Stanley (uvezena sorta) i nove sorte šljive čine 15% (Milosevic i sar., 2010). Postepeno dolazi do smanjenja autohtonih sorti u strukturi sortimenta i dominacije domaćih sorti Čačanska Lepotica i Čačanska Rodna, pored Stanley sorte, koja je jedna od vodećih poslednjih godina uprkos mnogim nedostacima (Tomić i sar., 2019).

Srbija je visoko pozicionirana po proizvodnji šljive u svetu i nalazila se na trećem mestu po ukupno proizvedenoj količini (582.547 t) u 2020. godini, nakon Kine i Rumunije. U periodu od 2015-2020. u našim voćnjacima je proizvedeno 2.728.590 t šljiva i Srbija je održala tu poziciju na svetskom nivou prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivrednu (FAOSTAT, 2022). Međutim, prema Matkoviću (2015), izvoz šljive i njenih prerađevina (uglavnom sušene šljive) u Srbiji nije u dovoljnoj meri profitabilan kao što je bio u prošlosti. U periodu od 2015-2020. ukupna količina izvezenih šljiva bila je 124.030 t, što je oko 4% od celokupne količine proizvedenih šljiva (FAOSTAT, 2022).

Evropska šljiva *P. domestica L.* klasificuje se u klimakterično voće, na osnovu intenzivne respiracije i produkcije etilena (hormona zrenja) tokom sazrevanja (Lippert i Blanke, 2004). Klimakterično voće može da dozревa nakon branja tokom skladištenja, a promene ćelija i omekšavanje ploda posledica su prisustva endogenog i egzogenog etilena (Minas i sar., 2015), što izaziva propadanja ploda. Intenzitet produkcije etilena tokom sazrevanja zavisi od sorte voća (Singh i sar., 2012). Kako bi se očuvalo kvalitet i prolongirao rok trajnosti (eng. shelf-life) voća, potrebno je kontrolisati tok proizvodnje i skladištenja plodova sveže šljive primenom modernih tehnologija proizvodnje i skladištenja, što podrazumeva podvrgavanje plodova nekoj od tehnika iz grupe pred- i posleberbenih tehnologija (eng. preharvest i postharvest). Takve tehnike mogu uključivati primenu inhibitora biosinteze etilena, kao što je aminoetoksivinilglicin, dok je plod još uvek na stablu, posleberbenih tretmana sa inhibitorima etilena (1-metilciklopropen i poliamin), kalcijumom ili primenu toplotnih tretmana, hladnog skladištenja i/ili upotrebu pakovanja sa modifikovanom atmosferom, kao i kombinaciju pomenutih tehnika (Ozturk i sar., 2012; Díaz-Mula i sar., 2011; Manganaris i sar., 2008). Nedovoljna ulaganja i zastarela tehnologija proizvodnje u Srbiji, odsustvo adekvatnog monitoringa tokom proizvodnje, razlike u sortimentu zbog kojih se ne može obezbediti ujednačen kvalitet svežeg ploda, odražavaju se negativno na konkurentnost naše šljive u svetu. Sve više raste popularnost sveže konzumne šljive i sušene šljive koja je jedna od vodećih vrsta sušenog voća po antioksidativnim svojstvima (Chang i sar., 2016; Manganaris i sar., 2008). Zato je potrebno osavremeniti pomenute

tehnologije i podsticati izvoz ovog voća. Pored težnje za boljim plasiranjem sveže konzumne šljive, neophodno je proširiti assortiman trenutno dostupnih proizvoda i poluproizvoda od šljive, kako na domaćem, tako i na svetskom tržištu, s obzirom da je sveža šljiva dostupna svega 100 dana godišnje. Potrebno je pronaći put do iskorišćenja nutritivnog potencijala šljive i van letnjeg perioda kada rađaju plodovi ranih (od sredine jula) i kasnih sorti (sredina septembra) kroz plasiranje tradicionalnih i inovativnih proizvoda. Takođe, kvalitet sveže šljive nakon branja se može očuvati do dve nedelje skladištenjem u hladnoj atmosferi, zato je prerada šljive neizbežna (Zbrzežniak i sar., 2015), kako bi ta vrsta voća bila dostupna konzumentima tokom cele godine.

Prerada šljiva u Srbiji svodi se na nekolicinu proizvoda, uprkos potencijalu koji to voće poseduje. U SAD se čak 70% proizvedenih šljiva prerađuje do brojnih proizvoda (Lukač Bulatović i sar., 2012), dok se u Nemačkoj i Velikoj Britaniji proizvede preko 100 različitih prerađevina od šljive, pri čemu Velika Britanija uvozi tu sirovину (Matković, 2015). Prerada šljiva u Srbiji se najčešće svodi na proizvodnju alkoholnog nacionalnog pića, rakije „šljivovice“ (Tomić i sar., 2019; Matković, 2015), te čak 80% šljiva namenjenih preradi završi u toj formi. Za proizvodnju rakije koriste se sorte sa visokim sadržajem šećera, najčešće autohtone (Tomić i sar. 2019; Milosevic i sar., 2010). Rakija se proizvodi u domaćinstvima i za privatne potrebe istih. Manje od 5% spada u rakiju visokog kvaliteta, dok su visoko klasifikovane i brendirane rakije sa zaštićenim poreklom (Žuta osa, Manastirka, Baljevka, Stara Sokolova, Povlenka) retke u mnoštvu ove grupe proizvoda (Matković, 2015). Na ovaj način potencijal prerade šljiva u Srbiji nije adekvatno iskorišćen.

Ostali vidovi prerade, poput tople (džemovi, pekmezi, kompoti, sušene šljive, sokovi, koncentrati i dr.) i hladne prerade (zamrznuti celi plodovi, duboko zamrznuta ručno i mašinski sečena šljiva) čine svega 20% celokupne tehnologije prerade šljive kod nas (Matković, 2015).

Uprkos malom udelu u celokupnoj preradi, sušenje šljiva ima dugu tradiciju u Srbiji. Sušenje na suncu je jedan od najstarijih načina prerade. Tradicionalan proizvod, šljivin kolač i danas se proizvodi u domaćinstvima zapadne i centralne Srbije koristeći toplotu sunca. Izvoz šljiva bio je najintenzivniji u periodu od kraja XIX veka do 80-ih godina XX veka, uz povremene fluktuacije, a sušena šljiva se smatrala najznačajnijim izvoznim artiklom. U početnim fazama razvoja sušara koristilo se čvrsto gorivo za sušenje/dimljenje (najčešće drvo) kao jedan od najjeftinijih izvora energije. U prvim decenijama XX veka otpočela je primena prvih diskontinualnih konvektivnih sušara. Sredinom prošlog veka predstavljene su prve tunelske sušare, gde se kao gorivo primarno koristilo ulje, a potom ga je zamenio gas. Ipak, krajem XX veka, došlo je do pada u izvezenim količinama usled uticaja brojnih faktora (socijalni, politički, zastarele tehnologije sušenja) (Ogašanović i sar., 2007). Pored adekvatnog izbora sorte i/ili razvoja novih sorti pogodnih za sušenje, promovisanja naših proizvoda u svetu, potrebno je bilo ispratiti dostignuća iz ove oblasti istraživanja i modernizovati tehnologiju (Ogašanović i sar., 2007). Uobičajeno korišćeno konvektivno sušenje je i danas najzastupljeniji oblik sušenja kod nas. Tehnologija proizvodnje sušenih šljiva podrazumeva primenu visokih temperatura (85-90 °C) i do 18 h, usled čega dolazi do gubitaka polifenola (Essiccatoi, 2003; Raynal i sar., 1989). Dolazi do značajnih gubitaka flavonola, hidroksicimetnih kiselina i do potpune degradacije antocijanina i flavan-3-ola (Piga i sar., 2003; Donovan i sar., 1998). Uprkos pronalascima novih tehnika sušenja (osmotsko, vakuum sušenje, liofilizacija) kojima se može očuvati nutritivni profil šljiva, često je da se u praksi ne koriste prethodno dokazana naučna saznanja (Ogašanović i sar., 2007). U 2020. godini iz Srbije je izvezeno oko 4.158 t sušenih šljiva (FAOSTAT, 2022).

Priprema želiranih proizvoda od šljive u domaćinstvima ili u industrijskim uslovima uz primenu konvencionalnih tehnoloških postupaka (npr. u duplikatorima) na atmosferskom pritisku uključuje upotrebu termičkih tretmana na visokim temperaturama (preko 100 °C) kojima se degradiraju termolabilna bioaktivna jedinjenja usled reakcija oksidacije, karamelizacije i dr. U industrijskim uslovima primenjuju se i vakuum ukuvači (isparivači), pri čemu se može umanjiti štetno dejstvo temperature, s obzirom da se primenjuju niže temperature (55-60 °C) (Niketić-Aleksić, 1988). Tokom proizvodnje standardnih želiranih proizvoda primenjuju se visoke koncentracije šećera, zbog čega ovakvi proizvodi izlaze iz okvira koje podrazumeva pojam funkcionalne hrane (o čemu će biti reči kasnije) i njihova konzumacija je ograničena, posebno kod ljudi sa zdravstvenim tegobama (gojaznost, dijabetes i dr.) (Stamatovska i sar., 2017). Standardni proizvodi od voća moraju da zadovolje zahteve Pravilnika o kvalitetu voćnih džemova, želea, marmelade, pekmeza i zasladdenog kesten pirea (Sl. glasnik RS br. 101/2015) koji se odnose na minimalne vrednosti rastvorljive suve materije u finalnom proizvodu: >60% (džem, ekstra džem, žele, marmelada, žele marmelada, pekmez) i >67% (ekstra žele, domaća marmelada). Drugim rečima, priprema standardnih proizvoda podrazumeva primenu šećera, a izuzetak je pekmez koji se može pripremiti sa ili bez dodatka šećera (Sl. glasnik RS br. 101/2015). Rastvorljiva suva materija može biti niža u proizvodima kod kojih je šećer potpuno ili delimično zamenjen zasladičavcima (Sl. glasnik RS br. 101/2015). Zahtevi tržišta nameću potrebu za proizvodnjom nisokokaloričnih proizvoda od voća, te se i takve prerađevine od šljive pojavljuju na tržištu, što ukazuje na činjenicu da prerada voća osluškuje potrebe svih grupa potrošača. Voćni namazi su sve privlačniji u svetu, s obzirom da je nutritivni i senzorni profil najsličniji svežem voću (Peinado i sar., 2015). Prema pomenutim autorima, za voćne namaze ne postoje jasni zahtevi u pogledu zadovoljenja minimalne vrednosti rastvorljive suve materije (Peinado, 2015), što znači da sadržaj šećera može biti snižen. Zbog svega gore navedenog, okosnica ove doktorske disertacije je razvoj proizvoda od šljive koji odgovara svojstvima voćnog proizvoda u kojem je redukovani sadržaj šećera.

U svetu raste interesovanje za sok od šljiva s obzirom na veliki broj dokaza o blagotvornim svojstvima šljive i na značaj sokova u ishrani. Sok je pogodna namirnica za brz način života kojem je čovek izložen i omogućava brzu konzumaciju voća (u odnosu na druge prerađevine). Proizvodnja soka od šljiva i kod nas može biti jedan od potencijalno perspektivnih načina prerade, ali je tehnologija prerade i dalje izazov za proizvođače.

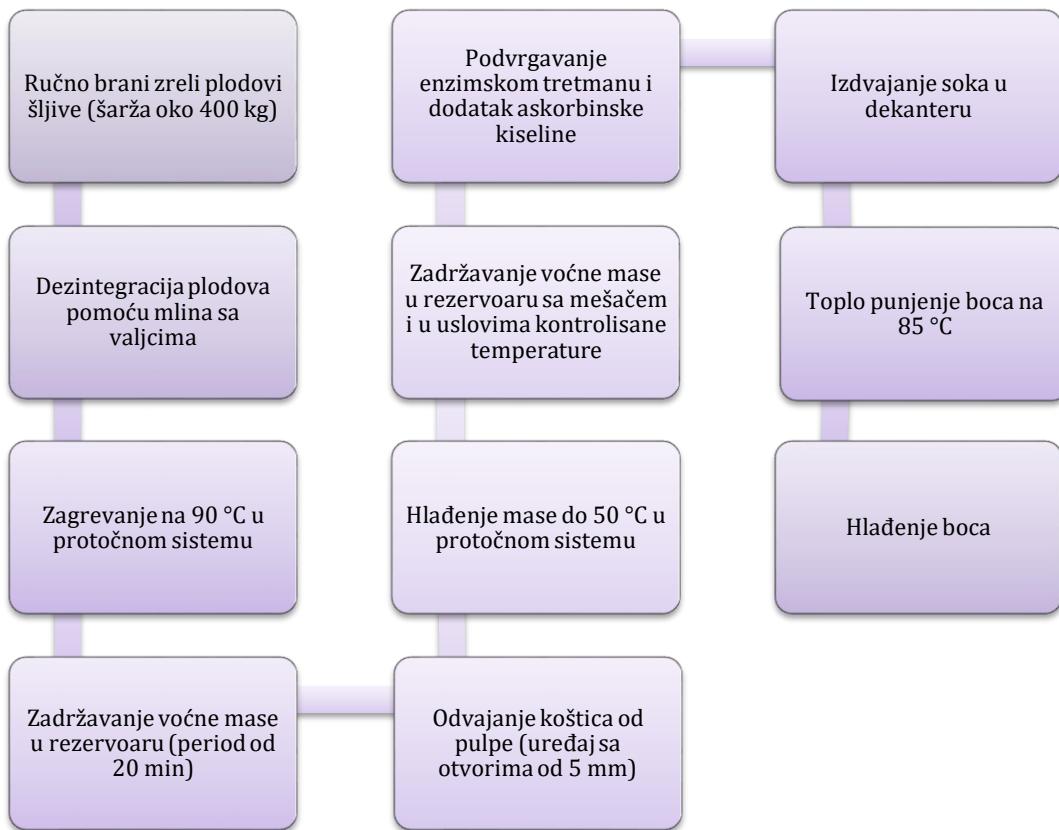
2.2. Proizvodnja soka od šljive i nastanak sporednog proizvoda

Voće se može preraditi do voćnog soka, koncentrisanog voćnog soka, voćnog soka dobijenog vodenom ekstrakcijom, dehidrisanog voćnog soka (voćnog soka u prahu) i voćnog nektara različitim tehnološkim postupcima, a uslovi u pogledu kvaliteta proizvoda propisani su Pravilnikom o voćnim sokovima i određenim srodnim proizvodima namenjenim za ljudsku upotrebu (Sl. glasnik RS br. 103/2018-4, 94/2019-153, 2/2020-205, 84/2020). Dodatak šećera i/ili meda dozvoljen je samo u slučaju voćnog nektara. Šljiva se može preraditi do svih pomenutih proizvoda, ali prema mnogim istraživanjima iz ove oblasti, stabilan i komercijalizovan sok od šljive i dalje ne postoji.

Voćni sok dobijen vodenom ekstrakcijom je proizvod od celih plodova voća (čiji se sok ne može ekstrahovati nikakvim fizičkim postupcima) ili sušenih plodova dobijen difuzijom u vodi (Sl. glasnik RS br. 103/2018-4, 94/2019-153, 2/2020-205, 84/2020). Sok od sušene šljive (*eng. prune juice*) je popularan širom sveta, ali se prema nekim grupama autora ne može

okarakterisati kao pravi voćni sok, s obzirom da se dobija ekstrakcijom topлом vodom (Will i Dietrich, 2006; Donovan i sar., 1998; van Gorsel i sar., 1992). Velika količina pektinskih polisaharida u tkivu šljive značajno otežava proces prerade do sokova i koncentrata (Zbrzežniak i sar., 2015; Levaj i sar., 2012, Will i Dietrich, 2006). Will i Dietrich (2006) ističu da je industrijia soka i dalje rezervisana prema preradi šljiva do ovih vrsta prerađevina, s obzirom da zahtevi tržišta diktiraju potrebu za proizvodima sa stabilnom i atraktivnom bojom, kao i postojanim senzorskim kvalitetom tokom skladištenja, zbog čega šljiva kao sirovina nije omiljena u industriji. Prema Zbrzežniak i sar. (2015), stabilan i komercijalizovan sok od svežih šljiva i dalje nije proizведен. Nestabilnost soka može biti posledica visokog stepena kiselosti soka, što utiče negativno na njegovu potpunu industrijalizaciju (Siddiq, 2006). Ipak, šljiva i danas privlači pažnju prehrambene industrije svojim blagotvornim sastavom. Visok sadržaj polifenola i organskih kiselina u šljivi zadovoljava sve zahteve tržišta sa zdravstvenog i ekonomskog aspekta, te se i dalje smatra perspektivnom sirovinom za preradu do soka (Zbrzežniak i sar., 2015; Will i Dietrich, 2006).

S obzirom da je interesovanje istraživača uzburkano šljivom kao sirovinom za proizvodnju sokova, usmereno je ka pronalascima adekvatnijeg načina prerade do stabilnog proizvoda. Proizvodnja sokova i sličnih proizvoda od šljive ne može se zamisliti bez upotrebe enzimskih preparata (Will i Dietrich, 2006), a prinos zavisi od primjenjenog enzimskog tretmana i uslova maceracije (koncentracija dodatog pektolitičkog enzima, dužina procesa, temperatura itd.) (Levaj i sar., 2012). Chang i sar. (1994) primenili su pektinazu za povećanje prinosa soka od šljive kod 6 sorti šljive, pri čemu se prinos povećao 41-214% u odnosu na kontrolni uzorak dobijen bez enzima, a sadržaj pektina je bio prosečno 54% manji nego u soku ekrahovanom bez tog preparata. Maceracija pulpe pektolitičkim enzimima obezbeđuje efikasnije pasiranje uz veći prinos soka i uz minimalno narušavanje kvaliteta i biološke vrednosti proizvoda (Levaj i sar., 2012). Tretman pektolitičkim enzimima utiče i na oslobođanje zarobljenih pigmenata u pokožici ploda (antocijana), odgovornih za boju šljiva, te se dobija crvenkasta boja soka (Will i Dietrich, 2006). U slučaju proizvodnje mutnog soka, degradacija pektina u prevelikom obimu može dovesti do destabilizacije koloidno rastvorenih sastojaka, što je nepoželjno (Zbrzežniak i sar., 2015). Od velike važnosti za proizvodnju soka od šljiva je izbor enzimskog preparata. Prema Will i Dietrich (2006) za dobijanje mutnog soka od šljive potrebno je primeniti enzim pektin liazu, koji je selektivniji u odnosu na uobičajeno primenjivane preparate koji sadrže pektin esterazu i poligalakturonazu, a koji vode potpunoj degradaciji pektina (usled čega se destabilizuje sistem). Tehnologija proizvodnje mutnog soka od šljive sa stabilnom mutnoćom i intenzivnom stabilnom bojom prikazana je na slici 1 (Will i Dietrich, 2006).



Slika 1. Proizvodnja soka od šljive sa stabilnom bojom i mutnoćom (Will i Dietrich, 2006)

Na kvalitet soka od šljiva utiče i prisustvo enzima polifenoloksidaze (PPO) u sirovini, koji je glavni faktor enzimskog potamnjivanja soka od šljiva (Zbrzežniak i sar., 2015). PPO se ponaša kao katalizator u reakciji formiranja hinona od fenola u prisustvu molekulskog kiseonika, što dovodi do stvaranja neželjenih mrkih pigmenata, a indirektno reaktivni hinoni mogu dovesti i do degradacije antocijana (Tepić, 2012) i do potamnjivanja proizvoda. Ovaj problem se rešava dodatkom askorbinske kiseline kako bi se sačuvali pigmenti i boja tokom procesa proizvodnje. Ipak, uočeno je da se primenom askorbinske kiseline postiže samo privremena zaštita od potamnjivanja (Tepić, 2012) i da uprkos njenoj upotrebi tokom sladištenja soka od šljiva dolazi do redukcije antocijana (Fastyn i sar., 2010). Zbrzežniak i sar. (2015) ukazali su da je za preradu šljiva do soka najpogodnije upotrebiti sorte sa niskom aktivnosti PPO u plodu, a koje imaju visok sadržaj rastvorljive suve materije i antocijana. Tako u pogledu aktivnosti PPO enzima Čačanska Najbolja pokazuje bolje osobine za proizvodnju soka od šljiva od sorte Promis (Zbrzežniak i sar, 2015).

Šljiva se i kod nas smatra kompleksnom voćnom vrstom za preradu do soka, s obzirom da je izazov proizvesti stabilan sok sa aspekta senzorskog i tehnološkog kvaliteta. Prema sadržaju nerastvorljivih sastojaka (suspenzoida) voća, voćni sokovi se mogu podeliti u tri kategorije: bistri, mutni i kašasti.

Prilikom proizvodnje soka i srodnih proizvoda od šljive, bez obzira na odabir tehnologije prerade, upotrebu i/ili izbor enzimskih preparata, u manje ili više tehnološki razvijenim postrojenjima, kao sporedni proizvod izdvajaju se koštice i trop šljive (koji se sastoji od pokožice

šljive). Pasiranje je značajna tehnološka operacija u proizvodnji voćnog soka s obzirom da se odražava na krajnji kvalitet soka i ekonomičnost proizvodnje. U industriji prerade voća koriste se kontinualne i semikontinualne prese (pasir mašine), a u novije vreme i trakaste kontinualne prese. Moderna postrojenja za proizvodnju soka od šljiva obično uključuju primenu trakastih kontinualnih presa, čiji kapaciteti mogu biti i po 10 t (Sójka i sar., 2015), a prinos se može kretati u opsegu od 78-83% i zavisi od primjenjenog predtretmana (temperatura, enzimski preparat) i procesnih parametara (Levaj i sar., 2012). Pri svakom proizvodnom ciklusu čiji kapacitet je 10 t, nastane oko 2 t tropa koji ne nalazi svoju primenu u daljoj preradi. Prinos kaše od šljiva kreće se u intervalu od 80-85% pri proizvodnji kašastih koncentrata, dok ostatak predstavlja biootpad (Niketić-Aleksić, 1988). Takav biootpad je visokovredan i mora naći svoju svrhu, te se u ovoj doktorskoj disertaciji teži primeni istog kroz razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive.

2.3. Funkcionalna hrana

Funkcionalna hrana predstavlja „koncept“ i ne može se objasniti kroz jedinstvenu definiciju, niti se funkcionalni proizvodi mogu obuhvatiti kao izdvojena klasa prehrambenih proizvoda. Ipak, funkcionalne namirnice prožimaju sve grupe prehrambenih proizvoda, te se danas razvijaju u skoro svim kategorijama hrane (Kotilainen i sar., 2006). Razlikovanje funkcionalne hrane od suplemenata u ishrani ili leka na bazi bilja je izrazito teško, a tome potpomaže i kulturna različitost širom sveta i način na koji se percipira ova vrsta hrane (Kotilainen i sar., 2006). Koncept funkcionalne hrane datira iz Japana, kada je vlada te zemlje imala težnju da umanji troškove zdravstva i produži životni vek svojoj populaciji kroz smanjenje negativnog uticaja zapadnjačkog načina ishrane na život tradicionalnih Japanaca (pojava gojaznosti, dijabetesa, povиšenog krvnog pritiska). Ministarstvo zdravlja Japana je 1991. osnovalo regulatorni sistem i donelo zakon o funkcionalnoj hrani FOSHU (eng. Food for Specified Health Use) - „Hrana za specifične zdravstvene potrebe“. FOSHU hrana poseduje zdravstvene pogodnosti prethodno potvrđene kliničkim studijama, a ukupan broj odobrenih proizvoda sa FOSHU žigom je do 2019. godine bio 1063 (Iwatani i Yamamoto, 2019).

U mnoštву definicija o funkcionalnoj hrani koje postoje u literaturi, Bigliardi i Galati (2013) ukazali su na tri koncepta koji prožimaju sve definicije, a to su nutritivna funkcionalnost, zdravstveni aspekt funkcionalne hrane i tehnološki proces kao osnov funkcionalne hrane. Ti koncepti mogu pojedinačno i/ili u kombinaciji opsati funkcionalnu hranu, gde se prva dva koncepta odnose na korisna svojstva ovakve hrane sa nutritivnog i zdravstvenog stanovišta. Treći koncept odnosi se na primenu tehnološkog procesa u cilju obogaćivanja i poboljšavanja hrane ili uklanjanja komponenti/alergena koji su štetni za potrošača. Glavne uloge u fazi istraživanja i razvoja funkcionalne hrane imaju prehrambeni tehnolog, nutricionista i specijalista upoznat sa zdravstvenim aspektima koje takva hrana ispoljava (povoljna zdravstvena svojstva, fiziološki markeri, patogeni mehanizmi) (Bigliardi i Galati, 2013).

Konvencionalna hrana zadovoljava osnovne nutritivne (vitamini, minerali, energija lipida, proteina i ugljenih hidrata), hedonističke i senzorske potrebe organizma, dok funkcionalna hrana pored nutritivnog efekta ispoljava i fiziološku funkciju u organizmu (Alamgir, 2017; Bigliardi i Galati, 2013). Funkcionalna hrana je zdravstveno korisna i mimo zadovoljavanja osnovnih potreba za esencijalnim mikro i makronutrijentima prilikom uobičajenog konzumiranja namirnice (Hasler, 2002). Funkcionalna hrana mora ostati u formi hrane i činiti deo raznovrsne svakodnevne ishrane, te njeni funkcionalni sastojci (jedinjenja, mikronutrijenti) moraju ispoljiti povoljan efekat na organizam kroz uobičajeno konzumiranje hrane, a ne kroz

konzumiranje u formi kapsula ili pilula (Alamgir, 2017). Sa druge strane, pojedine kulture u ovu klasu hrane uključuju i proizvode u obliku kapsula ili ekstrakata, koji bi bili klasifikovani kao suplementi u ishrani ili lekovi (Kotilainen i sar., 2006). Prema izveštaju Evropske komisije za usaglašavanje aktivnosti u oblasti nauke o funkcionalnoj hrani u Evropi (*eng. The European Commision's Concerted Action on Functional Food Science in Europe, FUFOSE*), hrana se može smatrati funkcionalnom ako pogodno utiče na bar jednu funkciju u organizmu, na primer poboljšava mentalno i fizičko zdravlje i opšte stanje organizma, umanjuje rizik od nastanka bolesti (Menrad, 2003; Majerska i sar., 2019).

Većina zdravstvenih izjava u FOSHU regulativama odnosi se na poboljšanje gastrointestinalnih funkcija (primenom probiotskih laktobacila, prehrambenih vlakana i oligosaharda), kao i na izjave u vezi sa primenom funkcionalne hrane u cilju redukcije triglicerida i LDL-holesterola, kontroli povišenog šećera i krvnog pritiska. U SAD-u je 2015. godine došlo do razvoja novog, fleksibilnijeg sistema u odnosu na FOSHU. Tada je Američka kancelarija za dijetetske proizvode (*eng. Dietary Supplement Health and Education Act*) predstavila novi regulatorni sistem „Foods with Function Claims“ (hrana sa izjavavama o funkciji). Razlika u odnosu na FOSHU postojala je u protokolima za sprovođenje kliničkih studija, kao i fleksibilnijim zakonskim zahtevima koje je potrebno ispuniti da bi proizvod dobio status funkcionalnog proizvoda. Glavne zdravstvene izjave u novom regulatornom sistemu bile su povezane sa funkcijama u organizmu (umor, pamćenje, stres, san, cirkulacija, telesna temperatura, indeks telesne mase, funkcije zglobova, očiju, mišića, jetre i dr.) (Iwatani i Yamamoto, 2019).

Funkcionalni proizvodi su lansirani u mnogim grupama prehrambenih proizvoda, a najviše u sektoru mlečne, konditorske, pekarske industrije, kao i u proizvodnji hrane za bebe i bezalkoholnih pića (Menrad, 2003).

Pored podele funkcionalne hrane prema funkciji koju ima u organizmu, vrsti hrane u kojoj se ispoljava blagotvorno dejstvo, jedna od podela je na osnovu načina na koji je postignuta funkcionalnost. Razlikuju se prirodni proizvodi, proizvodi povećane vrednosti, obogaćeni proizvodi, izmenjeni proizvodi i unapređena hrana ili sirovine (slika 2).

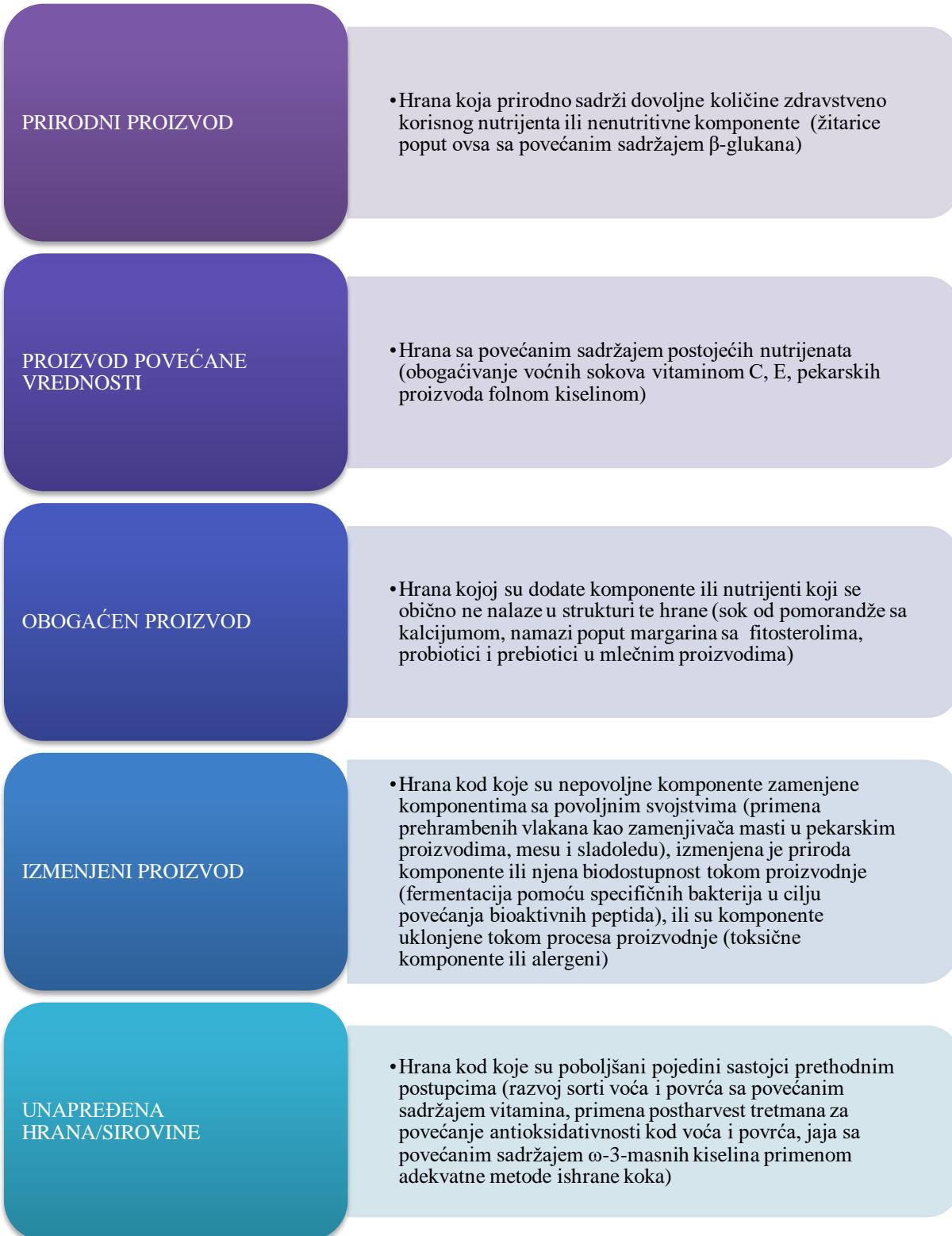
S obzirom da funkcionalna hrana predstavlja „sivu zonu“ između konvencionalne hrane i lekova, ta vrsta proizvoda u mnogim zemljama nije zakonski regulisana (Kotilainen i sar., 2006). Sa druge strane, zemlje koje su pristupile rešavanju ovog pitanja dovele su do nastanka vrlo heterogenih regulativa na globalnom nivou, zbog neusaglašenosti u pogledu klasifikacije proizvoda i različitih pogleda na potrebnu količinu naučnih dokaza koje potvrđuju funkcionalnost (Verschuren, 2002). Obično se svi pravilnici i zakoni baziraju na obezbeđenju zdravstvene bezbednosti proizvoda, te je tako nužno i da funkcionalna hrana isprati takve zahteve (Kotilainen i sar., 2006; Hasler, 2002). Odobrene zdravstvene izjave moraju se zasnivati na nauci, ponekad uključuju sprovođenje kliničkih studija, a sama uloga takvih proizvoda u ishrani čoveka mora biti jasna (Kotilainen i sar., 2006).

Razlike u zakonskom regulisanju funkcionalne hrane u odnosu na konvencionalnu ogledaju se u načinu deklarisanja. Tako proizvođač u Japanu ili Kini mora da dobije odobrenje kako bi se na njegovom proizvodu pronašla oznaka „funkcionalna hrana“, dok u EU i SAD podatak o funkcionalnosti hrane dolazi do potrošača putem zdravstvene izjave ili izjava u vezi sa funkcionalnošću nutrijenta (kada su ispunjeni određeni uslovi). Deklarisanje je glavni korak na putu do uspešnog plasiranja funkcionalne hrane na tržište, s obzirom da zdravstvena pogodnost takve namirnice često nije očigledna za potrošača pri kupovini, konzumiranju, a često i nakon samog konzumiranja. Neophodno je sprečiti prevaru potrošača sa aspekta pogrešnog

informisanja na deklaraciji proizvoda, a sa druge strane strogo regulisanje nije povoljno za prehrambenu industriju i često može ugroziti i otežati plasman proizvoda (Kotilainen i sar., 2006).

S obzirom na nedostatak jedinstvene definicije funkcionalne hrane, neuniformnosti pri klasifikovanju proizvoda, vrlo je teško proceniti vrednost tržišta funkcionalne hrane. Globalno tržište funkcionalne hrane 2013. godine vredelo je 168 milijardi dolara (Santeramo i sar., 2018), a procenjeno je na 300 milijardi do 2020. Sa druge strane, prema Iwatani i Yamamoto (2019) svetsko tržište funkcionalne hrane vredelo je oko 8 milijardi dolara 2018. godine.

Kontinuirano se povećava potreba razvijenih zemalja za funkcionalnom hranom na tržištu što se odražava na razvoj ove oblasti. Istovremeno, otvara se mogućnost izvoza funkcionalne hrane iz zemalja u razvoju (Kotilainen i sar., 2006). Kreiranje funkcionalne hrane preuzima primat u prehrambenoj industriji, dok kompetitivnost na tržištu podstiče implementaciju novih ideja i dostignuća (Hasler, 2002). Inovacije u oblasti funkcionalne hrane zasnivaju se na novim funkcionalnim komponentama (bilo da je reč o komponentama čije prisustvo nije bilo poznato u hrani ili komponentama sa novootkrivenim funkcionalnim osobinama) ili specijalizovanim tehnologijama proizvodnje (Kotilainen i sar., 2006). Funkcionalni sastojci i fitohemikalije se mogu dodati u proizvod u različitim formama u svežem ili sušenom stanju, kao ekstrakati i dr. Često je izazovno pronaći najedakvatniji način primene funkcionalnih sastojaka, s obzirom da je potrebno da proizvod bude funkcionalan i istovremeno senzorno prihvatljiv.



Slika 2. Podela funkcionalne hrane prema načinu na koji je postignuta funkcionalnost (Bigliardi and Galati 2013; Kaur i Das, 2011; Spence, 2006; Kotilainen i sar., 2006).

2.3.1. Iskorišćenje sporednih proizvoda iz prerade voća i povrća

Prilikom industrijske prerade voća i povrća generiše se 10-35% biootpada u formi tropa (Majerska i sar., 2019). Biootpad se obično deponije ili spaljuje, s obzirom na to da velike količine predstavljaju ekološke hazarde, a sa druge strane poznato je i iskorišćenje takvog materijala kao komponente komposta, u proizvodnji stočne hrane, alkoholnih pića i gaziranih sokova (Majerska i sar., 2019). Jedan od primera komercijalizacije biootpada je primena tropa nastalog u proizvodnji soka od jabuke i citrusa, koji se koristi za dobijanje pektina ili citrusnih baza (Niketić-Aleksić, 1988). Pektini iz kore limuna i tropa jabuke koriste se kao prirodni sastojci u hrani, pošto poseduju želirajuća, stabilizujuća i zgušnjavajuća svojstva (Kosmala i sar., 2013). Uprkos velikoj vrednosti tropa/pokožice dobijenog iz drugih izvora voća i povrća, ta vrsta sirovina nije našla šиру primenu niti u industriji, niti u njenoj grani, prehrambenoj industriji.

Danas su težnje naučne zajednice usmerene na podrobnije ispitivanje biootpada iz različitih prirodnih izvora u cilju njihove valorizacije, eksploracije i pronalaženja novih namena. Istraživači ulažu velike napore u pravcu karakterizacija biootpada iz prerade voća i povrća i ispitivanje njihovih funkcionalnih svojstava (Tumbas-Šaponjac i sar., 2016; Ćetković i sar., 2012). Upoznajući hemijski sastav i funkcionalni potencijal nusproizvoda, često takvi proizvodi postaju okarakterisani kao novi izvori funkcionalnih komponenti, a time prolaze put transformisanja iz statusa sporednog proizvoda do potencijalno nove sirovine za prerađivačku industriju. Težnja za zdravim načinom života i informisanost potrošača nameću nove zahteve tržištima, te se sve više favorizuje proizvodnja „prirodne“ hrane bez sintetskih aditiva i/ili sa funkcionalnim svojstvima (Majerska i sar., 2019). Time se javlja sve veća konkurentnost među kompanijama i otvaraju se nove prilike za primenu visokovrednih sporednih materijala iz prerade voća i povrća u budućnosti.

Dodatno povećanje koncentracije funkcionalnih sastojaka u sastavu proizvoda moguće je postići povećanjem udela anatomskega delova ploda koji sadrže veće količine tih sastojaka (u adekvatnim oblicima). Trop se može uključiti kao jeftin i nutritivno vredan sastojak u proizvodnju različitih prehrambenih proizvoda: mlečnih proizvoda, mesnih prerađevina, slatkiša, prerađevina od voća i povrća (džemovi, marmelade, sokovi), alkoholnih pića i dr. Sporedni proizvodi iz prerade voća i povrća (grožđe, višnja, šljiva, kivi, citrusi, šargarepa, paradajz) mogu se koristiti kao prirodni aditivi u proizvodnji hrane i ponašati se kao prirodni konzervans, aroma, boja, agens sa bakteriostatskim dejstvima, ili nutriceutik (hrana kao lek) (Majerska i sar., 2019). Integriranje ekstrakata tropa iz prerade voća i povrća u nove proizvode može dodatno povećati sadržaj bioaktivnih komponenti (poput polifenola), vitamina, mikro i makronutrijenata, prehrambenih vlakana u namirnici. Od pokožice šljive mogu se dobiti ekstrakti sa visokim koncentracijama polifenola (Sójka i sar., 2015). Karakterizacija pektina i vlakana ekstrahovanih iz tropa sporednih proizvoda takođe su načini valorizacije biljnog otpada iz prerade voća i povrća (Abid i sar., 2017; Swamy i Muthukumarappan, 2017; Jafari i sar., 2017; Raji i sar., 2017; Oliveira i sar., 2016; Jamsazzadeh Karmani i sar., 2015; Santos i sar., 2013; Inglesias i Lozano, 2004). Sporedni proizvodi u prerađi voća, povrća, žitarica ili algi su značajan izvor vlakana, te mogu da se koriste u proizvodima sa dodatom vrednošću. Iako se vlakna obično dobijaju iz žitarica, danas se u prehrambenoj industriji sve više primenjuju koncentrati prehrambenih vlakana dobijeni u procesu dehidratacije voća i povrća. U takvim koncentratima sadržaj prehrambenih vlakana može biti do 50%, a rastvorljiva frakcija je dominantnija (Garcia-Amezquita i sar., 2018). Sadržaj vlakana u pokožici može se kretati od 40 do 70%, u zavisnosti od porekla sirovine, tj. vrste voća, kao i procesa proizvodnje soka pri kom se izdvaja sporedni

proizvod (Kosmala i sar., 2013). Sirovine bogate vlaknima i bioaktivnim komponentama izrazito su važne u prehrambenom sektoru, pogotovo kada se uzme i obzir činjenica da su potrošači sve više zainteresovani za prirodne izvore takvih jedinjenja (Elleuch i sar., 2011). Vlakna iz različitih izvora (jabuka, bambus) mogu se dodati kao funkcionalni sastojci u voćne železe (Figueroa i Genovese, 2019). Pektini iz pokožice marakuje mogu imati ulogu nosača probiotika u pićima, te pogodovati konzumentima intolerantnim na mlečne alergene (laktozu) s obzirom da su fermentisani mlečni proizvodi neophodni u ishrani i kod te grupe potrošača (Santos i sar., 2017).

Saznanja potrošača o potencijalno terapeutskim ulogama prehrambenih vlakana u organizmu su poslednjih godina pokrenula pronalaženje novih izvora ovih jedinjenja i njihovo uključenje u strukturu različitih namirnica (Rosell i sar., 2009).

Prerada šljive do soka vodi nastanku sporednog proizvoda sa obećavajućim funkcionalnim potencijalom u pogledu sadržaja dijetnih vlakana i fenola (dominatno među ostalim bioaktivnim molekulima), što je podrobnije objašnjeno u narednim poglavljima ove doktorske disertacije.

2.3.2. Funkcionalni potencijal tropa šljive

Trop šljive koji je sačinjen od pokožice (egzokrapa) ploda šljive, izučavan je od strane pojedinih autora kao izvor brojnih funkcionalnih sastojaka i fitohemikalija (prehrambena vlakna, polifenolna jedinjenja i dr.) (Sójka i sar., 2015; Milala i sar., 2013), ali je minimalno iskorišćen kao sekundarna sirovina u novim proizvodima. Ekstrati dobijeni od industrijski prozvedenog tropa šljive pokazali su visok sadržaj fenola i antibakterijsko delovanje protiv bakterija (*Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* O157:H7) (Sójka i sar., 2015).

Prisustvo antocijana, prirodnih pigmenata, u pokožici šljive sa tamnjom bojom plodova ukazuje na mogućnost primene pokožice kao prirodnih bojenih materija u hrani (Banaš i sar., 2018; Basanta i sar., 2018; Tumbas-Šaponjac i sar., 2016). Pokožicu šljive karakteriše visok deo ukupnih prehrambenih vlakana (Kosmala i sar., 2013; Milala i sar., 2013). Sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u osušenoj pokožici nekih sorti šljive dostiže čak 49% ukupne suve materije, od čega 13% čini rastvorljiva frakcija vlakana (Milala i sar., 2013). Odnos rastvorljive frakcije i ukupnih vlakana u pokožici šljive zavisi, kao i kod samog ploda, od sorte, te se tako kreće od 13 do 22% u istraživanjima Kosmala i i sar. (2013). Biljni materijali bogati prirodnim vlknima koriste se u funkcionalnoj hrani (Figueroa i Genovese, 2019; Banaš i sar., 2018). Kosmala i sar. (2013) ističu da je uprkos gubicima rastvorljive frakcije pektinskih materija pri dejstvu pektolitičkih enzima tokom prerade do soka, pokožica šljive i dalje jedan od potencijalnih izvora tih jedinjenja. Mada je kapacitet vezivanja vode pokožice manji u poređenju sa plodom šljive, ipak je dovoljan sa aspekta njene primene kao sastojka u hrani (kapacitet vezivanja vode veći od 5,5 g/g) (Kosmala i sar., 2013).

Basanta i sar. (2018) koristili su mikročestice od pokožice šljive kao prirodni aditiv sa antioksidativnim svojstvom u paštetama od pilećeg mesa. Pri tome su pokazali da pokožica šljive može biti korišćena kao prirodni konzervans u mesnim proizvodima i doprineti produženju roka trajnosti istog. Mogućnost primene tropa/pokožice nastalog tokom prerade voća i povrća kao sastojka novih proizvoda na bazi voća poput džemova, maremelada, želea, izučavana je od strane nekih grupa autora u prethodnom periodu (Abid i sar., 2018; Belović i sar., 2017). Zato se u ovoj disertaciji teži proizvodnji voćnog proizvoda obogaćenog tropom od šljive kao funkcionalnim dodatkom, koji je primenjen u adekvatnoj formi.

2.4. Nutritivni sastav, fitohemikalije ploda i pregled funkcionalnih biokomponenti u pokožici šljive

Šljiva ima značajnu ulogu u zdravoj i izbalansiranoj ishrani. Predstavlja izvor prostih šećera (glukoza, fruktoza, saharoza, sorbitol) (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001), organskih kiselina (jabučna, cílibarna, limunska kiselina), prehrambenih vlakana, minerala i fitohemikalija sa bioaktivnim svojstvima (dominantno fenolne prirode). Prosečan nutritivni sastav ploda sveže šljive prema podacima USDA (eng. United States Department of Agriculture), prikazan je u Tabeli 1.

Sadržaj šećera u šljivi zavisi od sorte *P.domestica* L. i faze zrelosti plodova, a kreće se od 9,63-29,47% (refraktometrijski) u uzorku od 178 različitih sorti šljive (Sahamishirazi i sar., 2017). Ukupni šećeri u sortama sa podneblja Srbije kreću se u intervalu od 6,09 do 17,43 g/100 g šljiva u istraživanjima Tomić i i sar. (2019). Sorte koje pogoduju sušenju imaju dvostruko veće količine šećera u odnosu na ostale sorte (Wills i sar., 1983), a mogu se kretati u opsegu od 12,8-29,0 g/100 g (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Pored uslovljenosti genotipom, sadržaj šećera zavisi i od klimatskih uslova i primenjenih agrotehničkih mera. Tokom sazrevanja na drvetu, u poslednjem mesecu sazrevanja do momenta kada plodovi samostalno otpadnu sa stabla, sadržaj saharoze se poveća sa 2,1 do 14,0 g/100 ml soka, dok su sadržaji redukujućih šećera (glukoze i fruktoze) stabilniji tokom tog perioda (6-10 g/100 ml) (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Nutritivno vredni prosti šećeri čine šljivu izvorom energije, a Stacewicz-Sapuntzakis i sar. (2001) ističu da pri konzumiranju ovog voća usled prisustva vlakana, sorbitola, hlorogenske i neohlorogenske kiseline, koje usporavaju apsorpciju glukoze, koncentracija šećera u krvi ne raste naglo. Monosaharidi, fruktoza i glukoza su najdominantni šećeri u šljivama, dok su disaharid saharoze i šećerni alkohol sorbitol prisutni u nižim koncentracijama (Tomić i sar., 2019). Kod sorti za sušenje sadržaj glukoze, fruktoze, saharoze i sorbitola je u proseku oko: 6,1; 3,4; 4,5 i 5,4 g/100 g šljiva (redom) (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Nove srpske sorte kao što su Petra i Divna, pored fruktoze, u višim koncentracijama sadrže i sorbitol (5,85 i 5,23 g/100 g šljiva) i do tri puta veći od sadržaja u standardnoj sorti, Stanley. Sorbitol ima nizak glikemijski indeks zbog čega namirnice sa glukozom bogate tim šećernim alkoholom pogoduju dijabetičarima. Pored pozitivnog uticaja sa aspekta metabolizma glukoze, sorbitol ispoljava laksativnu funkciju (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001) i indukuje proizvodnju intestinalne mikroflore koja utiče na povećanje kiselosti (Kosmala i sar., 2013; Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Šećerni alkoholi sorbitol i ksilitol u svojoj građi sadrže hidroksilne grupe podložne hidrataciji. Usled hidratacije molekula sorbitola i ksilitola, dolazi do njihovog bubrenja u intestinalnom traktu, čime se ispoljava laksativno dejstvo šljiva u organizmu (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001).

Šećeri, kao i odnos šećera i kiselina, značajni su za formiranje ukusa i arome voća (Tomić i sar., 2019, Wills i sar., 1983). Slast plodova nije određena uvek visokim sadržajem šećera, već takve plodove karakteriše i niži nivo organskih kiselina, posebno jabučne kiseline (Petkovsek i sar., 2007). U šljivama se ukupne kiseline mogu kretati od 14-27 g/kg prema istraživanjima Wills i sar. (1983), dok su u našim sortama u intervalima od 8,9 do 24,7 g/kg (Tomić i sar., 2019). Jabučna kiselina čini 75-93% ukupnih kiselina u plodovima šljive (Wills i sar., 1983). Pored jabučne, prisutne su hinska, šikimska i mravlja kiselina, ali su njihovi udeli značajno niži (Tomić i sar., 2019).

Tabela 1. Nutritivni sastav ploda sveže šljive (<https://fdc.nal.usda.gov>)

Nutrijent	Količina na 100 g
Osnovni nutritivni sastav	
Voda	87,23 g
Energetska vrednost	46 kcal
Proteini	0,7 g
Ukupne masti	0,28 g
Ukupni ugljeni hidrati	11,42 g
Ukupna prehrambena vlakna	1,4 g
Ukupni šećeri	9,92 g
Minerali	
Kalcijum, Ca	6 mg
Gvožđe, Fe	0,17 mg
Magnezijum, Mg	7 mg
Fosfor, P	16 mg
Kalijum, K	157 mg
Cink, Zn	0,1 mg
Bakar, Cu	0,057 mg
Vitamini	
Vitamin C (ukupna askorbinska kiselina)	9,5 mg
Tiamin	0,028 mg
Riboflavin	0,026 mg
Niacin	0,417 mg
Vitamin B ₆	0,029 mg
Folati	5 µg
Holin	1,9 mg
Vitamin A	17 µg RAE
β-karoten	190 µg
β-kriptoksanthin	35 µg
Lutein + zeaksantin	73 µg
Vitamin E (α-tokoferol)	0,26 mg
Vitamin K (filohinon)	6,4 µg
Profil masnih kiselina	
Zasićene masne kiseline	0,017 g
Nezasićene masne kiseline	0,134 g
Polinezasićene masne kiseline	0,044 g

RAE (Retinol Activity Equivalents) - ekvivalenti aktivnosti retinola

Šljive su bogate mineralima i vitaminima, kao što je prikazano u tabeli 1, a među mineralima kalijum je najdominantniji. Kalijum u šljivama je jedan od faktora pozitivnog dejstva na kardiovaskularni sistem, dok se bor smatra agensom u borbi protiv osteoporoze (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Bakar, bor i kalcijum u sušenim šljivama značajni su za razvoj kostiju kod ljudi (Dikeman i sar., 2004).

2.4.1. Fenolne komponente

Biljke su sposobne da sintetišu mnoštvo organskih molekula/fitohemikalija, koji se nazivaju sekundarni metaboliti (Stalikas, 2007). Fenolna jedinjenja spadaju u sekundarne metabolite, imaju fiziološku funkciju i štite biljku od negativnog dejstva radijacije i spoljašnjih uticaja i povreda. Pored antioksidativnog karaktera koji ispoljavaju u biljkama (protiv slobodnih radikala nastalih tokom fotosinteze), fenoli imaju i antibakterijsko, antigeljivično i antiparazitsko dejstvo, sprečavaju aktivnost insekata i heliraju toksične metale (Willems i sar., 2016; Nile i Park, 2014). Značajni su za rast i razvoj voća i povrća, a kora i pokožica voća i povrća je bogatija tim jedinjenjima s obzirom da je izloženija dejству spoljašnjih faktora (Sun i sar., 2002).

Fenolna jedinjenja su široko rasprostranjena u hrani (voće, povrće, žitarice, masline, mahunarke, čokolada, itd.) i piću (kafa, čaj, pivo, vino), i sastavni su deo ljudske ishrane (Dai i Mumper, 2010). Odgovorna su za organolojničke karakteristike biljne hrane. Fenoli doprinose gorčini i oporosti voća i voćnih sokova usled reakcije koja se odvija između fenola (uglavnom procijanidina) i glikoproteina u pljuvački (Dai i Mumper, 2010). Ponašaju se i kao funkcionalni agensi u hrani, prirodni antioksidanti koji štite osetljive makromolekule (polinezasičene masne kiseline) od oštećenja izazvanih aktivnošću slobodnih radikala. Zato se fenolnim jedinjenjima može pripisati karakter prirodnih konzervanasa u hrani. Antioksidativni kapacitet voća uglavnom potiče od prisutnih fenolnih kiselina i flavonoida (Rupasinghe i sar., 2006; Cao i sar., 1997). Fenoli iz voća imaju zaštitnu antioksidativnu ulogu u borbi protiv slobodnih radikala u ljudskom organizmu koji uzrokuju oksidativna oštećenja proteina, lipida i nukleinskih kiselina, usled čega dolazi do razvoja hroničnih oboljenja kao što su kancer i kardiovaskularna oboljenja (Pérez-Jiménez i Torres, 2011; Chun i sar., 2003; Kris-Etherton i sar., 2002).

Hemijska struktura utiče na biodostupnost, metabolizam i bioaktivnost fenolnih jedinjenja. Osnovna jedinica građe prirodnih fenola je aromatični prsten sa jednom hidroksilnom grupom (fenol), a u zavisnosti od broja prstenova, grubo se klasifikuju na proste fenole i polifenole (Stalikas, 2007). Strukturna različitost je uslovljena i mnogim drugim faktorima: broj hidroksilnih i metoksilnih grupa, sposobnost javljanja u formi stereoizomera, stepen glikolizacije šećerima, stepen polimerizacije do složenijih formi i dr. (Nile i Park, 2014; Dai i Mumper, 2010). Termin „biljni fenoli“ odnosi se na široku klasu jedinjenja koja broji oko 8000 jedinjenja, a uključuje fenolne kiseline (proste fenole), kumarine, flavonoide, hidrolizujuće i kondenzovane tanine, a redje se javljaju stilbeni i lignani (Dai i Mumper, 2010; Stalikas, 2007). Hidrolizujući tanini su komponente koje u centralnom delu molekula sadrže glukozu (ili drugi poliol) esterifikovanu galnom kiselinom (galotanini) ili heksahidroksidifenilnom kiselinom (elagitanini), dok su kondenzovani tanini oligomeri ili polimeri flavan-3-ola (Dai i Mumper, 2010).

Većina istraživanja fenola bazira se na komponentama dobijenim u supernatantu pomoću vodeno-organskih rastvarača, a takvi fenoli se nazivaju ekstrahujući (flavonoidi, fenolne kiseline, stilbeni, lignani). Međutim, u reziduima nakon ekstrakcije ostaju neestrahujće komponente poput proantocijanidina, hidrolizujućih tanina, nerastvorljivih fenolnih kiselina (Pérez-Jiménez i Torres, 2011). Takve neekstrahujuće fenolne komponente obično su čvrsto vezane za ugljene hidrate i proteine, a biološki su izrazito važne jer se oslobođaju dejstvom enzima i intestinalne mikroflore iz hrane u digestivnom traktu čoveka (Pérez-Jiménez i sar., 2008).

Fenolne komponente u šljivi

Koncentracija fenolnih komponenti u šljivi zavisi od sorte, vremenskih uslova, geografskog porekla, primjenjenih agrotehničkih mera i primjenjene analitičke metode za njihovo određivanje (Chun i sar., 2003). Šljive se smatraju dobrom izvorom antioksidanasa koji su neophodni ljudskom organizmu (Díaz-Mula i sar., 2011). Dokazana je snažna korelacija između fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti u šljivama (Gil i sar., 2002), a prema nekim grupama autora najznačajniji antioksidansi u šljivi su fenolne kiseline i flavonoidi (dominantno antocijani) (Ozturk i sar., 2012; Cevallos-Casals i sar., 2006; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a). Sa druge strane, dokazano je da neekstrahujući fenoli (neestrahujući proantocijadini i kondenzovani tanini) doprinose više od 80% ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti pojedinačnih sorti šljiva (Hanita, Stanley, Valor, Tophit), dok ostali ekstrahujući fenoli manje od 18%, zbog čega Kristl i sar. (2011) ističu da je antioksidativna aktivnost šljiva potcenjena u prethodnim istraživanjima. Pored uobičajeno korišćene ekstrakcije hidrofilnim rastvaračima (Sahamishirazi et sar., 2017), dokazano je da se u lipofilnoj frakaciji (pored fenola) nalaze i komponente poput karotenoida (criptoksanthin, zeaksantin i lutein) (Jayasankar i sar., 2016), koji takođe povećavaju antioksidativnost šljiva (uključujući i sorte sa crvenom bojom pokožice) (Díaz-Mula i sar., 2011). Samostalno ili sinergistično dejstvo fitohemikalija (fenola, karotenoida, vitamina i dr.) i minerala u plodu šljive efikasni su u borbi protiv gojaznosti, dijabetesa, osteoporoze, kardiovaskularnih oboljenja, kao i kod nekih tipova kancera (kancer dojke) (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2013; Hooshmand i Arjmandi, 2009).

Sahamishirazi i sar. (2017) pokazali su da se sadržaj fenola u 178 sorte šljiva (*Prunus domestica* L.) kreće u opsegu od 38,45-841,51 mg ekvivalenta galne kiseline (EGK)/100 g šljiva. Chun i sar. (2003) odredili su sadržaje ukupnih fenola i flavonoida u 11 sorte *P. domestica* šljiva sa crvenom, tamnoljubičastom i žutom bojom egzokarpa (pokožice) ploda, 138,0-684,5 mg EGK/100 g šljiva i 59,3-366,0 mg ekvalenata katehina (EK)/100 g šljiva. Posmatrajući distribuciju fenola u plodu šljive, koncentracija je 2-5 puta veća u pokožici nego u mesu ploda (Díaz-Mula i sar., 2009; Raynal i sar., 1989), a često je intenzitet boje pokožice određen njihovim sadržajem (Rupasinghe i sar., 2006). Šljive ljubičaste boje sadrže više fenola u poređenju sa žuto-ljubičastim i žutim sortama, i to po opadajućem redosledu (Sahamishirazi i sar., 2017). Prethodno je dokazano da je koncentracija fenola u pokožici crvenoljubičastih šljiva veća u poređenju sa žutim šljivama, dok sadržaj fenola u mesu šljiva nije u funkciji od boje ploda (Díaz-Mula i sar., 2009).

Fenolne kiseline u svojoj strukturi sadrže karboksilnu grupu kao funkcionalnu grupu, a prema strukturi se dele na hidroksibenzoeve i hidroksicimetne kiseline (Stalikas, 2007). U biljkama su dominantne hidroksicimetne kiseline, i to najčešće derivati kiseline (Mubarak i sar., 2012). Hemijska struktura hidroksicimetnih kiselina prikazana je na slici 3. Kafena kiselina je glavni predstavnik tih jedinjenja i u hrani se obično javlja u formi estara sa hininskom kiselinom (hlorogenska kiselina) (Olthof i sar., 2001; Kono i sar., 1997).

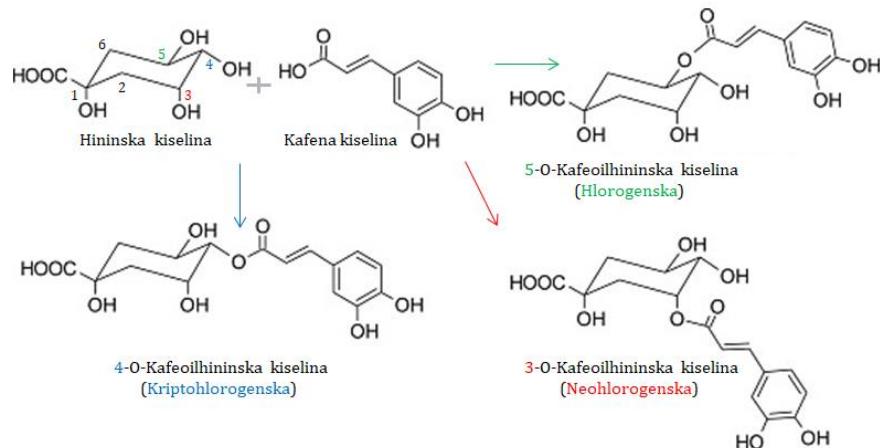
Fenolne kiseline u šljivama su obično u obliku nekog od izomera kafeolihininske kiseline (hlorogenska ili 5-O-kafeoilihininska kiselina, neohlorogenska ili 3-O-kafeoilihininska kiselina i criptohlorogenska ili 4-O-kafeoilihininska kiselina) (slika 4) (Sójka i sar., 2015; Chun i sar., 2003). Pored hlorogenskih kiselina, prisutne su značajne količine *p*-kumaroilihininskih kiselina (Sójka i sar., 2015), 3-feruoilihininske kiseline i 3-kafeoilšikiminske kiseline (Tomić i sar., 2019;

Sójka i sar., 2015). Glavni fenol sorte Black Amber je hlorogenska kiselina, dok su ferulna, kafena i *p*-kumarinska kiselina prisutne u nižim koncentracijama (Ozturk i sar., 2012).

Hidroksicimetne kiseline	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
Cimetna	H	H	H	H	
<i>o</i> -kumarinska	OH	H	H	H	
<i>m</i> -kumarna	H	OH	H	H	
<i>p</i> -kumarinska	H	H	OH	H	
Ferulna	H	OCH ₃	OH	H	
Sinapinska	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	
Kafena	H	OH	OH	H	

Slika 3. Hemijska struktura hidroksicimetnih kiselina
(prilagođeno iz Stalikas i sar., 2007)

Kao dominantnu hidroksicimetnu kiselinu u svežim šljivama neke grupe autora ističu izomer hlorogenske kiseline, neohlorogensku kiselinu (Chang i sar., 2016; Sójka i sar., 2015; Kristl i sar., 2011; Usenik i sar., 2008; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a; Tomás-Barberán i sar., 2001; Raynal i sar., 1989). Neohlorogenska kiselina preovladava u sortama šljiva sa srpskog podneblja, sa maksimalnim koncentracijama kod sorti Pozna Plava i Crvena Ranka (23,21 i 23,26 mg/100 g) (Tomić i sar., 2019).

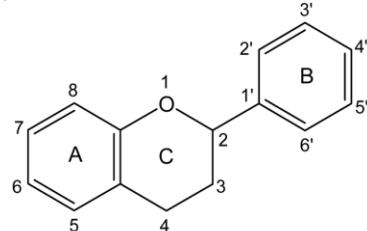


Slika 4. Hemijska struktura kafene kiseline i njenih derivata prisutnih u šljivi (prilagođeno iz Willemse i sar., 2016)

Flavonoidi, najznačajnija podgrupa fenola, sintetišu se iz aromatičnih kiselina, fenilalanina, tirozina i malonata (Harborne i sar., 1986), a akumuliraju se u hloroplastu biljaka (Dóka i sar., 2011). Imaju ulogu u redukovanim oksidativnim oštećenjima, indukovanim UV-B radijacijom. S obzirom da pojedine klase mogu absorbovati svetlost iz vidljivog dela spektra, direktno učestvuju u formiranju boje različitih delova biljke (lista, plodova, korena itd.) (Murković, 2016). Osnovni skelet flavonoida se sastoji od C3-C6-C3 prstenova označenih kao A, B i C (slika 5). Polazeći od hemijske strukture, klasificuju se u šest podgrupa:

- flavoni (luteolin, apigenin, tangeritin);
- flavonoli (kvercetin, kamferol, miricetin, izoramnetin, pahipodol, ramnazin);

- flavanoni (hesperitin, naringenin, eriodiktiol);
- flavan-3-oli/flavanoli (catehini, galokatehin, catehin 3-galat, galokatehin 3-galat, epikatehini, epigalokatehini, epikatehin 3-galat, epigalokatehin 3-galat);
- izoflavoni (genistein, diazdein, glicitein);
- antocijandini (Tepić, 2012).



Slika 5. Osnovna hemijska struktura flavonoida

Glavni predstavnici flavonoida u šljivi su flavonoli, flavanoli i antocijani (Tomás-Barberán i sar., 2001).

Antocijani su flavonoidi koji su odgovorni za atraktivne boje u bilnjom carstvu. Daju boju većini cvetova, voća, povrća, peteljki, listova i korenju biljaka (crvenu do plave, kao i tamnoljubičaste tonove) (Fernandes i sar., 2014; Costa i sar., 2013; Lee i Hong, 1992). Boja voća zavisi od distribucije i količine antocijana u pokožici voća, a akumulacija je najveća upravo u tom anatomskom delu plodova (Cevallos-Casals i sar., 2006). Andersen i Jordheim (2005) navode da je iz biljaka izolovano i identifikovano 539 različitih antocijana.

Strukturno posmatrano antocijani su glikozidi antocijanidina, njihov skelet se bazira na flavilijum jonu koji je izgrađen od 3 prstena (slika 6), a najčešće se razlikuju po stepenu hidroksilacije i metilacije na B prstenu (Prior, 2003). U prirodi se nalazi 18 glikozida atocijanidina, a obično su izgrađeni od 6 antocijanidina (aglikoni antocijana) (pelargonidin, cijanidin, peonidin, delfnidin, petunidin i malvidin) (slika 6) (Fernandes i sar., 2014; Prior, 2003). Šećerne jedinice u glikozidima antocijanidina, tj. u strukturi antocijana su: glukoza, galaktoza, ramnoza i arabinosa. Šećer može biti mono- i disaharidne strukture (rutinoza). U voću su najzastupljeniji 3-O-monoglikozidi, dok su manje rasprostranjeni 3,5-O-diglikozidi (Fernandes i sar., 2014). Struktura antocijana može dalje biti usložena vezivanjem fenolnih ili alifatičnih kiselina za molekul. Vezivanjem sirčetne, kafene ili kumarne kiseline za šećernu komponentu nastaju tzv. acil-derivati (Mitić, 2011).

Antocijanidin	3'	5'
Delfnidin	OH	OH
Petunidin	OH	OCH ₃
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃
Cijanidin	OH	H
Peonidin	OCH ₃	H
Pelargonidin	H	H

Slika 6. Hemijska struktura antocijanidina

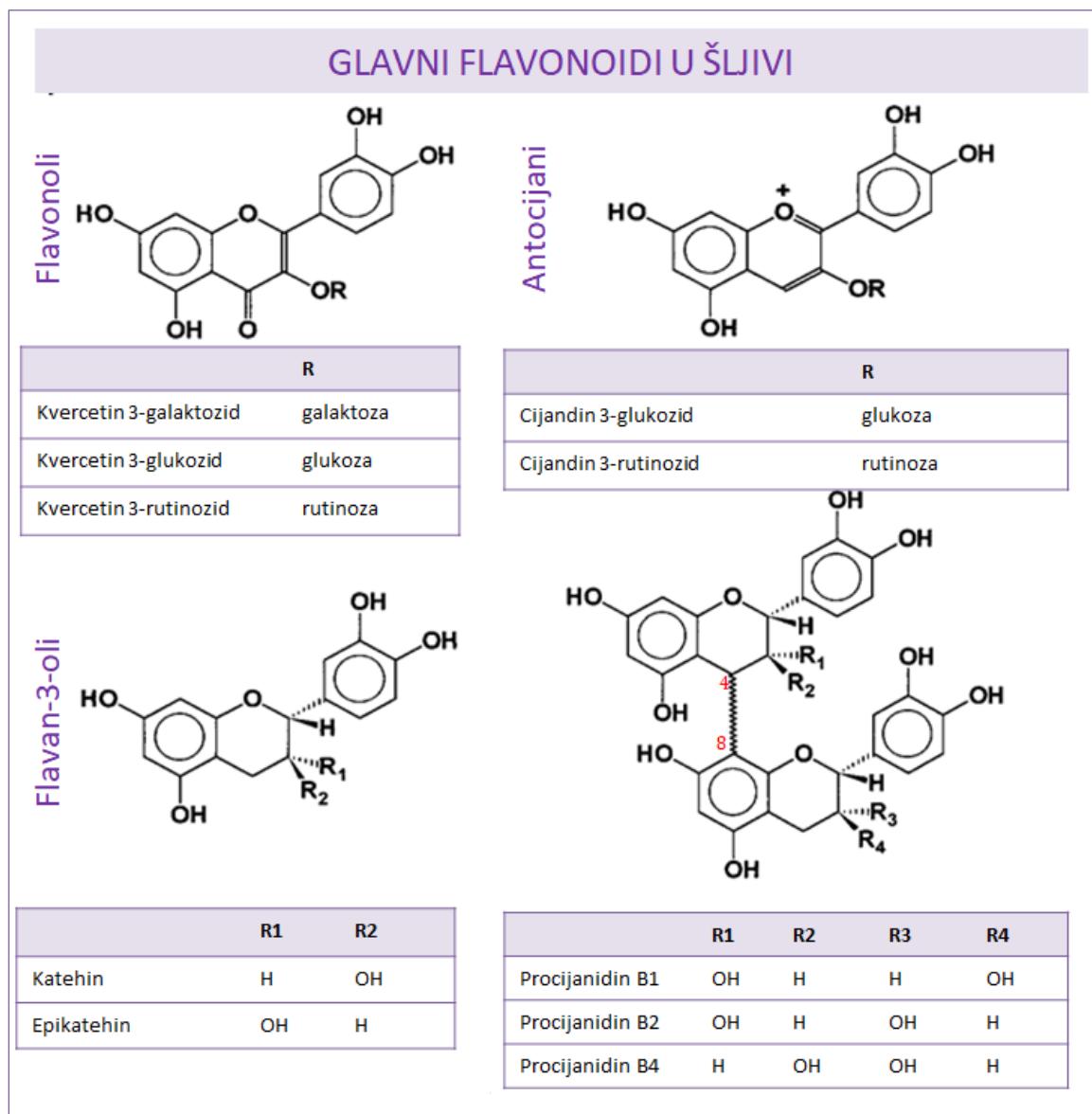
Antocijani su visoko reaktivna jedinjenja, zbog čega su osetljive prirode i skloni su degradacionim procesima. Kiseonik, temperatura, svetlost, enzimi i pH su glavni faktori koji

mogu narušiti hemijsku strukturu, što se može odraziti na njihovu stabilnost i boju. Mogu se degradirati u procesu obrade i proizvodnje hrane i tokom skladištenja. Boja antocijana u vodenom rastvoru zavisi od pH rastvora i uslovljena je ravnotežom koja se uspostavlja između 5 molekulskih formi (flavilijum katjon, karbinol baza, halkon, hinoidna baza i anjonska hinoidna baza) (Fernandes i sar., 2014).

U sprovedenoj studiji Tomić i i sar. (2019) u šljivama su identifikovani sledeći antocijani: cijanidin 3-rutinozid, cijanidin 3-glukozid, peonidin 3-glukozid, peonidin 3-rutinozid i cijanidin 3-ksilozid. Svih 11 sorti šljiva (izuzev sorte sa žutom pokožicom) izučavanih u studiji Chun i sar. (2003) sadržale su sledeće antocijane: cijanidin 3-glukozid, cijanidin 3-rutinozid, peonidin 3-glukozid i derivate peonidina. Najčešći antocijani u šljivama su cijanidin 3-glukozid i cijanidin 3-rutinozid (slika 7), a prema velikom broju istraživanja dominantniji je cijanidin 3-rutinozid (Tomić i sar., 2019; Slimestad i sar., 2009; Usenik i sar., 2008; Raynal i sar., 1989). U zavisnosti od boje 178 sorti šljiva, cijanidin 3-rutinozid se kretao u intervalima od 1,10-216,83 mg/100 g šljiva (Sahamishirazi i sar., 2017). U pokožici crveno ljubičastih sorti šljiva, nalazi se 20 do 40 puta veći sadržaj antocijana nego u mesu plodova (Díaz-Mula i sar., 2009). Koncentracija antocijana je veća u tkivu pokožice u ljubičastim sortama (Black Amber i Black Diamond imale se 4370 ± 180 i 1310 ± 100 mg/kg) nego u tkivu mesa ploda (34 ± 4 i 177 ± 7 mg/kg, za sorte Angeleno i Black Diamond) (Díaz-Mula i sar., 2009). Uprkos činjenici da ljubičaste sorte imaju najviše antocijana (Sahamishirazi i sar., 2017), kod nekih grupa autora nije nađena značajnija korelacija između individualnih antocijana ili grupe antocijana i hromatskih parametara kod plodova sa različitom bojom šljiva (Sahamishirazi i sar., 2017; Usenik i sar., 2009).

Flavonoli u šljivama javljaju se u formi glikozida (vezani za šećere). Kvercetin 3-glukozid, kvercetin 3-galaktozid, miricetin 3-ramnozid, kvercetin 3-ksilozid, kvercetin 3-rutinozid, kaemferol 3-glukozid i kvercetin 3-ramnozid, identifikovani su u 17 sorti šljiva u studiji Tomić i i sar. (2019). Glavni flavonol je kvercetin 3-rutinozid (rutin) (Kristl i sar., 2011; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003) uprkos činjenici da se nalazi u znatno nižim koncentracijama u poređenju sa ostalim polifenolima (1,0-8,3 mg/100 g) (slika 7) (Chun i sar., 2003). Kvercetin 3-glukozid i kvercetin 3-galaktozid su prisutni u nižim koncentracijama (slika 7) (Bobrich i sar., 2014).

Flavanoli (flavan-3-oli) su strukturno najsloženiji flavonoidi. Nalaze se u formi glikozida, vezani za šećere (mono-, di-, tri-glikozidi), obično za glukuzu (Tepić, 2012). Mogu se naći u obliku prostih monomera (+)-katehina i (-)-epikatehina, pa sve do složenijih oligomernih i polimernih oblika (proantocijandina), koji čine kondenzovane tanine (Tepić, 2012) (polikondenzovana jedinjenja velikih molekulskih masa). Najšire rasprostranjeni proantocijanidini u biljkama su procijanidini, koji su polimeri flavan-3-ol katehina ili epikatehina sa 2-12 monomernih jedinica (Rzeppa i sar., 2012). Flavan-3-oli su dominantne fenolne komponente u šljivama prema Tomić i i sar. (2019). Glavni derivati flavan-3-ola u šljivama su procijanidin dimeri (B1, B2, B4 i A-tipa) i trimeri (u manjim koncentracijama) (Tomić i sar., 2019; Nunes i sar., 2008a; Tomás-Barberán i sar., 2001), dok katehin i epikatehin nisu u značajnim količinama prisutni u šljivi, prema Tomás-Barberán i sar. (2001) (slika 7). U studiji Mubarak i sar. (2012) epikatehin je jedini flavan-3-ol detektovan u 5 od 30 sorti šljiva, dok katehin nije pronađen ni u jednoj. Procijanidini B tipa povezani su preko C4-C8 veze ili ponekad C4-C6 veze (slika 7). Sadržaji individualnih procijanidina su 2-10 puta veći u pokožici nego u mesu ploda (Tomás-Barberán i sar., 2001), a kao glavni derivat flavan-3-ola u šljivama Tomić i sar. (2019) ističu procijanidin B1.



Slika 7. Hemijska struktura glavnih flavonoida u šljivi (prilagođeno iz Tomás-Barberán i sar., 2001)

Posmatrajući individualne fenolne komponente, antocijani imaju najveću antioksidativnu moć, a potom slede kvercetini i hlorogenske kiseline (Chun i sar., 2003). Međutim, antocijani predstavljaju malu frakciju ukupnih fenola (20%), te nemaju veliki uticaj na ukupni antioksidativni kapacitet ovog voća (Puerta-Gomez i Cisneros-Zevallos, 2011). Među cijanidinima, cijanidin 3-glukozid i 3-rutinozid pokazali su smanjenu antioksidativnu aktivnost u poređenju sa aglikonskom formom (kao i u slučaju ostalih glikozidnih oblika flavonoida) (Chun i sar., 2003). Hlorogenska kiselina prisutna je u visokim koncentracijama u šljivi i najviše doprinosi antioksidativnom kapacitetu, uprkos činjenici da je antioksidativno manje reaktivna u odnosu na cijanidine (Chun i sar., 2003). Prosečan sadržaj hlorogenskih kiselina (suma hlorogenske i neohlorogenske) u ukupnim fenolima šljive je oko 71,4% (Chun i sar., 2003).

Hlorogenska kiselina se ponaša kao skevindžer (hvatač) reaktivnih kiseoničnih vrsta (superoksid, hidroksi radikal, organski slobodni radikali) i azotnih vrsta (Chun i sar., 2003; Kono i sar., 1997), inhibira peroksidni radikal, a time i iniciranje lančane reakcije peroksidacije masti (Kono i sar., 1997). Proizvodi nastali u reakciji hlorogenske kiseline i radikalnih vrsta vrlo brzo se raspadaju, te ne mogu indukovati nastanak novih slobodnih radikala i nije potrebna aktivnost drugih antioksidanata kako bi se redukovali novonastali okidovani oblici hlorogenske kiseline (Kono, 1997).

2.4.2. Prehrambena vlakna

Prehrambena vlakna su raznolika klasa jedinjenja koja uključuju polimere ugljenih hidrata biljnog porekla poput oligosaharida i polisaharida (celuloza, hemiceluloza, pektinske materije, gume, rezistentni skrob, inulin), vlakna animalnog porekla (hitozan), modifikovana i sintetisana nesvarljiva vlakna (Elleuch i sar., 2011) i vlakna mikrobiološkog porekla (Yang i sar., 2017). Kompleksna struktura prirodnih vlakana čini ih širokom grupom jedinjenja koja se međusobno razlikuju po hemijskoj strukturi, osnovnoj građi molekula, stepenu polimerizacije (do oligo- ili polimera) i dr. Svaki polimer okarakterisan je šećernom jedinicom u strukturi glavnog lanca, prirodnom veze između njih, kao i sastavom i rasporedom šećernih jedinica u kompleksnim molekulima polisahraida (Elleuch i sar., 2011).

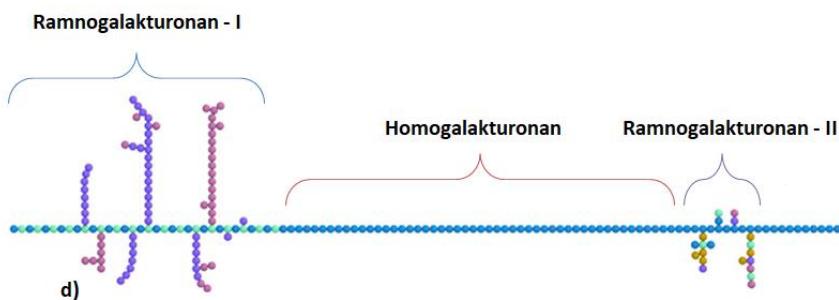
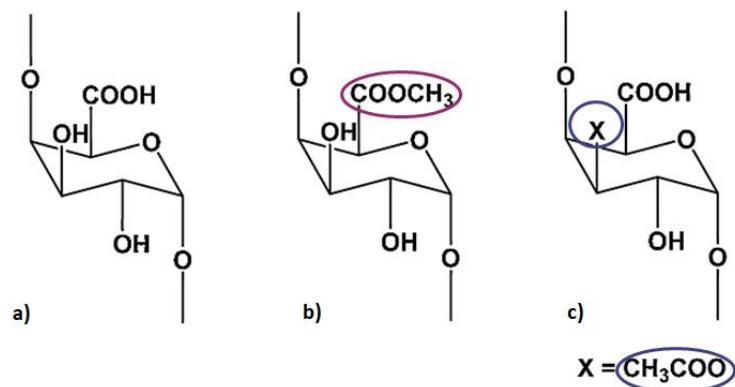
Prehrambena vlakna ne podležu hidrolizi, digestiji i apsorpciji u tankom crevu, zbog čega se često definišu kao nesvarljivi ugljeni hidrati. Nesvarljivi ugljeni hidrati mogu se sastojati od sledećih klasa jedinjenja:

- polisaharidi: celuloza, β -glukan, hemiceluloza, gume, pektin, inulin, rezistentni skrob, sluz;
- oligosahraidi: frukto-oligosaharidi, oligofruktoza, polidekstroza, galakto-oligosaharidi i
- oligosaharidi soje: rafinoza i stahioza (Elleuch i sar., 2011).

Složenost strukture prehrambenih vlakana može se objasniti na primeru pektinskih materija. U makromolekulu pektina razlikuje se nekoliko regiona: homogalakturonan, ramnogalkuronan I, ramnogalkuronan II (slika 8), ksilogalakturonan, apiogalakturonan (Chan i sar., 2017), ali je linearni molekul homogalakturonana (sačinjen od monosahrada α -1,4-D-galakturonske kiseline) najdominantniji i čini do 60% pektina u sastavu ćeljskog zida (Gawkowska i sar., 2018). Stepen polimerizacije homogalakturonana, odnosno broj monomera od kojih je sastavljen može se kreteati od 70 do 100 monomernih jedinica (Baron i sar., 2016). Lanac pektina formira se smenjivanjem linearног homogalakturonana tzv. glatkog regiona (*eng. smooth region*) i regiona ramnogalakturonana koji sadrže bočne lance bogate neutralnim šećerima (tzv. čupavi regioni, *eng. hairy region*) (Baron i sar., 2016). Pored galakturonske kiseline, u molekulu pektina mogu se kominovati još najmanje 16 monosaharida (L-arabinoza, D-galaktoza, L-ramnoza i dr.) putem 20 različitih vrsta veza (Kaya i sar., 2014). Takođe, neke od karboksilnih grupa galakturonske kiseline mogu biti neutralisane katjonima (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) ili esterifikovane metanolom (u položaju 6), dok hidroksilne grupe mogu biti esterifikovane šećernom kiselinom u položajima 2 i/ili 3 galakturonske kiseline (Gawkowska i sar., 2018; Baron i sar., 2016) (slika 8).

Oligosaharidi i polisaharidi mogu biti povezani sa ligninom i drugim komponentama koja nisu ugljenohidratne prirode (npr. polifenoli, voskovi, saponini, kutin, rezistentni protein i dr.).

Pektini u tkivima biljaka povezani su sa ostalim konstituentima čelijskog zida kao što su celuloza i hemiceluloza (Chan i sar., 2017). Značajna frakcija neekstrahujućih fenola čini sastavni deo nekih prehrambenih vlakana, te oba gradivna elementa kompleksnog makromolekula čine posebnu vrstu vlakana koja poseduje specifična povoljna dejstva za zdravlje čoveka (Pérez-Jiménez i sar., 2007).



Slika 8. Forme galakturonske kiseline koje se mogu naći u molekulu pektina: a) α -1,4-D-galakturonska kiselina, b) metilovana α -1,4-D-galakturonska kiselina i c) acilovana α -1,4-D-galakturonska kiselina i d) ilustracija lanca pektina sačinjenog od najzastupljenijih molekulskeih regiona (homogalakturonana, ramnogalkturonana I i II) (pilagođeno iz Chan i sar., 2017)

Prehrambena vlakna imaju više funkcija u organizmu. Epidemiološke studije pokazale su da ishrana bogata vlaknima redukuje mogućnost pojave konstipacije (Tse i sar., 2000), umanjuje rizik od razvoja kardiovaskularnih oboljenja, dijabetesa tipa 2, nekih tipova kancera i utiče na bolje opšte funkcionisanje organizma (Yang i sar., 2017). Prema preporukama Nacionalnog istraživačkog veća Nacionalne akademije nauka SAD (eng. National Research Council of the Food and Nutrition Board of the National Academy of Sciences) dnevne potrebe organizma za dijetnim vlaknima su kod žena mlađih i starijih od 50 godina, 25 g i 21 g (redom), dok su kod muškaraca mlađih i starijih od 50 godina, 38 i 30 g (redom). Većina nutricionista i eksperata u oblasti ishrane sugeriše da 20-30% ukupnog dnevnog unosa prehrambenih vlakana treba da je rastvorljive prirode (Elleuch i sar., 2011).

Povoljna svojstva prehrambenih vlakana zavise od njihovih fizičkih svojstava, a kao najznačajnije ističe se upravo njihova rastvorljivost. Prema rastvorljivosti u vodi dele se na vlakna koja su rastvorljiva (eng. soluble dietary fiber, SDF) i nerastvorljiva (eng. insoluble dietary fiber, IDF) u vodi (Yang i sar., 2017). Rastvorljiva frakcija odnosi se na prehrambena

vlakna koja ne mogu biti svarena i resorbovana u ljudskom organizmu, ali su delimično rastvorljiva u vodi. U rastvorljiva prehrambena vlakna ubrajaju se neke gume (arabika, guar guma), pektin, glukan, kao i neki polisaharidi i sintetisani polisaharidi. Nerastvorljiva prehrambena vlakna (celuloza, hemiceluloza, lignin) ne mogu da budu svarena ni resorbana u digestivnom traktu, niti su rastvorljiva u vodi (Yang i sar., 2017).

Rastvorljiva vlakna usporavaju oslobođanja glukoze u krv, što pomaže u kontroli šećera u krvi. Ova vlakna smanjuju nivo LDL holesterola u krvi, tj. lipoproteina male gustine (*eng. low density lipoprotein, LDL*), umanjujući rizik od pojave kardiovaskularnih oboljenja (Jenkins i sar., 2002). Bubrenjem molekula vlakana rastvorljive prirode, usled apsorpcije vode u digestivnom traktu (Yang i sar., 2017), povećava se zapremina hrane nakon konzumiranja i stvara se osećaj sitosti, što može da dovede do smanjenja telesne težine (Shai i sar., 2008). Nerastvorljiva vlakna porozne prirode uglavnom se povezuju sa laksativnom funkcijom prehrambenih vlakana. Nerastvorljiva frakcija vlakana pozitivno utiče na peristaltiku creva, te dolazi do povećanja zapremine fekalnih materija (Elleuch i sar., 2011) i do lakšeg i redovnog pražnjenja, čime se umanjuje mogućnost nastanka raka debelog creva (kolorektalni kancer) (Sandler, 1996).

Polisaharidni molekuli podložni su dejstvu bakterijskih enzima, te usled njihove fermentacije dolazi do modifikovanja hemijskog okruženja u debelom crevu, što utiče na metabolizam žučnih kiselina i drugih kancerogenih materija (McPherson-Kay, 1987). Žučne kiseline smatraju se faktorima rizika u nastanku kancera debelog creva (McPherson-Kay, 1987), a usled povećanja zapremine fekalnih materija u prisustvu vlakana smanjuje se mogućnost kontakta takvih štetnih materija sa sluznicom debelog creva i oštećenja creva. Međutim, ne utiču sve vrste vlakana na smanjenje koncentracije žučnih kiselina, već mogu imati i suprotan efekat (pektin i lignin) (McPherson-Kay, 1987). Obe frakcije prehrambenih vlakana, rastvorljiva i nerastvorljiva, snižavaju pH creva usled mikrobiološke produkcija masnih kiselina kratkih lanaca, i time se smanjuje biodostupnost toksičnih amina (Topping i Clifton, 2001).

Polisahardi fermentabilne prirode koji odolevaju dejstvu želudačnih kiselina i enzima i nesvarljivi su, poznati su kao prebiotici (Garcia-Amezquita i sar., 2018). Prebiotici (skrobovi, pektin, inulin i neki drugi oligosaharidi), ne samo da povoljno deluju na rast i/ili metaboličku aktivnost jedne ili više bakterijskih vrsta iz probiotiske zajednice umanjujući aktivnost patogenih mikroorganizama, već i zajedno sa probioticima ispoljavaju povoljan uticaj na zdravlje čoveka (Stanton i sar., 2005; Gibson i Roberfroid, 1995). Nesvarljivi fruktani inulin i oligofruktoza, pored prebiotskog dejstva, poboljšavaju apsorpciju kalcijuma, čime povećavaju gustinu minerala u kostima (Bosscher i sar., 2006).

Sa druge strane, prehrambena vlakna mogu negativno uticati na apsorpciju proteina, minerala i neorganskih soli iz hrane, što predstavlja problem za decu u tinejdžerskoj dobi, kojima su ovakvi nutrijenti izrazito važni tokom razvoja (Yang i sar., 2017).

Prehrambena vlakna u šljivi

Sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u šljivi kreće se od 1,3 do 2,4 g/100 g svežih šljiva (Wills i sar., 1983), dok je kod sušenih šljiva nekoliko puta veći i može dostići 5,9 g/100 g (Fatimi i sar., 2007). Zdravstveni potencijal prehrambenih vlakana šljive je višestruk, što je prethodno detaljno obrazloženo. Nerastvorljiva prehrambena vlakna šljive poboljšavaju persitsaltičke pokrete creva, preventivno delujući na pojavu konstipacije i težih oboljenja poput kancera debelog creva (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2013). Rastvorljiva frakcija prehrambenih

vlakana iz šljive redukuje nivo štetnog holesterola, što umanjuje mogućnost pojave arteroskleroze (Milala i sar., 2013; Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001). Laksativna svojstva šljive zavise od sorte šljive i potiču od visokih količina vlakana i šećernih alkohola (ksilitol i sorbitol). Zajednički podstiču pražnjenje creva i povoljno utiču na razvoj intestinalne mikroflore koja povećava kiselost tog dela gastrointestinalnog trakta (Stacewicz-Sapuntzakis i sar., 2001; Dikeman i sar., 2004).

Distribucija prehrambenih vlakana u plodu šljive zavisi od posmatranog anatomskega dela ploda. Prehrambena vlakna se u najvećoj meri akumuliraju u pokožici šljive (Milala i sar., 2013), a sadržaj je pet do devet puta veći u pokožici nego u mesu ploda šljive (Kosmala i sar., 2013). Sadržaji rastvorljive frakcije vlakana znatno su niži u pokožici nego u mesu ploda (Kosmala i sar., 2013). Udeo rastvorljive frakcije u ukupnim vlaknima zavisi od sorte šljive i može se kretati od 40-55% (Kosmala i sar., 2013).

Pektinske materije i celuloza (sačinjena od jedinica D-glukoze povezanih β -1,4 glikozidnom vezom) su dominantne polisahradne komponente u sastavu čelijskog zida šljive (Nunes i sar., 2008b).

Prema Kosmala i sar. (2013) sadržaj galakturonske kiseline i celuloze u materijama nerastvorljivim u alkoholu³ zavisi od sorte šljive, te se galakturonska kiselina kreće se u intervalima od 222 do 387 mg/g (plod) i 335-393 mg/g (pokožica), dok je sadržaj celuloze nešto niži (108-126 i 129-172 mg/g u plodu i pokožici, redom). Uronske kiseline i celuloza u mikročesticama proizvedenim iz mesa ploda i pokožice šljive u radu Basanta i i sar. (2016) bile su 13,4 i 12,0 g/100 g (redom) (mikročestice od mesa ploda šljive) i 7,6 i 18,2 g/100 g (pokožica šljive).

Pektinske materije u šljivi sastoje se od uronskih šećernih kiselina, arabinoze i galaktoze (Nunes i sar., 2008b). Glavni šećeri u frakciji rastvorljivih vlakana sušene šljive su galakturonska kiselina, galaktoza i arabinoza (41,9; 16,0 i 6,9 g/100 g sm, redom), dok su ramnoza, fukoza, ksiloza, manoza i glukoza prisutne u niskim količinama. Takav sastav šećera i prisutvo visoke količine galakturonske kiseline u sušenoj šljivi ukazuju na najveću zastupljenost pektina u strukturi rastvorljive frakcije vlakana. Nerastvorljiva frakcija vlakana je bogata glukozom (26,2 g/100 g sm), dok su količine galaktoze, galakturonske kiseline, arabinoze niže (10,2; 7,1 i 6,3 g/100 g sm, redom), odnosno u slučaju ksiloze i manoze višestruko niže (3,4 i 2,4 g/100 g sm). Ovakav hemijski profil šećera u nerastvorljivoj frakciji vlakana sušene šljive ukazuje na prisutvo celuloze kao glavnog polisaharida, sa nešto manjim količinama pektina (galakturonska kiselina, ramnoza) i hemiceluloze (ksiloza, manoza) (Fatimi i sar., 2007).

Stepen esterifikacije pektina u šljivama veći je od 50%, a kod sorte Promis čak 77% (u materijama nerastvorljivim u alkoholu) (Kosmala i sar., 2013), dok je u ranijim istraživanjima pokazano da se stepen esterifikacije može kretati od 37-55% u svežim šljivama (Nunes i sar., 2008b).

³ Materije nerastvorljive u alkoholu sastoje se od makromolekula koji su nerastvorljivi u tom rastvaraču, uključujući polisaharide čelijskog zida, skrob, proteine i lignin. U slučaju voća koje je siromašno proteinom i skroboom, sadržaj materija nerastvorljivih u alkoholu je često blizak vrednosti ukupnih vlakana (Fatimi i sar., 2007).

2.5. Upotreba prehrambenih vlakana u hrani, tehnološka svojstva pektina i značaj u proizvodnji želiranih proizvoda

Danas je dostupan širok opseg prehrambenih vlakana na tržištu, ali je izbor odgovarajuće vrste za dalju primenu vrlo komplikovan zadatak, s obzirom na fizičko-hemijsku varijabilnost jedinjenja (Rosell i sar., 2009). Fizičko-hemijska svojstva vlakana (kapacitet vezivanja vode, bubreњe, reološka svojstva, kapacitet vezivanja masti, podložnost molekula bakterijskoj degradaciji ili fermentaciji) imaju fundamentalnu ulogu u primeni vlakana kao tehnoloških agenasa u prehrambenoj industriji (Rosell i sar., 2009; Dikeman i Fahey, 2006). Fiziološka funkcionalnost vlakana zavisi takođe od fizičko-hemijskih karakteristika, te je npr. uloga rastvorljivih vlakana u inhibiciji apsorpcije holesterola i glukoze povezana sa njihovom viskoznošću (Dikeman i Fahey, 2006). Vlakna se danas dodaju u proizvode od brašna (testenine, keksovi, hlebovi), mesa (kobasice, čufte, emulzije), mleka (mleko, jogurt), a mogu se koristiti i kao prehrambeni aditivi (Yang i sar., 2017). Njihova funkcionalnost u hrani se najčešće ogleda u sposobnosti da povećaju kapacitet zadržavanja vode i ulja, utiču na emulgovanje i/ili formiranje gel sistema. Integrисани u strukturi prehrambenih proizvoda (pekarskih, mlečnih proizvoda, džemova, u supama i mesu) mogu modifikovati teksturna svojstva, smanjiti mogućnost pojave sinerezisa (izdvajanje tečne faze iz gel sistema namirnice), stabilizovati emulzije i hranu sa visokim udelom masnoće, i uticati na produženje roka trajnosti hrane (Elleuch i sar., 2011).

Pektin je polisaharidni hidrokoloid koji je primarno korišćen kao želirajući agens, a zatim kao stabilizator, emulgator, zgušnjivač i glazirajuće sredstvo u prehrambenoj industriji te se smatra reološkim modifikatorom (Chan i sar., 2017). Rastvorljivost pektina u vodenim rastvorima je u funkciji od stepena metilesterifikacije, molekulske mase, temperature, pH, kao i prisustva jona u sredini u kojoj deluje (Gawkowska i sar., 2018).

Želiranje se može opisati kao fenomen pri kojem se lanci polimernih molekula hidrokoloida povezuju i umrežavaju u trodimenzionalnu strukturu u kojoj je voda zarobljena. Gel struktura sistema pruža otpor pri proticanju, odnosno poseduje viskoelastične osobine što znači da ispoljava osobine i čvrstog i tečnog sistema (Saha i Bhattacharya, 2010). Značajan tehnološki pokazatelj koji utiče na sposobnost želiranja i mehanizam delovanja pektina je stepen esterifikacije karboksilnih grupa (metanolom) (*eng.* degree of methylation, DM). Izražen je kao odnos broja metil esterifikovanih karboksilnih grupa i slobodnih karboksilnih grupa u molekulu poligalakturonske kiseline. Tehnološka klasifikacija pektina na osnovu stepena esterifikacije je sledeća:

- visokoesterifikovani pektini (*eng.* high-methoxy pectins, HM): DM > 50%
- niskoesterifikovani pektini (*eng.* low-methoxy pectins, LM): 5% < DM < 50%
- pektinska kiselina (*eng.* pectic acid): DM < 5% (Baron i sar., 2016).

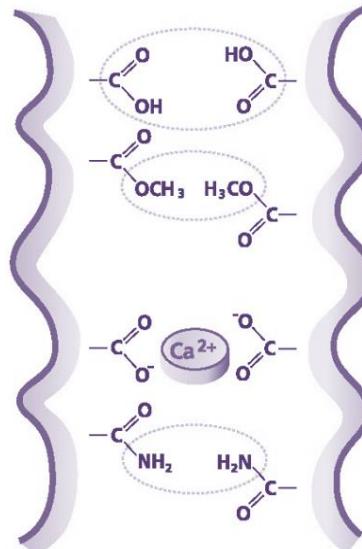
U kiseloj sredini rastvorljivost pektina raste sa povećanjem DM (Baron i sar., 2016). U zavisnosti od DM, pektini mogu da formiraju dve vrste gel sistema:

- HM pektini formiraju gele u kiseloj sredini ($2.8 < \text{pH} < 3.4$) u prisustvu visokih koncentracija šećera, tj. pri visokim vrednostima rastvorljive materije (63-80%). Takav mehanizam se naziva i „šećer-kiselina želirajući mehanizam“. Uloga šećera je da umanji aktivnost vode, a time i hidrataciju molekula pektina, usled čega se polimerni lanci mogu fizički više približiti i međusobno povezati. Pri nižim pH, usled prisustva kiseline smanjuje se disocijacija $-\text{COO}^-$ grupa, te se redukuje elektrostatičko odbijanje između lanaca pektina i lanci mogu da se približe jedan drugom. Pri tome se formiraju vodonični mostovi između

nedisosovanih -COOH grupe, a između rezidua galakturonske kiseline koji pripadaju različitim lancima dolazi i do hidrofobnih interakcija (npr. između -COOCH₃ grupe) (Baron i sar., 2016; www.herbstreith-fox.com).

■ LM pektini mogu formirati gele po HM mehanizmu, ali je obično mehanizam želiranja nezavistan od faktora poput rastvorljivih materija (šećer) i pH ukoliko su prisutni polivalentni joni kao što je Ca²⁺. Mehanizam želiranja u prisutvu jona Ca²⁺ odvija se pri formiranju takozvanog *egg-box* strukturnog modela. Jon Ca²⁺ se povezuje sa negativno nanelektrisanim -COO⁻ grupama koje pripadaju reziduima galakturonske kiseline iz dva različita lanca, a dolazi i do stvaranja vodoničnih veza sa različitim atomima kiseonika u tim jedinicama strukture (Baron i sar., 2016; www.herbstreith-fox.com).

Amidirani niskoesterifikovani pektini (*eng.* amidated lowmethyl ester pectin, LMA) ponašaju se kao i LM pektini, odnosno mogu stvarati gel mrežu po „šećer-kiselina želirajućem mehanizmu“ karakterističnom za HM pektine ili nezavisno od pH i rastvorljive suve materije ukoliko su prisutni polivalentni joni (*egg-box* model). Usled prisustva amidnih grupa u molekulima LMA postiže se dodatno povezivanje između lanaca pektina pri formiranju vodoničnih veza između amidnih grupa. Sa povećanjem broja amidnih grupa dolazi do povećanja čvrstine gela. Mehanizam želiranja LMA prikazan je na slici 9. U slučaju primene LMA pektina, stvaranje klastera pektinskih lanaca se odvija u znatno kontrolisanim uslovima nego kod LM pektina, s obzirom da je formiranje vodoničnih veza između amidnih grupa sporije u odnosu na reakciju koja se odvija između LM pektina i jona Ca²⁺ (www.herbstreith-fox.com).



Slika 9. Mehanizam želiranja amidiranog niskoesterifikovanog pektina-LMA (preuzeto sa www.herbstreith-fox.com)

Kuvanje džema, marmelade i želea koristeći voće, šećer, pektin i kiseline je jedan od nastarijih načina pripreme i konzervisanja hrane. Svojstvena konzistencija želiranih proizvoda od voća ne može se postići bez dodatka komercijalnih pektina (želirajućih agenasa) u odgovarajućim uslovima (kiselost i rastvorljiva suva materija). Pri kuvanju džema, minimalna rastvorljiva suva materija i maksimalna količina dodatog želirajućeg agensa (obično pektina), određena je regulativom svake zemlje (Figueroa i Genovese, 2019). Dodatak želirajućeg sredstva

je neophodan kako bi se se obezbedila odgovarajuća konzistencija džema i sličnih proizvoda koja je dovoljno čvrsta da zadrži „voćni pire/pulpa-šećer“ sistem na mestu u makrostrukturi proizvoda (Abid i sar., 2018).

Potreba za pronađenjem novih izvora vlakana, kao i novih procesnih metoda za poboljšanje njihove funkcionalnosti, dovela je do proširenja njihove primene u proizvodnji hrane. Otvorele su se nove mogućnosti, poput dizajniranja hrane obogaćene vlknima ili inkorporiranja vlakana u sastav tradicionalnih proizvoda (Rosell i sar., 2009).

Voćni džemovi, želei i slične prerađevine od voća su pogodan matriks za integrisanje vlakana u strukturu namirnice (Figueroa i Genovese, 2019). Vlakna kao dodaci u novoj funkcionalnoj hrani poput voćnih želea mogu modifikovati viskoelastična i mehanička svojstva, boju, senzorna svojstva (Figueroa i Genovese, 2019).

Figueroa i Genovese (2019) pokazali su da čvrstina gel sistema i pojava sinerezisa zavisi od primenjene vrste dodatih vlakana (poreklom od jabuke, bambusa, pšenice ili psilijuma). U njihovim istraživanjima sve vrste voćnih želea (sem sa vlknima psilijuma) okarakterisani su pojavom sinerezisa, a žele sa vlknima psilijuma ispoljio je gumoznost. Međutim, kada su vlakna psilijuma i vlakna bambusa, jabuke ili pšenice kombinovana u odnosima 1:1, pojava sinerezisa je izbegnuta kod svih želea. Takođe, modifikovan je i neželen brašnast ukus koji se javio kod želea pripremljenih samo sa vlknima pšenice i bambusa.

Proces pripreme novih izvora vlakana takođe se može odraziti na teksturna svojstva u novom proizvodu. Način sušenje pokožice od nara uticao je na elastičnost džema od nara prema istraživanjima Abid i i sar. (2018), te su džemovi sa liofiliziranom pokožicom bili elastičniji od onih sa pokožicom dobijenom sušenjem na 50°C. Primena velikih količina pokožice nara (8,85%) dala je nepovoljna senzorska svojstva, tj. intenzivnu gorčinu (Abid i sar., 2018).

Inkorporiranje bambusovih vlakana u džem od grejpfruta, odrazilo se na povećanje konzistencije nekih od uzoraka u istraživanjima Igual i i sar. (2014). Primena vlakana u prisustvu dodatog pektina zajedno sa primenom alternativnih metoda kuvanja džema (upotreba mikrotalasa i osmotske dehidratacije) uticala na bolje umrežavanje i ojačavanje pektinske mreže u džemu.

U ovoj doktorskoj disertaciji bilo je neophodno ispitati mogućnost supstitucije pektina kao aditiva vlakanima koja se nalaze u sastavu praha od liofiliziranog tropa šljive i utvrditi količinu tropa koju je potrebno dodati da bi se oformila stabilna struktura funkcionalnog proizvoda, uz istovremeno ispunjenje ostalih zahteva eksperimenta.

2.6. Senzorska analiza hrane i podela senzorskih metoda

Senzorska analiza (ocena) se definiše kao naučna disciplina koja se koristi kako bi pobudile (evocirale), izmerile, analizirale i tumačile reakcije o osobinima i svojstvima hrane percepisane čulima vida, mirisa, ukusa, dodira i sluha (Stone i Sidel, 2004). Drugim rečima, senzorska analiza na jedinstven način prati organoleptička svojstva hrane uz korišćenje alata, ljudskih čula (Pestorić, 2011). Prilikom konzumiranja hrane ljudska čula predstavljaju najbolji instrument za ocenu senzorskog kvaliteta proizvoda (Peinado i sar., 2015). Čula su korišćena vekovima u oceni kvaliteta hrane (Lawless i Heymann, 2010), a pri konzumiranju namirnice svi smo skloni da donosimo sopstveni sud o njenim karakteristikama. Ipak, to ne znači da je svako sposoban da učestvuje u specifičnim senzorskim analizama. U prošlosti se održanje kvaliteta proizvoda u procesu proizvodnje svodilo na percepciju jednog eksperta, a odluke eksperta su bile krucijalne u postizanju željenih svojstva proizvoda. Tradicionalno su pivare, mlekare i vinarije

imale takve inspektore. Moderna senzorna analiza zamenila je pojedinca sa panelima ljudi pri analizi hrane, čime je analiza dobila formu eksperimenta. Tranzicija sa individualnih ocenjivača na panel ocenjivača bila je značajna iz nekoliko razloga:

- sud donešen od strane panela je objektivniji i pouzdaniji nego od strane pojedinca,
- podrazumevalo se da panel može biti uvek aktiviran za potrebe analize, dok jedan ekspert može biti sprečen da izvrši ocenjivanje iz mnogih razloga (bolest, putovanje, odlazak u penziju i dr.) i
- stav eksperta u vezi sa hranom može i ne mora da reflektuje stav šire populacije potrošača i svojstva koja oni očekuju od proizvoda (Lawless i Heymann, 2010).

Senzorska ocena je značajna jer doprinosi sagledavanju i opisu senzorskih svojstava prehrabnenog proizvoda, vodi ka poboljšanju kvaliteta proizvoda tokom proizvodnje i omogućava poređenje proizvoda sa konkurentnim proizvodima na tržištu, težeći njegovom krajnjem prihvatanju od strane potrošača (Pestorić, 2011). Primarna briga bilo kog senzorskog analitičara specijazovanog za ovu oblast je da obezbedi primenu odgovarajućeg metoda koji je pogodan da odgovori na postavljena pitanja o proizvodu. Iz tih razloga testovi se obično klasifikuju prema njihovoј primarnoj nameni (Lawless i Heymann, 2010). Cilj ispitivanja može biti potreba da se utvrdi razlika između testiranih uzoraka, postojanje detektovane razlike i njenog intenziteta, naklonosti ili dopadljivosti prema određenoj hrani, kao i kojim proizvodima se pridaje prednost u posmatranom ispitivanju (Pestorić, 2007). Metodi senzorske analize mogu se podeliti na objektivne (analitičke) i subjektivne (afektivne/hedonske) metode (Škrobot, 2016). Uobičajeno se primenjuju tri vrste senzorskih testova, pri čemu svaki ima svoj cilj i kriterijum pri izboru učesnika testa (Lawless i Heymann, 2010). Prikaz osnovnih senzorskih testova dat je u tabeli 2.

Senzorska istraživanja i istraživanja sa potrošačima zasnivaju se na angažovanju treniranih (ekspertskeih) panela i potrošačkih panela. Trenirani paneli se sastoje od manje grupe ljudi koji se ponašaju kao stvaran analitički instrument, dok su učesnici potrošačkih panela subjektivniji i vrše ocenjivanje u manje kontrolisanim uslovima, što ih približava više realnoj slici prilikom ocenjivanja hrane (Meiselman, 2013). Sa druge strane, ispitivanje preferencija i potrošačke prihvatljivosti u vezi sa specifičnom vrstom hrane je izazovan zadatkom, jer zavisi od brojnih faktora:

- stavova potrošača,
- emocionalnog statusa potrošača,
- navika potrošača,
- rituala (kulturno-istorijski i dr.),
- okruženja u kom se sprovodi ispitivanje,
- tranzicije iz jedne životne dobi u drugu (Meiselman, 2013) i
- želje da učestvuju u testiranju.

Prema Pestorić (2011), subjektivno definisanje senzorskog kvaliteta jeste odraz doživljenog zadovoljstva od strane potrošača i ne vodi u svim slučajevima do opisa stvarnih karakteristika proizvoda, te se senzorski kvalitet hrane može definisati u celosti ako pored subjektivnog ima i objektivnu ocenu. Objektivnost pri senzorskoj analizi se postiže pri izvođenju senzorske ocene proizvoda u definisanim uslovima, odnosno primenom senzorskih i statističkih metoda i panela utreniranih, proverenih i odabranih ocenjivača (Pestorić, 2011). Međutim, Worch i Punter (2010) sugerisali su primenu upravo potrošačkih panela za profilisanje hrane u

nekim slučajevima, s obzirom da ne pokazuju značajnu razliku u poređenju sa primenom ekspertske/utreniranih panela, posmatrajući rezultate sa aspekta diskriminacije, ponovljivosti i postizanja konsenzusa pri ocenjivanju.

Nedostatak utreniranih panela je visoka cena pri njihovo komercijalnoj primeni, a obuka osoblja u industrijskom sektoru je dugotrajna, zbog čega su kompanije sve više orijentisane na primenu potrošača u senzorskoj oceni svojih proizvoda (Worch i Punter., 2010).

Dostizanje visokog senzorskog kvaliteta proizvoda primenom utreniranih panela ocenjivača (objektivna ocena) i/ili primena atraktivnijih koncepta u dizajniranju proizvoda (redukovanje sadržaja šećera ili potpuno isključenje dodatnih šećera iz formulacije proizvoda; zamena tradicionalnih zasladičnika prirodnim zdravijim šećerima; dodatak funkcionalnih komponenti i dr), ne znače nužno da će takav proizvod biti prihvaćen od strane većeg dela populacije potrošača. Odluka potrošača je kritična tačka u razvoju novih proizvoda i hrane (Basu i Shrivhare, 2010), te je krajnje pozicioniranje novorazvijenog proizvoda na tržištu upravo u funkciji od izbora potrošača. Takođe, potreba za reformulacijom proizvoda u nekim od faza razvojnog procesa uključuje upravo potrošačku ocenu, odnosno angažovanje potrošača (Lawless i Heymann, 2010). S obzirom na sve gore pomenuto, razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive u ovoj doktorskoj disertaciji bazira se na primeni protrošačkih testova.

Tabela 2. Podela metada/testova u senzorskoj analizi hrane (Lawless i Heymann, 2010)

Senzorski test/metod	Pitanje od interesa	Tip testa/metode	Karakteristike učesnika panela
Diskriminativni	Da li postoji bilo kakva razlika između ispitivanih proizvoda?	Analitički	Ispitana osjetljivost/oština čula pri praćenju performansi paneliste; orijentisan ka metodi; ponekad utreniran panelista
	Kako se proizvodi razlikuju u odnosu na specifičnu senzorskiju karakteristiku?	Analitički	Ispitana osjetljivost/oština čula i motivacija pri praćenju performansi paneliste; utreniran ili visoko utreniran panelista
Afektivni (test prihvatljivosti)	Koliko se proizvodi sviđaju ispitniku ili koji je proizvod dopadljiviji?	Hedonski	Testiran u odnosu na proizvode; neutreniran ocenjivač

2.6.1. Podela potrošačkih testova

U potrošačkim senzorskim istraživanjima hrane razlikuju se dva osnovna pristupa:

- merenje *preferencija potrošača* u odnosu na proizvod/e i
- merenje *prihvatljivosti* proizvoda od strane potrošača (Jellinek, 1964).

Testovi preferencije i potrošačke prihvatljivosti spadaju u grupu afektivnih (hedonskih) testova, a sam termin hedonski odnosi se na zadovoljstvo pri konzumiranju hrane. Cilj obe kategorije testova je da dosegnu senzorski doživljaj potrošača o proizvodu, odnosno da se spozna

reakcija potrošača u odnosu na aromu, ukus, osećaj koji stvara u ustima, teksturu, opšte stanje i druge senzorske karakteristike proizvoda (Lawless i Heymann, 2010).

Testovi preferencije

Pri primeni testova preferencije, potrošač ima mogućnost izbora, te jedan proizvod treba da se izabere u odnosu na drugi ili više njih. Može se ocenjivati samo jedan, proizvod pri čemu nije nužno poređenje sa drugim proizvodima, ali je uobičajeno da se ispitivanje sprovodi sa više proizvoda. Glavni zadatak testova preferencije je da se pronađe „pobednik“, odnosno proizvod koji ima najveću privlačnost za potrošača u odnosu na ostale proizvode u testu (Lawless i Heymann, 2010).

Ukoliko su u pitanju dva proizvoda, reč je o *parnom testu preferencije*, koji predstavlja najjednostavniji i najpopularniji test ove vrste. Parni test preferencije imitira uslove u kojima se potrošač nalazi prilikom kupovine, te ima mogućnost izbora između alternativa. Parni test preferencije može biti sa *forsiranim* i *neforsiranim izborom*. Kod parnog testa sa forsiranim izborom, panelisti se simultano predstavljaju dva uzorka i panelista treba da odgovori koji od ta dva mu se više dopada. Ipak, nedostatak parnog testa preferencije je taj što se od dva kandidata (uzorka) ponekad ni jedan ne sviđa potrošaču, ali nužno mora biti izabran jedan, te se ne dobija prava slika o proizvodima. Kod parnog testa sa neforsiranim izborom, dodaje se još jedna opcija koju može potrošač odabrati pri ispitivanju, po kojoj se ni jedan od ponuđena dva uzorka ne dopadaju panelisti (bez preferencije) (Lawless i Heymann, 2010).

U testove preferencije spada *rangiranje*, u kojem se više proizvoda rangira po opadajućem ili rastućem dopadanju (od onog najdopadljivijeg do najmanje dopadljivog, ili obrnuto). Parni test preferencije je specijalna vrsta rangiranja, s obzirom da je učesnik upitan da rangira dva proizvoda. Rangiranje je jednostavno za potrošača i može se obaviti brzo i uz malo uloženog npora. Pogodnost je i ta što potrošač ne mora da se oslanja na svoje sećanje, jer je nužno da rangira proizvode u zadatom okviru ponuđenih proizvoda. Nedostatak ove vrste testa ogleda se u nemogućnosti da se direktno proceni ili „kvantifikuje“ razlika, ukoliko postoji između uzoraka (Lawless i Heymann, 2010).

Testovi prihvatljivosti

Pored testova preferencije, za spoznaju senzorskog doživljaja hrane od strane potrošača primenjuju se testovi potrošačke prihvatljivosti (eng. acceptance) ili dopadljivosti (eng. liking) proizvoda, pri čemu se koriste odgovarajuće skale sa stepenima sviđanja/dopadanja (Lawless i Heymann, 2010).

Za razliku od testova preferencije, ove metode ne zahtevaju izbor između alternativa. Merenje senzorskog doživljaja hrane pri upotrebi skala ima značajne prednosti u poređenju sa testovima izbora (preferencije), a krucijalna je ta što obezbeđuje informaciju o dopadanju ili nedopadanju uzoraka u apsolutnom smislu (Lawless i Heymann, 2010).

U testovima preferencije, oba uzorka mogu da se ne dopadnu ocenjivaču, ali se nužno bira onaj koji je „manje loš“ prema percepцијама potrošača. U takvom slučaju ne bi bila dobra ideja da se posegne za proizvodnjom ili prodajom ni jedne verzije proizvoda. Sa druge strane, primena testova prihvatljivosti pruža, pored podataka o dopadanju/nedopadanju i odgovor o preferencijama potrošača na osnovu superiornijeg pozicioniranja jednog proizvoda u odnosu na drugi. Takođe, podaci iz hedonskih skala mogu se koristi u tzv. tehnikama za mapiranje

preferencija, koje omogućavaju vizualizaciju pravaca preferencije ispitivanih proizvoda u prostoru. Preferencije svakog potrošača mogu se projektovati kao vektori u prostoru, pokazujući pravac sviđanja, te mogu sugerisati i buduće pravce optimizacije proizvoda. Takođe iz takvih mapa preferencije mogu se otkriti segmenti tržišta ili grupe potrošača sa različitim stepenom sviđanja/dopadanja (Lawless i Heymann, 2010).

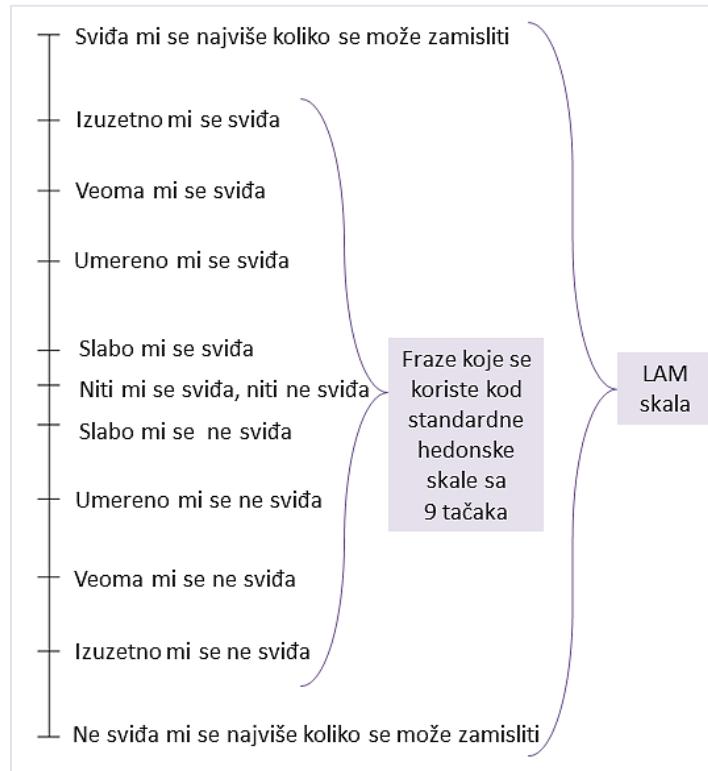
Hedonske skale sa devet kategorija obično se koriste u analizi prihvatljivosti proizvoda. Hedonska skala temelji se na pretpostavci da su preferencije potrošača kontinualne i da se preferencija može kategorizovati pomoću odgovora koji se zasnivaju na sviđanju ili dopadanju svojstva proizvoda (Lawless i Heymann, 2010). Tradicionalna hedonska skala sastoje se od devet kategorija, kojima se pripisuju brojne vrednosti od 1 do 9, odnosno fraze „izuzetno mi se ne dopada/sviđa“ (1), preko neutralne kategorije „niti mi se dopada/sviđa, niti mi se ne dopada/sviđa“ (5) do kategorije „izuzetno mi se dopada/sviđa“ (9) Moskowitz (1980). Fraze koje se dodeljuju klasičnoj hedonskoj skali sa devet tačaka su:

- Izuzetno mi se sviđa (9)
- Veoma mi se sviđa (8)
- Umereno mi se sviđa (7)
- Slabo mi se sviđa (6)
- Niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa (5)
- Slabo mi se ne sviđa (4)
- Umereno mi se ne sviđa (3)
- Veoma mi se ne sviđa (2)
- Izuzetno mi se ne sviđa (1) (Lawless i Heymann, 2010; Moskowitz, 1980).

Sa druge strane, Moskowitz (1980) je ukazao na potencijalne nedostatke skale sa 9 tačaka, odnosno da intervali između kategorija nisu jednakim, neutralni deo skale čini skalu manje efikasnom i da potrošači često izbegavaju ekstremne krajeve skale. Nejednakimi intervali unutar skale i izbegavanje kategorija na krajevima skale, kao posledicu imaju smanjene mogućnosti razlikovanja između hrane koja se izuzetno sviđa ili izuzetno ne sviđa potrošačima (Schutz i Cardello, 2001). Ipak, često je neutralni deo skale i jedini odgovor za neke ispitanike, dok skraćivanje skale na 7 i 5 tačaka često nije dobro rešenje, s obzirom da i u tim slučajevima ispitanici izbegavaju krajeve skale (Lawless i Heymann, 2010). Neki od istraživača u oblasti senzorskih i potrošačkih istraživanja se zbog toga odlučuju za primenu drugih vrsta skala, modifikovanih varijanti hedonskih skala, kao što su *linijske skale* i *procena veličina* (eng. magnitude estimation) (Lawless i Heymann, 2010). *Metode procena veličina* su procedure kod kojih su ispitanici upitani da razmotre odnose ili proporcije koje postoje između uzoraka. Na primer, ukoliko je proizvodu A dodeljena vrednost 20 za intenzitet slatkoće, a proizvod B deluje dva puta slade, dodeljuje mu se vrednost 40. Pri upotrebi takvih procedura, može se koristiti procena sa standardnim stimulusom (moduom), kojem se inicijalno dodeljuje neka nepromenljiva vrednost (npr. 10), pa se svi naredni stimulusi ocenjuju u odnosu na taj referentni. Druga varijanta je da ispitanik samostalno dodeli brojnu vrednost prvom uzorku, u odnosu na koji dalje pozicionira ostale. U analizi dobijenih podataka potrebno je svesti sve ocene panelista u isti interval brojnih vrednosti, što je dodatni korak u analizi. U bipolarnim skalamama veličine koriste se pozitivne i negativne brojne vrednosti kako bi ukazale na sviđanje, odnosno nesviđanje (Lawless i Heymann, 2010).

Označena skala veličina (eng. labeled affective magnitude scale, LAM) je alternativna forma hedonske skale sa 9 tačaka i razvijena je od strane Schutz i Cardello (2001). Suprotne

krajevi LAM skale označeni su frazama „najviše sviđa/dopada koliko se može zamisliti“ i „najviše ne sviđa/ne dopada koliko se može zamisliti“, a unutar skale se nalazi još devet fraza karakterističnih za tradicionalnu hedonsku skalu sa 9 tačaka (slika 10) (Lawless i sar., 2010). LAM skala je „razvučenija“ od hedonske skale sa 9 tačaka, što daje psihološki prostor da se spreči tendencija izbegavanja krajnjih kategorija kod hedonske skale sa 9 tačaka.



Slika 10. LAM skala (eng. labeled affective magnitude scale) skala (prilagođeno iz Lawless i sar., 2010) i 9 zajedničkih fraza koje deli sa tradicionalnom hedonskom skalom

Linijske skale na suprotnim delovima skale imaju oznake koje ukazuju na „izuzetno dopadanje“ i „izuzetno nedopadanje“ uzorka, i u centralnom delu frazu „niti mi se dopada, niti mi se ne dopada“. Međutim ne sadrže ostale fraze karakteristične za tradicionalnu hedonske skale sa devet tačaka. Pored neoznačenih, mogu se koristiti varijacije linijske skale, poput skale sa markerima/oznakama koji dele skalu na jednake delove (Villanueva i Da Silva, 2009).

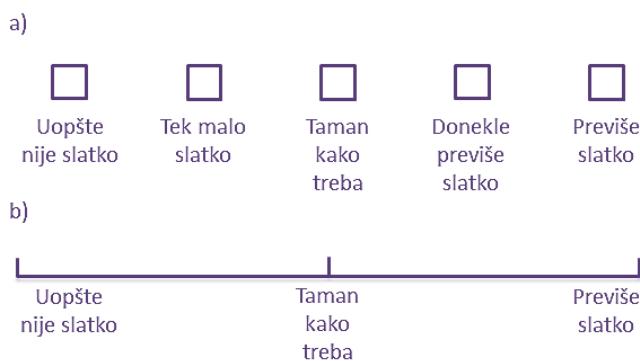
Just About Right (JAR) skala

Jast Right ili Just About Right (JAR) skala kombinuje ocenjivanje intenziteta i hedonsko ocenjivanje. Popularna JAR skala dizajnirana je kako bi se mogla izmeriti reakcija potrošača na specifičan senzorski parametar (Lawless i Heymann, 2010). JAR skala je bipolarna, te ima dva suprotna kraja i centralnu tačku. Krajevi skale odnose se na „previše“ i „premalo“ izražen intenzitet specifičnog stimulusa, dok se centralna tačka povezuje sa „just about right“ („taman kako treba“) intenzitetom ocenjivanog senzorskog svojstva. Suprotni krajevi skale ukazuju na odstupanje od teoretski idealnog nivoa posmatranog svojstva za ispitanika (Lawless i Heymann, 2010; Rothman, 2007). Potrošač treba da izvrši dva zadatka, da oceni intenzitet posmatranog atributa i da odredi gde se taj intenzitet može pozicionirati na skali u odnosu na nivo koji je za

njega najpovoljniji. Ukoliko je cilj ispitati intenzitet slatkog ukusa, na krajevima skale bi se nalazile fraze koje opisuje „previše sladak“ i „nedovoljno sladak“ ukus koji stvara ispitivani uzorak, dok bi se pozicija „just about right“ postigla u slučaju kada bi intenzitet slatkoće odgovarao idelanom intenzitetu ovog svojstva za ispitaniku pri konzurmiranju uzorka (Lawless i Heymann, 2010).

Primarna upotreba JAR skale u kvantitativnom ocenjivanju pomoću panela potrošača fokusirana je na dosezanje krucijalne informacije - da li je potrebno smanjiti ili povećati intenzitet senzorskog svojstva (Rothman, 2007). JAR skala nalazi svoju primenu u slučaju kada se prikupljaju informacije za potrebe optimizacije specifičnog atributa ili modifikaciju recepture proizvoda. JAR skale se mogu primeniti pri potrošačkom testiranju proizvoda kako bi se izbegle velike greške u finalnoj izradi recepture proizvoda, dok se u ranim fazama razvoja proizvoda mogu koristiti za poređenje različitih verzija proizvoda. Upotreba JAR skale ograničena je na ocenu jednostavnih svojstava koje su dobro poznate potrošaču, poput slatkog ili slanog ukusa, dok drugi kompleksniji deskriptori ne mogu da se ocenuju pomoću ove skale. Primer takvog parametra je „kremast“ u slučaju mlečnih proizvoda, s obzirom da predstavlja zbir nekoliko senzorskih parametara (glatkoća, viskoznost, punoća ukusa, aroma i drugo) (Lawless i Heymann, 2010).

JAR skale dele se na kategoriske i kontinualne linijske skale, kao što je predstavljeno na slici 11. Broj tačaka u kategorijskim JAR skalama obično se kreće od tri do devet, uključujući centralnu JAR tačku. Pri konstruisanju skale, središnja tačka mora biti adekvatno označena („just right“ ili „just about right“ - „taman kako treba“), a broj tačaka sa obe strane skale mora biti jednak i simetrično postavljen u odnosu na centralnu tačku. Na skali mogu biti označene samo krajnje kategorije, svaka, ili kombinovano neke od kategorija (Rothman, 2007).



Slika 11. Primer JAR skale za slatkoću: a) kategorijска JAR skala sa pet tačaka i b) kontinualна линиска JAR skala (прilagođeno iz Rothman, 2007)

2.6.2. Senzorski kvalitet želiranih prerađevina od voća

Želirani proizvodi od voća kao što su džem, marmelada, želei, ali i prerađevine od voća poput pekmeza i voćnih namaza spadaju u široko rasprostranjene prerađevine od voća sa dužim rokom tajanja koje se rado konzumiraju u svim kategorijama potrošača, od dece do odraslih. Kvalitet i prihvatljivost takvih namirnica zavise od senzorskih parametara proizvoda, odnosno boje, ukusa, tekture i reoloških pokazatelia.

Boja se smatra važnim parametrom kvaliteta jer primarno utiče na percepciju proizvoda, s obzirom da je to prvi stimulus koji dolazi do potrošača. Zbog toga je eliminacioni faktor pri odabiru proizvoda tokom kupovine (Banaš i sar., 2018) i krucijalno je da se pri preradi voća

postigne željena i očekivana boja proizvoda. Boja džema može da ukaže na svežinu i potencijalan kvar proizvoda, na trasformaciju bojenih materija u proizvodu usled degradacije istih tokom proizvodnje i skladištenja (Banaš i sar., 2018, Poiana i sar., 2012). Boja proizvoda zavisi od tehnološkog načina proizvodnje i skladištenja, odnosno od faktora poput temperature, pH i kiseonika, količine i vrste dodatih šećera, prisustva svetlosti i dr. Prirodne bojene materije poreklom iz voća (antocijani, karotenoidi i dr), zaslužne su za atraktivnu boju prerađevina od voća i nužno je sačuvati ih tokom proizvodnje i skladištenja od degradacije. Retencija termolabilnih komponenti je od izuzetne važnosti za boju džema i prihvatljivost od strane konzumenata (Poiana i sar., 2012). Dodatkom sirovina koje su bogate antocijanima (aronije ili zove) kao u slučaju džema od ogrozda može se povećati intenzitet boje, pri čemu prihvatljivost boje može da ostane na viskom nivou za potrošače (Banaš i sar., 2018). Sa druge strane, dodatak nekih funkcionalnih sastojaka može imati i suprotan efekat. Panelisti u istraživanju Abid i i sar. (2018) pokazali su negativan stav prema tamnijim bojama džemova od nara sa dodatkom osušene kore nara.

Tokom konzumacije prerađevina od voća oslobađa se miris proizvoda, a potom u usnoj duplji dolazi do razvoja ukusa i konačno oslobođanja molekula koji u retronalnoj regiji utiču na formiranje arome proizvoda. Izbalansiran odnos prirodno prisutnih šećera i kiselina iz voća, kao i onih dodatih u formi aditiva, ključan je za ukus džema i srodnih proizvoda, i potrebno je da proizvodi budu što sličniji voću od kojih se proizvode. Suprotno ovome, iskustvo potrošača koje oni vezuju za džem i srođne proizvode može podrazumevati prisustvo arome i ukusa koji nastaju kao posledica primene većih količina šećera ili dug period kuvanja voća tokom proizvodnje (kao u slučaju tradicionalnog pekmeza od šljive), gde može doći i do karamelizacije šećera. Inovativnost u preradi voća i povrća iziskuje primenu dodataka i različitih izvora funkcionalnih sastojaka (trop, prahovi i ekstrakti biljnog porekla i dr.) koji mogu da se odraze na ukus, miris i aromu. Abid i sar. (2018) su ukazali da je dodatak velikih količina tropa od kore nara negativno uticao na senzorska svojstva džema usled stvaranja intenzivnog gorkog ukusa poreklom od tanina.

Tekstura džemova, marmelade i želea zavisi od načina na koji su voćne komponente (voćna pulpa, voćni pire/kaša, plodovi voća) inkorporirane u strukturi zajedno sa ostalim sastojcima proizvoda. Želirani proizvodi od voća (džem, ekstra džem, želes, ekstra želes, marmelada, želes marmelada, domaća marmelada) treba da budu odgovarajuće želirane konzistencije, dok pekmez treba da je odgovarajuće zgusnute konzistencije prema zahtevima Pravilnika o kvalitetu voćnih džemova, želea, marmelade, pekmeza i zaslađenog kesten pirea Republike Srbije (Sl. glasnik RS br. 101/2015). Tekstura može da bude značajan eliminacioni faktor za potrošača ukoliko se primete nepravilnosti u teksturi proizvoda, poput sinerezisa (izdvajanja tečnosti). Čvrstina, adhezivnost džema, kao i reološki pokazatelj poput mazivosti i viskoziteta, distribucija voća ili komadića voća u gel sistemu i mnoga druga teksturna svojstva, utiču na stavove potrošača pri konzumiranju proizvoda. Zamena sastojaka u komercijalnim namirnicama dovodi do promena u strukturi hrane i može dovesti do manje atraktive teksture proizvoda za potrošača koja odstupa od njegovih očekivanja (Renard i sar., 2006). Primena funkcionalnih dodataka bogatih vlaknima i drugim komponentama odražava se na teksturu džemova, te je manipulacija dodacima vrlo izazovna za prerađivače.

Prema Meiselman (2013) senzorska analiza i istraživanja sa potrošačima bi u budućnosti trebalo da budu više usmerena na razvoj proizvoda čiji kvaliteti su „prepisani“ sa lokalnih i tradicionalnih proizvoda. Pekmez od šljiva je tradicionalni proizvod koji se vekovima pripremao u svakom domaćinstvu u Srbiji, te predstavlja jedan od modela za razvoj novih prerađevina.

Pored plasiranja tradicionalnih proizvoda, potrebno je istovremeno zadovoljiti potrebe potrošača koji su orijentisani ka zdravijim proizvodima i izbalansiranoj ishrani, što je trend i u svetu i kod nas. Osluškivanje interesovanja potrošača upućuje na preradu šljiva do zdravijih proizvoda poput voćnih namaza, prerađevine čiji je senzorski i nutritivni profil najsličniji svežem voću (Peinado i sar., 2015) i mogu biti pripremljeni sa nižim koncentracijama dodatog šećera u odnosu na standardne prerađevine. Polazeći od nutritivnih preporuka, kao i zdravstvenih pogodnosti koje pružaju, mnogi potrošači se danas okreću konzumaciji niskokaloričnih džemova (Poiana i sar., 2012). Iz tih razloga je neophodno proširiti ponudu voćnih prerađevina, preko tradicionalnih prerađevina poput pekmeza do niskokaloričnih i proizvoda tipa voćnih namaza, čime bi se zadovoljili različiti zahtevi tržišta.

Transformacija tradicionalnog proizvoda do funkcionalnog obično uključuje primenu raznih dodataka i sastojaka prirodnog porekla, a prethodno dokazanog funkcionalnog karaktera. Međutim, inkorporiranje takvih materijala u namirnicu i težnja ka nutritivno kvalitetnijoj namirnici ne podrazumeva da će ista biti i senzorski prihvatljiva. Ukoliko nije postignuta ravnoteža između postizanja funkcionalnosti i razvoja proizvoda prihvatljivog senzorskog kvaliteta, može da dođe do potpunog odbijanja proizvoda od strane potrošača.

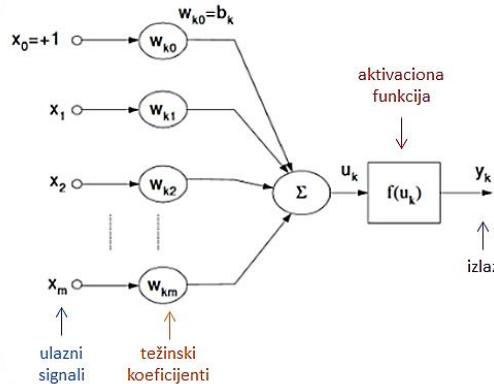
2.7. Veštačke neuronske mreže

Statističke metode se široko primenjuju u prehrabrenom sektoru, počevši od procesa proizvodnje hrane, preko inženjeringu i osobina namirnica, pa do kontrole kvaliteta. Među statističkim metodama veliku primenu su našle veštačke neuronske mreže (*eng. Artificial Neural Network, ANN*). ANN modeli se koriste za rešavanje problema veštačke inteligencije, gradeći veze unutar sistema koje simuliraju biološke neurone u ljudskom mozgu. ANN modeli obuhvataju grupu nelinearnih regresionih i diskriminatornih statističkih metoda sa sposobnošću predviđanja ponašanja sistema, zbog čega omogućavaju modelovanje složenih odnosa. Efikasne su u obrađivanju podataka sa velikim brojem ulaznih i izlaznih parametara (Guiné, 2019).

Biološki neuron, na kom se zasniva veštačka inteligencija, sastoji se od tri elementa: dendrit, telo ćelije i akson (osa). Dendrit prima signale od drugih neurona, odnosno električni impulsi prenose se elektrohemijskim procesima kroz sinapse. U telu ćelije se ulazni signali sakupljaju sve dok suma ne dostigne određenu vrednost koja se dalje šalje kao signal kroz akson do sledećeg neurona. ANN je okarakterisan nizom jednostavnih elemenata (slično kao biološki neuroni) i mrežom usmerenih veza, sa povezanim težinskim koeficijentima između neurona. Signal iz svakog ulaza se množi sa težinskim faktorom tog ulaza i dodaje ostalim signalima koji su na isti način množeni sa njihovim težinskim faktorima (Amirov i sar., 2014). Težinski koeficijenti ANN sistema koriste se da bi odredili relativnu važnost različitih ulaznih podataka, a to su realni pozitivni ili negativni brojevi. Ponašanje veštačkog neurona pri ANN treningu prikazano je na slici 12 i obuhvata sledeće:

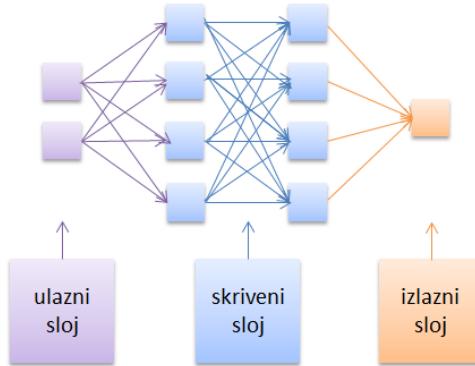
- singali se identificuju kao ulazi (x_1 do x_m);
- svaki signal se množi sa težinskim koeficijentom (W_k), koji ukazuje na njegov uticaj na izlaznu jedinicu (Y_k);
- takvi signali se sumiraju proizvodeći nivo aktivnosti (U_k);
- aktivaciona funkcija $f(U_k)$ ograničava broj izlaza, pri čemu se uvodi nelinearnost u model;
- nulti član (*eng. bias, b_k*) ima ulogu da poveća ili smanji uticaj vrednosti na izlaz;

- bias je kao ulaz konstantne vrednosti jednak 1, pomnožen sa težinskim koeficijentom jednakom b_k .



Slika 12. Model veštačkog neurona (priagođeno iz Guiné, 2019)

Neuronska mreža sastoji se od neurona koji izgrađuju tri sloja: ulazni, izlazni i jedan ili više skrivenih slojeva. Ulazni i izlazni sloj odgovaraju ulaznim i izlaznim promenljivama (redom). Broj skrivenih slojeva varira zavisno od broja ulaznih signala i raste sa povećavanjem broja ulaza i kompleksnosti problema. Preveliki broj skrivenih slojeva nepovoljan je jer vodi prekomernom treniranju mreže, dok premali broj smanjuje preciznost modela. Na slici 13 se nalazi prikaz tipične višeslojne mreže (Guiné, 2019).



Slika 13. Mreža višeslojne ANN

ANN model je izvrsno matematičko oruđe koje "uči", odnosno „trenira se“ na osnovu ulaznih eksperimentalnih promenljivih i pronalazi ključna pravila i odnose koja postoje između odgovarajućih faktora. Na osnovu prethodno prikupljenih podataka iz raznih primera za koja su pronađena rešenja, ANN prepoznaće kompleksne šablone ponašanja između ulaznih i izlaznih parametara, te se to znanje dalje može primeniti na nepoznati skup podataka. Mreža se obučava putem procesa učenja skrivenih veza između ulaznih i izlaznih podataka, kao i sa svakim predviđanjem izlaznih podataka na osnovu novih koje obrađuje. Nakon treninga neuronska mreža stremi predviđanju izlaza, a važno je napomenuti da je okarakterisana većom preciznošću nego regresiona ili konvencionalna klasifikaciona analiza (Guiné, 2019).

ANN model može da se primeni za fitovanje (uklapanje) podataka i predikciju (predviđanje) (Sonawane i sar., 2020). Prednost ANN je u njenoj fleksibilnosti, što je čini idealnom metodom za rešavanje kompleksnih nelinearnih odnosa i realnih problema u kojima

promenljive nisu uvek u linearnoj vezi. Primjenjuje se za razne vrste podataka, te se tako poslednjih decenija široko upotrebljava za modelovanje i predviđanje procesa u prehrambenom sektoru (Guiné, 2019). Dobro podešen ANN model poseduje univerzalnu sposobnost aproksimacije, uči iz eksperimentalnih podataka, tolerantan je prema nepotpunim podacima, može da rešava probleme više nelinearnih promenljivih između kojih su interakcije nepoznate (Coit i sar., 1998).

Sonawane i sar. (2020) primenili su ANN u optimizaciji enzimske ekstrakcije soka od dunje, pri čemu su pratili pored prinosa i fizičko-hemijskih osobina soka, sadržaj fenolnih jedinjenja i vitamina C, u zavisnosti od promenljivih parametara procesa. Pokazali su prednost ANN u odnosu na metod odzivne površine (*eng. Response Surface Methodology, RSM*) s obzirom da je ANN imao veći koeficijent determinacije (*eng. Coefficient of Determination, r²*), a manje vrednosti srednje kvadratne greške (*eng. Root Mean Squared Error, RMSE*) i srednje apsolutne greške (*eng. Mean Absolute Error, MAE*), što ukazuje na veću preciznost i prilagodljivost ANN modela. Fazaeli i sar. (2013) koristili su ANN model za predviđanje parametara kvaliteta dehidrisanog soka od duda osušenog raspršivanjem.

ANN model primjenjen je za optimizaciju formulacije sušene fermentisane kobasice u pogledu maksimalnog dodatka vlakana iz šargarepe, pri čemu je kvalitet proizvoda morao da se održi u granicama zadatih fizičko-hemijskih i teksturnih parametara (Eim i sar., 2013). Benković i sar. (2015) razvili su ANN model kako bi predvideli fizičko-hemijske osobine različitih kakao smeša u zavisnosti od aglomeracije (dodatak vode i trajanje procesa) i variranja sastava smeše (sadržaj masti, zasladičivača i aditiva za povećanje zapremine). Slično kao kod Benković i sar. (2015), u ovoj disertaciji je razvijen ANN model kako bi se predvidele fizičko-hemijske osobine proizvoda od šljive u zavisnosti od variranja sastojaka recepture. Primena ANN modela pokazala se efikasnom u predikciji senzorskih svojstava hrane na osnovu instrumentalno određenih svojstava mlečnog proizvoda, što su pokazali Carvalho i sar. (2013). Predviđanje mazivosti i konzistencije pratili su u funkciji od instrumentalno određenih teksturnih pokazatelja (čvrstoća, gumoznost, žvakljivost, elastičnost, kohezivnost, prividni viskozitet i dr.) primenom ANN modela koji je pokazao tačnost i jednostavnost i bio je pogodna i jeftina alternativa za utrenirani panel.

Nedostatak ANN ogleda se u tome što se ponaša kao empirijska „crna kutija“, s obzirom da je finalni model najčešće toliko kompleksan da se ne mogu jasno tumačiti komponente modela kao što su težinski koeficijenti, dok se na primer kod regresionih metoda mogu tumačiti kroz odsečak i nagib (Coit i sar., 1998)

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Reagensi

U pripremi želiranih proizvoda pored tekuće vode korišćeni su dozvoljeni prehrambeni aditivi (Sl. glasnik RS, 53/2018):

- niskoesterifikovani pektin (LM) i amidovani niskoesterifikovani pektin (LMA; citrusno-jabučni, NECJ-A2) (Vinipex d.o.o., Srbija);
- 50% rastvor limunske kiselina monohidrata (Ensign Industrry, Kina);
- askorbinska kiselina (vitamin C) (Shandong Luwei Pharmaceutical Co., Kina);
- kalcijum-hlorid dihidrat ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) (Lach-Ner, Neratovice, Česka);
- saharoza (nabavljenja u maloprodajnim objektima).

U eksperimentalnom radu korišćene su hemikalije i reagensi različitih proizvođača:

- Megazyme (Bray, Irska): hemikalije u test kitu korišćenom za određivanje ukupnih, rastvorljivih i nerastvorljivih dijetnih vlakana (α -amilaza, proteaza, amiloglukozidaza);
- Sigma (Sigma-Aldrich, GmbH, Nemačka): 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), Folin-Ciocalteu (FC) reagens, katehin, rutin, kvercetin hidrat, galna, kafena, hlorogenska, neohlorogenska i ferulna kiselina, cijanidin 3-O-glukozid hlorid, cijanidin 3-O-rutinozid hlorid; D-(-)-fruktoza, D-(+)-glukoza, D-(+)-saharoza;
- Lach-Ner (Neratovice, Česka): anhidrovani natrijum-karbonat, anhidrovani natrijum-acetat, natrijum-hidroksid, 35% hlorovodonična kiselina, kalijum-hlorid i metanol;
- J.T.Baker (Fisher Scientific, Francuska): čilibarna kiselina, acetonitril HPLC čistoće;
- Carlo Erba (Carlo Erba Reactifs, Francuska): DL-jabučna kiselina, 96% sumporna kiselina;
- Merck (Merck Millipore, Nemačka): natrijum-nitrit;
- Centrohem (Centrohem d.o.o., Srbija): aluminijum-hlorid heksahidrat;
- PanReac AppliChem (AppliChem GmbH, Nemačka): etanol;
- Alfa Aesar (Thermo Fisher Scientific, Velika Britanija): 95% karbazol, D-galakturonska kiselina monohidrat.

Sve ostale hemikalije bile su analitičke čistoće. Za proizvodnju ultračiste vode u laboratorijskim uslovima primenjen je Millipore Elix UV (Merck, Darmstadt, Nemačka).

3.2. Materijal

U eksperimentima su korišćene komercijalno dostupne šljive (*Prunus domestica*) sa ljubičastoplavom bojom, proizvedene u Srbiji. Za izradu disertacije bila je potrebna velika količina šljiva koja je uključivala pripremu određenih proizvoda u vakuum ukuvaču. Zbog nedovoljnih skladišnih kapaciteta za čuvanje sirovina u zamrznutom stanju, bilo je potrebno koristiti šljive u nekoliko sezona.

Na slici 14 ilustrovani su primjenjeni postupci i sirovine tokom izvođenja eksperimenta kroz tri osnovna koraka:

- **I:** Karakterizacija polaznih sirovina za pripremu „pilot proizvoda“ pod vakuumom i senzorska analiza proizvoda od šljive na kojoj se temelji razvoj recepture novog funkcionalnog proizvoda;
- **II:** Razvoj i optimizacija sastojaka recepture funkcionalnog proizvoda;

- III: Probna proizvodnja razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda (bez funkcionalnog dodatka) pod vakuumom i analitička karakterizacija proizvoda.

Plodovi šljive u eksperimentu pažljivo su oprani u tekućoj vodi, uklonjeni su pepeljak i peteljke, a koštice su ručno odvojene od mesa ploda. U prostorijama pilot postrojenja za preradu voća i povrća polutke šljive su prerađene do nepasirane kaše šljive i do tropa šljive kroz sledeće postupke:

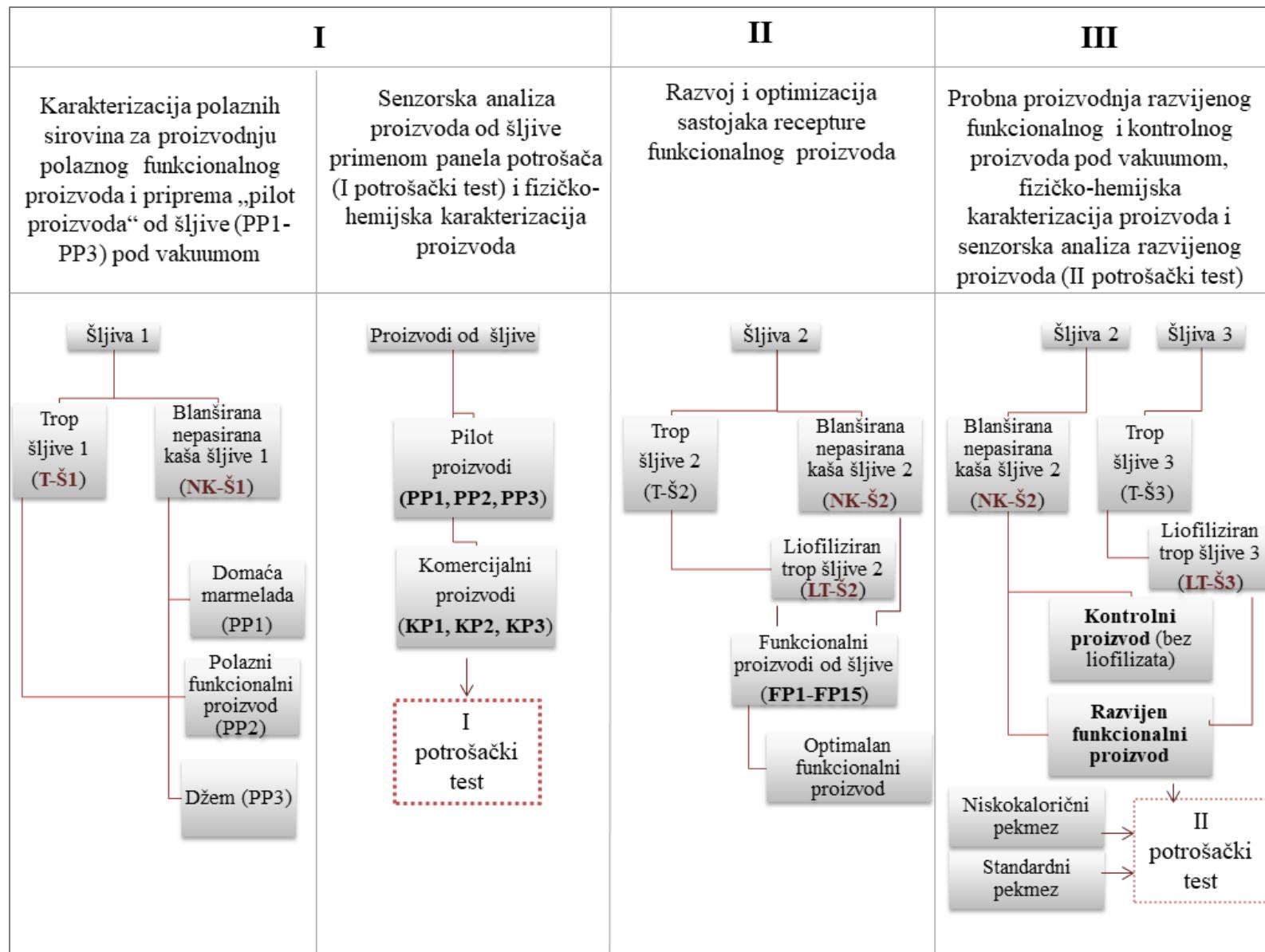
- Nepasirana kaša šljive - plodovi su usitnjeni i homogenizovani pomoću blendera (Food Processor 800 W MCM4100GB, Bosch, Nemačka), a potom je masa kratkotrajno (5 minuta) blanširana, odnosno zagrejana do temperature od 85-90 °C pri atmosferskom pritisku kako bi se inhibirali enzimi, a dobijena kaša je zamrznuta na - 20 °C. Na ovaj način je u I delu eksperimenta proizvedena *nepasirana kaša šljive 1 (NK-Š1)* od šljiva 1, dok je u II koraku proizvedena *nepasirana kaša šljive 2 (NK-Š2)* od šljiva 2. NK-Š2 primenjena je i u poslednjem, III delu eksperimenta.
- Trop šljive - polutke šljive pasirane su pomoću ručne pasirke do kaše u cilju mehaničkog odvajanja pokožice (egzokarpa) od mesa ploda. U koracima I, II i III dobijen je *trop šljive 1 (T-Š1)*, *trop šljive 2 (T-Š2)* i *trop šljive 3 (T-Š3)* (od šljiva 1, 2 i 3 redom). T-Š1 nastao je kroz jedan ciklus pasiranja šljive, dok je trop T-Š2 i T-Š3 dvostruko propasiran kako bi se poboljšalo odvajanje pokožice od mesa ploda. Da bi se sprečile enzimske promene od trenutka dezintegracije strukture ploda do proizvodnje tropa, manje količine proizvedenog tropa su pakovane u tankom sloju u plastične kese i zamrznute na - 20 °C.

Trop šljive u II i III delu eksperimentalnog rada (T-Š2 i T-Š3), podvragnut je sušenju kroz proces liofilizacije u laboratorijskim i industrijskim uslovima (redom), te je na ovaj način proizведен liofiliziran trop šljive 2 (LT-Š2) i liofiliziran trop šljive 3 (LT-Š3) (slika 14).

U disertaciji su sirovine ispitane u formi u kojoj su dalje primenjene (podebljano i obojeno crvenom bojom (slika 14) za pripremu proizvoda od šljive. Oznake svih analiziranih proizvoda od šljive u eksperimentu su podebljane na slici 14.

Za potrebe *I potrošakog testa* u odnosu na senzorska svojstva želiranih proizvoda od šljive u I delu eksperimenta korišćena su tri komercijalna proizvoda (KP1, KP2 i KP3) i tri želirana proizvoda pripremljena kuvanjem u industrijskom vakuum ukuvaču u prostorijama pilot postrojenja Instituta, nazvana pilot proizvodi (PP1, PP2, PP3) (slika 14). Izbor proizvoda ispitivanih u inicijalnom potrošačkom testu zasnovan je na postizanju širokog opsega senzorskih parametara kako bi se jasno definisali stavovi potrošača o proizvodima od šljive, što bi predstavljalo osnov za dalji razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive. Komercijalni proizvodi (KP) primenjeni su u I potrošačkom testu (I, slika 14): KP1 - pekmez od šljive; KP2 - džem od šljive; KP3 - pekmez od šljive (tradicionalno proizveden u malom prerađivačkom domaćinstvu u opštini Osečina).

Nakon optimizacije sastojaka recepture i razvoja optimalnog funkcionalnog proizvoda od šljive (II, slika 14), sprovedena je probna proizvodnja razvijenog proizvoda u vakuum ukuvaču (III, slika 14). Finalni, odnosno II potrošački test sproveden je u analizi razvijenog funkcionalnog proizvoda i dva komercijalna proizvoda (standardni i niskokalorični pekmez od šljive) (III, slika 14). Ova dva komercijalna proizvoda izabrana su na osnovu visokog pozicioniranja na Novosadskom poljoprivrednom sajmu održanom 2019. godine, gde su im dodeljene zlatne medalje u odgovarajućim kategorijama.

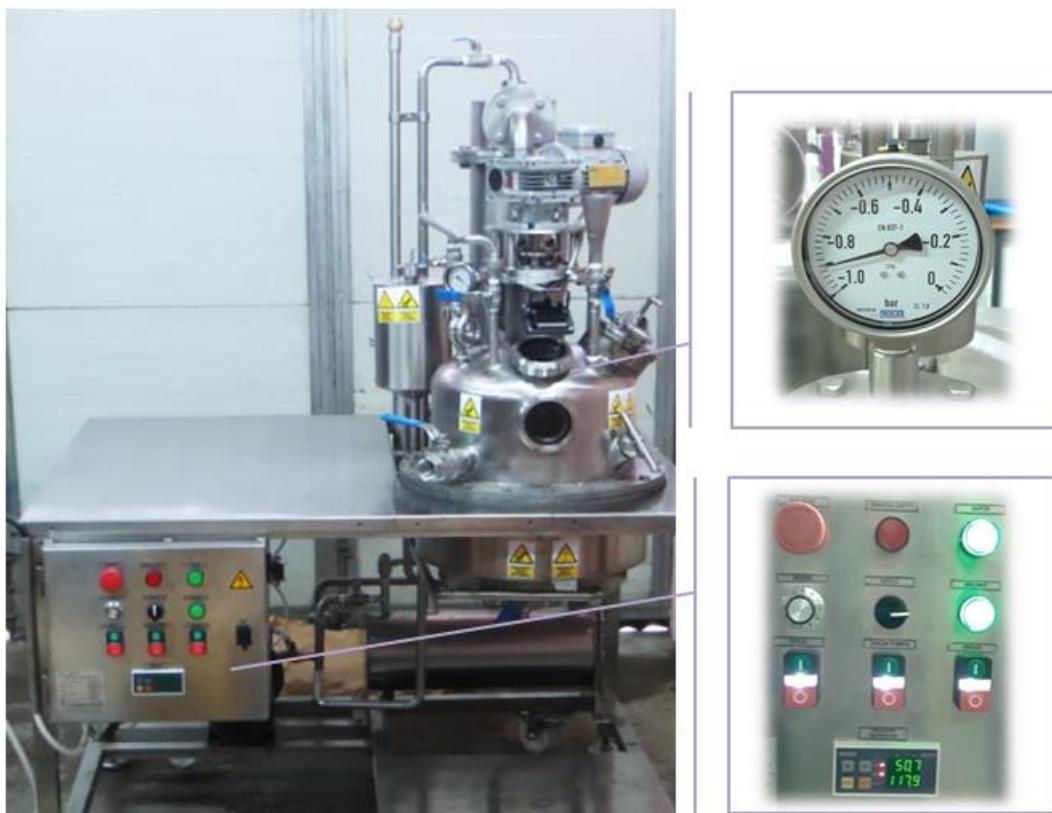


Slika 14. Sirovine i postupci korišćeni u eksperimentu

3.3. Priprema proizvoda od šljive pod vakuumom

Vakuum ukuvač primjenjen je za proizvodnju tri *pilot proizvoda* od šljive (*PP1, PP2 i PP3*) koji su uz tri komercijalna proizvoda (*KP1, KP2 i KP3*) analizirani pomoću panela potrošača u inicijalnom koraku doktorata (I, slika 14).

U procesu proizvodnje formulacija od šljive pod vakuumom primjenjen je industrijski vakuum ukuvač (Compconsult, Niš, Srbija) prikazan na slici 15, sa cilindričnim kolektorom Bridovih para. Vakuum pri kom su se uzorci ukuvali iznosio je 0,9 bara, dok je temperatura u masi uzorka iznosila oko 50 °C (slika 15).



U vakuum ukuvaču pripremljeni su eksperimentalni proizvodi od šljive različitog sastava (*PP1, PP2 i PP3*) kako bi se povećala raznolikost senzorskih osobina prezentovanih potrošačima kroz senzorsku analizu. Polazeći od senzorskih svojstava komercijalnih proizvoda (boja, tekstura/konzistencija, ukus) i fizičko-hemiskih osobina (pH, rastvorljiva suva materija), recepture pilot proizvoda bazirale su se na povećanje osega posmatranih senzorskih atributa u grupi od ukupno šest proizvoda. Konzistencija komercijalnih pekmeza bila je gusta, dok je boja bila gotovo crna i zagasito crvena u slučaju komercijalnih proizvoda *KP1* i *KP3* (redom), dok je džem *KP2* sadržao vidljive komadiće voća i bio je smeđe boje. Svi proizvodi su bili slatki i prema deklaraciji su imali veći udeo šećera u svom sastavu u odnosu na polazni funkcionalni proizvod sa dodatkom tropa. U daljem tekstu je obrazloženo na koji način su recepture *PP1, PP2 i PP3* određene, a odnos sastojaka upotrebljenih za proizvodnju pilot proizvoda prikazan je u tabeli 3.

Polazni funkcionalni proizvod (PP2) pripremljen je u pilot postrojenju vodeći se idejama o kreiranju proizvoda:

- snižene energetske vrednosti u poređenju sa standardnim proizvodima, tj. sniženim udelom šećera (ukuvan do niže vrednosti SMR);
- sa povećanim sadržajem vlakana i polifenola (time i bojenih materija), kao posledice integrisanja tropa i
- čije su se bojene materije minimalno degradirale pri kraćem periodu ukuvanja, te se time zadržala intenzivnija crvena boja proizvoda poreklom od antocijana iz šljive.

Trop (T-Š1) dodat je u polazni funkcionalni proizvod od šljive (PP2) kako bi se uvidele prve impresije potrošača i kako bi se ispitao funkcionalni potencijal ovog sastojka pre dalje optimizacije i razvoja novog proizvoda. Da bi se boja što bolje sačuvala, primenjena je askorbinska kiselina. Drugim rečima, polazni funkcionalni proizvod imao je jarkiju/življu boju, koja se razlikovala od tamnije boje komercijalnih pekmeza i smeđe boje komercijalnog džema. Pripremljen je sa manjim udelom šećera, te je u grupi od šest proizvoda bio najmanje sladak.

U proizvod PP2 dodata je eksperimentalna količina tropa od 10% i 75% nepasirane kaše u odnosu na početnu smešu sastojaka pre kuvanja, i približno po 7% vode i šećera. Voda je dodata kako bi se lakše manipulisalo tropom pri proizvodnji. Odnos sastojaka potrebnih za pripremu PP2 prikazan je u tabeli 3.

Tabela 3. Pregled sastojaka upotrebljenih za proizvodnju receptura proizvoda u pilot postrojenju (PP1, PP2 i PP3)

	Sastojak	domaća maremelada	polazni funkcionalni proizvod	džem
		PP1	PP2	PP3
Udeo sastojka (%, m/m)	NK-Š1	51,4	75	70
	T-Š1	-	10	-
	Limunska kiselina	0,05	0,5	-
	Askorbinska kiselina	-	0,04	-
	Šećer	48,5	7	30
	LM pektin	-	1	-
	CaCl ₂ ×2H ₂ O	-	0,08	-
	Voda	-	6,38	-

NK-Š1- nepasirana voćna kaša šljiva 1; T-Š1 - trop šljiva 1 (I, slika 14).

Da bi se osiguralo želiranje sistema PP2 sa niskom rastvorljivom suvom materijom, upotrebljen je LM pektin (1%) i 0,1% kalcijuma u formi CaCl₂ × 2H₂O da bi se obezbedila prosečna potrebna koncentracija Ca²⁺ od oko 75-120 mg/g dodatog pektina (<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-proizvodnje-dzema-marmelade-i-zelea>). Minimalna koncentracija pektina u džemovima je oko 1% prema Shinwari i Rao (2018), a s obzirom da se smeša kratko kuva (do niske SMR), primenjen je pektin u koncentraciji od 1% kako bi ukupno raspoloživ pektin bio dovoljan da se odigra proces želiranja (uz pektin poreklom iz sirovina). U priručnicima za primenu svojih proizvoda, svetski poznata kompanija za proizvodnju pektina (Herbstreith & Fox) preporučuje koncentraciju niskoesetrifikovanog pektina

od oko 1% za preradu do želiranih proizvoda sa $\text{SMR} < 55$ °Brix (dijetetski voćni namaz i niskokalorični ekstra džem, 50 i 30 °Brix, redom). Sve pomenuto je uticalo na odabir eksperimentalne koncentracije LM pektina od 1% za izradu recepture PP2. Dodatak limunske kiseline određen je pomoću probnih eksperimenata, kako bi vrednost pH bila u opsegu preporučenih vrednosti (prema preporukama proizvođača Vinipex d.o.o; 3,0-3,6), ali bliža 3,0 što bi proizvod učinilo kiselijim u relaciji sa proizvodima koji će potrošači analizirati. Polazni proizvod je pripremljen sa najvećom količinom voća (1350g/1000g gotovog proizvoda) i proces kuvanja prekinut kada je dostignuta vrednost SMR od 30 °Brix-a.

Pravilnik o kvalitetu voćnih džemova, želeta, marmelade, pekmeza i zaslađenog kesten pirea (Sl. glasnik RS br. 101/2015) poslužio je kao vodič za razvoj eksperimentalnih receptura uzoraka PP1 i PP3 koji se mogu okarakterisati kao domaća marmelada i džem od šljiva (respektivno). Suprotno od polaznog funkcionalnog proizvoda, PP1 je ukuvavan do većih vrednosti SMR i uz dodatak najveće koncentracije šećera, kako bi se ispitali afiniteti potrošača prema slađim proizvodima. Priprema domaće marmelade podrazumevala je upotrebu manjih količina voća u poređenju sa džemom, te su tako PP1 i PP3 ukuvavani sa manjom i većom količinom voća (redom). Džem PP3 pripremljen je bez dodatka limunske kiseline (dok je u PP1 dodata), da bi se analizirala dopadljivost ukusa u proizvodu u kojem dominiraju prirodno prisutni šećeri i kiseline iz šljive. Kao posledica primene sirovine u formi nepasirane kaše, postignuta je homogenija tekstura džema PP3 koja se razlikovala od teksture komercijalnog džema (KP2), u kojoj su bili vidljivi komadići voća.

Odnos sastojaka u formulacijama PP1 i PP3 izračunat je polazeći od sadržaja voća u gotovom proizvodu i zadatih vrednosti SMR do kojih se proizvodi pripremaju. Za proizvodnju 1000 g finalnih *pilot proizvoda* PP1 i PP3 potrebno je bilo 600 i 1000 g voća (redom), dok su vrednosti SMR iznosile redom 67 i 60 °Brix-a. Na osnovu količine finalnog proizvoda ($m=20$ kg), SMR gotovih proizvoda i sadržaja voća u proizvodu, izračunata je ukupna SMR koju poseduje 20 kg proizvoda, količina voća koju je potrebno preraditi, a potom je izračunata SMR poreklom iz voća (množeći masu voća potrebnu za 20 kg proizvoda i SMR šljive NK-Š1). Na osnovu razlike između ukupne SMR (gotovog proizvoda) i SMR (poreklom iz voća u gotovom proizvodu) izračunata je potrebna količina šećera za proizvodnju 20 kg proizvoda PP1 i PP3.

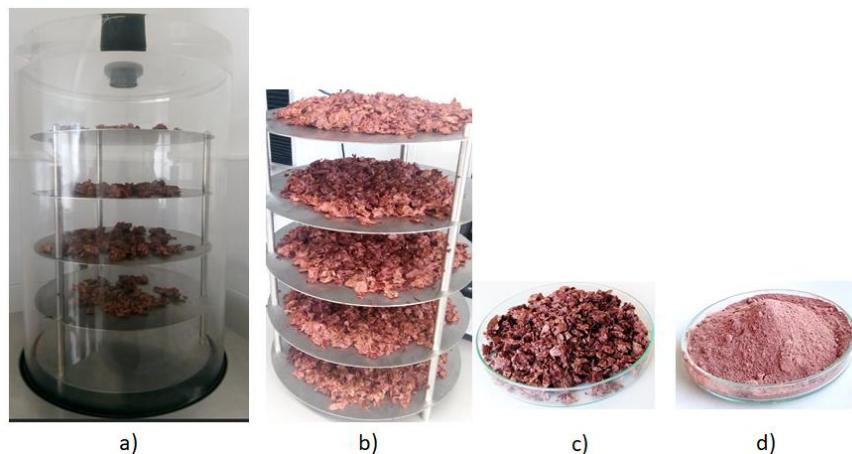
Uzorci PP1 i PP3 pripremljeni su ukuvavanjem smeše sastojaka, bez dodatka vode. Trop T-Š1 homogenizovan je sa vodom i nepasiranom kašom šljive 1 (NK-Š1), te je smeša primenjena u proizvodnji PP2. LM pektin, prethodno homogenizovan sa šećerom, dodat je u ukuvač primenom vakuma nakon otparavanja određenog dela vode. Limunska kiselina (50% rastvor) (u slučaju PP1 i PP2) i kalcijum rastvoren u maloj količini vode (samo kod PP2) dodati su u smešu pri proizvodnji. Monitoring SMR tokom ukuvavanja i završetak procesa izvršen je pomoću prenosivog ručnog refraktometra (OPTI Digital Handheld Refractometer, Bellingham + Stanley, Velika Britanija). Nakon punjenja prethodno zagrejanih staklenki (370 ml), uzorci su pasterizovani na 85 °C, 1h.

3.4. Liofilizacija tropa od šljive i priprema funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa šljive

3.4.1. Liofilizacija tropa u laboratorijskim uslovima

Zamrznut trop proizveden od šljive 2, T-Š2 (II, slika 14) podvrgnut je procesu liofilizacije u laboratorijskim uslovima primenom Martin Christ Freeze Dryer, Alpha 2-4 LD plus uređaja (Osterode an Harz, Germany). Trop je u zamrznutom stanju uniformno raspoređen na pet polica uređaja i liofilizacija je trajala tokom perioda od 48 h, bez zagrevanja polica (slika 16). Temperatura u kondenzatoru leda je bila - 83 °C, dok je pritisak vakuma u komori za sušenje u finalnoj fazi sušenja dostigao 0,0024 mbar (inicijalno je vakuum podešen na 0,0012 mbar).

Dobijeni porozni i osušen materijal (slika 16c) samleven je do praha primenom mlina Knifetec 1095 Sample Mill (FOSS, Germany). Liofiliziran trop prosejan je kroz sistem sita (800, 500, 400 i 200 µm), a u daljoj analizi je korišćena dominantna frakcija (200-400 µm) (92%). Liofiliziran trop (sa sadržajem vlage ≈ 3,6%). (slika 16d) čuvan je u plastičnim posudama na tamnom i suvom mestu. Ovako pripremljen liofiliziran trop šljive 2 (LT-Š2) korišćen je u fazi optimizacije formulacije uzorka (II, slika 14).



Slika 16. a) Komora za sušenje Martin Christ Freeze Dryer, Alpha 2-4 LD plus laboratorijskog liofilizatora, b) osušen trop od šljive na policama liofilizatora, c) liofiliziran trop i d) prah od liofiliziranog tropa (LT-Š2)

3.4.2. Proizvodnja funkcionalnih proizvoda na bazi šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa u laboratorijskim uslovima

Voćni proizvodi sa funkcionalnim dodatkom pripremljeni su sa različitim udelima liofiliziranog tropa (LT-Š2), LMA pektina i saharoze, kao izabranih parametara od interesa za optimizaciju formulacije proizvoda, kako je objašnjeno u publikovanom radu Bajić i sar. (2020). Sastoјci su kombinovani na tri različita nivoa (m/m) u odnosu na početnu masu smeše (pre kuvanja) prema zadatom eksperimentalnom dizajnu (tabela 4) i proizvđeno je 15 funkcionalnih proizvoda (FP1-FP15) (II, slika 14). Proces pripreme odvijao se na atmosferskom pritisku.

Nepasirana kaša od šljive (NK-Š2) korišćena je u istoj količini u svim proizvodima (70%), dok je voda dodata kako bi se postiglo 100% početne smeše. Prah od liofiliziranog tropa

LT-Š2 homogenizovan je sa $\frac{3}{4}$ ukupne količine šećera, a zatim je pomešan sa kašom od šljive i vodom (kod uzoraka gde je potreban dodatak vode). Smeša sastojaka je potom zagrevana do postizanja temperature ključanja, zatim je dodata preostala $\frac{1}{4}$ šećera sa LMA pektinom i proces proizvodnje je nastavljen na 82 ± 1 °C. Limunska kiselina korišćena je kao 50% rastvor u zapremini neophodnoj da se postigne 0,1 g limunske kiseline na 100 g finalnog proizvoda.

Prateći preporuke proizvođača o načinu primene LMA pektina i rastvorljive suve materije (SMR) do koje je potrebno ukuvavati voćne proizvode, voda je otparavana u svim formulacijama do postizanja 40 °Brix, a kraj procesa je određen pomoću prenosivog digitalnog refraktometra (OPTI Digital Handheld Refractometer, Bellingham + Stanley, Velika Britanija).

Funkcionalni proizvodi od šljive preneti su u sterilne staklenke (210 ml) u kojima su čuvani do daljih analiza.

Tabela 4. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn i prikaz kombinacija promenljivih parametara i preostalih sastojaka recepture

Formulacija funkcionalnog proizvoda	NEZAVISNO PROMENLJIVE				NK-Š2 (%)	Voda (%)
	Liofiliziran trop LT-Š2 (%)	Saharoza (%)	LMA pektin (%)			
FP1	2	10	0,1		70	17,9
FP2	10	10	0,1		70	9,9
FP3	2	20	0,1		70	7,9
FP4	10	20	0,1		70	0*
FP5	2	15	0		70	13,0
FP6	10	15	0		70	5,0
FP7	2	15	0,2		70	12,8
FP8	10	15	0,2		70	4,8
FP9	6	10	0		70	14,0
FP10	6	20	0		70	4,0
FP11	6	10	0,2		70	13,8
FP12	6	20	0,2		70	3,8
FP13	6	15	0,1		70	8,9
FP14	6	15	0,1		70	8,9
FP15	6	15	0,1		70	8,9

(%) se odnosi na udeo sastojaka u ukupnoj smesi sastojaka pre kuvanja funkcionalnog proizvoda;

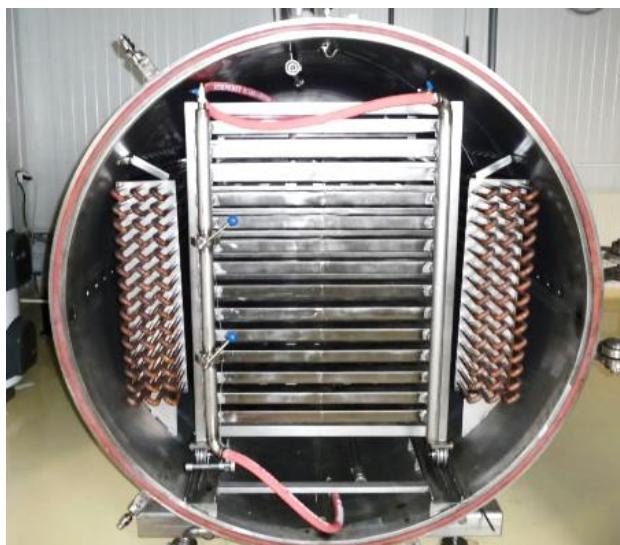
*FP4 - % dodate vode je negativan(-0,1%), te je naznačeno da je vrednost 0.

3.4.3. Liofilizacija tropa u industrijskim uslovima

Liofiliziran trop proizведен od šljive 3 (III, slika 14) proizведен je na uređaju industrijskih razmara, odnosno na liofilizatoru tipa FD 100 proizvodnje PIGO-Beograd (slika 17). Kapacitet uređaja je 100 kg ulazne sirovine.

Proces liofilizacije na FD 100 sproveden je pri vakuumu od 99,8 do 99,9 kPa (998 do 999 mbar), pri temperaturi na isparivačima od -45 do -50°C. Na početku sušenja temperatura u sirovini iznosila je -35°C, a do kraja procesa dospjela je 35°C. Sušenje na ovom tipu uređaja zavisi od vrste sirovine i može se kretati od 16 do 20h.

Trop proizveden od šljive 3 podvrgnut je liofilizaciji u trajanju od 16h. Dobijen trop je samleven (Knifetec 1095 Sample Mill, FOSS, Germany), a za dalji rad je korišćena frakcija od 200-400 µm nakon prosejavanja. Osušen i prosejan trop označen je kao LT-Š3 i primjenjen je u pripremi optimalnog i razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive u vakuum ukuvaču u fazi 3 (slika 14).



Slika 17. Industrijski liofilizator korišćen za sušenje tropa iz prerade šljive i proizvodnju liofiliziranog tropa LT-Š3 (preuzeto sa: <http://dibaladoo.com/>)

3.4.4. Proizvodnja razvijenog funkcionalnog proizvoda na bazi šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa pod vakuumom

Nakon optimizacije formulacije funkcionalnog proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa u laboratorijskim uslovima (II, slika 14), sprovedena je proizvodnja razvijenog funkcionalnog proizvoda primenom vakuum ukuvača (III, slika 14). Razvijen funkcionalni proizvod pripravljen je od nepasirane kaše šljive 2 (NK-Š2) i liofiliziranog tropa šljive 3 (LT-Š3) (III, slika 14) po recepturi koja se izdvojila kao optimalna u prethodnoj fazi. Količina sastojaka je srazmerno povećana kako bi početna masa u ukuvaču iznosila 10 kg. Pri istim uslovima proizveden je kontrolni proizvod od šljive (bez dodatka liofilizata), a receptura je izmenjena u odnosu na razvijeni proizvod kroz supstituisanje liofiliziranog tropa jednakom količinom vode. Razvijeni i kontrolni proizvod ukuvani primenom vakuum ukuvača (slika 15) pri vakuumu od 0,9 bara i temperaturi od oko 50 °C u masi ukuvavanog proizvoda. Formulacije su ukuvavane do 40 °Brix-a, pri čemu je kraj procesa određen pomoću prenosivog refraktometra (OPTI Digital Handheld Refractometer, Bellingham + Stanley, Velika Britanija). Pasterizacija (85 °C, 1h) je sprovedena nakon punjenja staklenki (370 ml).

3.5. Metode rada

3.5.1. Analitičke metode ispitivanja fizičko-hemijskih osobina sirovina, proizvoda od šljive i mikrobiološka ispravnost razvijenog funkcionalnog i kontrolnog proizvoda

Sadržaj suve materije analiziran je gravimetrijskom metodom u sirovinama (liofiliziran trop, nepasirana kaša šljive) i proizvodima upotrebljenim pri testiranju potrošača (6 želiranih proizvoda od šljive upotrebljenih u definisanju preferencija potrošača) prema Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća (Sl. list SFRJ, br. 29/83). Sadržaj vlage dobijen je oduzimanjem procenta sadržaja suve materije od 100. Određene su vrednosti sadržaja vlage u tropu šljive 2 i tropu šljive 3, koji su podvrnuti sušenju u laboratorijskom i industrijskom liofilizatoru (redom) prateći masu uzorka pre i posle sušenja. Potom je određen ukupan sadržaj suve materije u dobijenim liofilizatima LT-Š1 i LT-Š2, kako je prethodno opisano.

Ukupna (TDF), rastvorljiva (SDF) i nerastvorljiva (IDF) prehrambena (dijetna) vlakna (eng. Total Dietary Fibre - TDF, Soluble Dietary Fibre - SDF, Insoluble Dietary Fibre - IDF) određena su u sirovinama NK-Š2 i LT-Š2, a ukupna dijetna vlakna svim sirovinama i finalnom funkcionalnom i kontrolnom proizvodu od šljive prema AOAC 991.43 i AACC 32-07.01.

Frakcije pektinskih materija u sirovinama (trop T-Š1, liofiliziran trop LT-Š2 i LT-Š3, nepasirana kaša šljive NK-Š1 i NK-Š2) određene kolorimetrijskom karbazolnom metodom koja je opisana kod Ćirića i i sar. (1975), a metoda je modifikovana u pogledu redukcije zapremina reagensa i ekstrakata. Odmereno je $\approx 0,2$ g liofiliziranog tropa i ≈ 1 g nepasirane kaše šljive. Frakcionisanje je izvedeno do:

- *pektininske kiseline (pektina)* - frakcija rastvorljiva u vodi;
- *pektinske kiseline* - frakcija rastvorljiva u amonijum-oksalatu;
- *protopektina* - frakcija rastvorljiva u alkalijama.

U finalnom razvijenom optimalnom i kontrolnom proizvodu od šljive, pored vlage i vlakana, određen je sadržaj pepela, proteina, masti i ukupnih šećera i preračunata je energetska vrednost proizvoda.

Sadržaj pepela određen je gravimetrijski, dok je sadržaj ukupnih šećera određen Luff-Schoorlovom metodom (Sl. list SFRJ, br. 29/83). Sadržaj sirovih proteina u uzorcima određen je metodom po Kjelhdal-u (Vračar, 2001), a sadržaj masti metodom po Soxhlet-u (Vračar, 2001).

Ukupni ugljeni hidrati određeni su kao razlika: 100 - (sadržaj proteina + masti + vlakana + vlage + pepeo) (FAO, 2003). Množeći ideo nutritivno važnih komponenti (proteini, masti, ugljeni hidrati, vlakna) sa odgovorajućim faktorima definisanim u Pravilniku o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane (Sl. glasnik RS, 19/2017-10, 16/2018-33, 17/2020-35, 118/2020-22, 17/2022-14, 23/2022-70, 30/2022-33) i sumiranjem vrednosti dobijenih vrednosti, izračunata je *energetska vrednost* proizvoda od šljive.

Sadržaj rastvorljive suve materije (SMR) izmeren je pomoću laboratorijskog stonog refraktometra (ATR ST Plus, Schmidt + Haensch, Germany) u nepasiranoj kaši šljive i svim proizvodima od šljive. Vrednost rastvorljive suve materije tokom procesa kuvanja i završetak procesa kuwanja funkcionalnih proizvoda (FP1-FP15) i proizvoda od šljive pripremljenih pod vakuumom praćena je prenosivim ručnim digitalnim refraktometrom (OPTI Digital Handheld Refractometer, Bellingham + Stanley, Velika Britanija).

pH vrednost u želiranim proizvodima od šljive izmerena je pomoću pH-metra opremljenim sa sondom za korekciju temperature (Denver Instrument, SAD).

Aktivnost vode (a_w vrednost) proizoda sa dodatkom liofiliziranog tropa šljive izmerena je primenom a_w - metra Testo 650 (TESTO, AG, Sparta, SAD).

Kapacitet vezivanja vode (Water Retention Capacity, WRC) određen je za liofiliziran trop šljive 3 (LT-Š3). Nakon 18h sati hidriranja 2 g liofiliziranog praha sa 30 ml vode na sobnoj temperaturi u kiveti, uzorci su podvrgnuti zagrevanju na dve različite temperature (50 i 80°C), ohlađeni, centrifugirani (20 min, 3000 g) i višak vode je dekantovan. Izmerena je masa taloga, a rezultat parametra WRC izračunat je prema formuli (Robertson i sar., 2000):

$$WRC \text{ (g/g)} = \frac{m_{vlažnog\ taloga} - m_{liofilizata}}{m_{liofilizata}} \quad (1)$$

Temperature od 80 i 50°C odgovaraju temperaturama kuvanja u laboratorijskim uslovima (na atmosferskom pritisku) i u vakuum ukuvaču (redom posmatrano).

Mikrobiološka ispravnost finalnog optimalnog funkcionalnog proizoda i kontrole (bez liofiliziranog tropa) obuhvatala je određivanje broja *Enterobacteriaceae* i kvasaca i plesni, te su primenjene sledeće metode:

- horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* - Deo 2: metoda brojanja kolonija (SRPS EN ISO 21528-2:2017), temperatura inkubiranja 37°C i
- horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni - Deo 1: tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode većom od 0,95 (SRPS ISO 21527-2:2011).

3.5.2. Ekstrakcija fenolnih komponenti

Ekstrakcija fenolnih komponenti iz sirovina (trop T-Š1, liofiliziran trop LT-Š2 i LT-Š3 i nepasirana kaša šljive NK-Š1 i NK-Š2) i proizvoda od šljive podrazumevala je primenu dve vrste ekstragensa: metanol/voda (80/20, v/v) i etanol/voda/HCl (70/29/1, v/v/v).

Priprema ekstrakata sprovedena je po proceduri opisanoj u radu Bajić i sar. (2020). Odmerena je masa uzorka od oko 5 g (trop T-Š1, nepasirana kaša od šljiva, proizvodi od šljive) ili 2 g (u slučaju liofiliziranog tropa) u kivetu za centrifugu zapremine 50 ml. Dodato je 20 ml ekstragensa i izvršena je intenzivna homogenizacija pomoću digitalnog homogenizatora (T25 digital Ultra - Turrax, IKA-Werke GmgH & Co. KG, Germany) sa prečnikom rotora od 12,7 mm (10000 rpm, 1 min).

Zatim su ekstrakti podvrgnuti ultrazvučnoj ekstrakciji pri uslovima od 50 °C, tokom 30 min, kao što je opisano u metodi Medina-Meza i Barbosa-Cánovas (2015), sa modifikacijom u pogledu ultrazvučnog izvora, te je u ovoj disertaciji korišćena ultrazvučna kada (VTUSC6, Vellman, Belgium). Suspenzija je potom centrifugirana (4000 rpm, 10 min, 20 °C) pomoću centrifuge (Centrifuge 5804R, Eppendorf, Germany) i supernatant je profiltriran kroz filter hartiju (grade 1288, Munktell & Filtrak GMBh, Germany).

Metanolni ekstrakti korišćeni su za spektrofotometrijsko određivanje sadržaja ukupnih fenola, sadržaja ukupnih flavonoida, antioksidativne aktivnosti prema slobodnom DPPH radikalu i određivanje fenolnih komponenti viskokopritisnom tečnom hromatografijom, dok je etanolni ekstrakt korišćen za spektrofotometrijsko određivanje ukupnih monomernih antocijana.

3.5.2.1. *Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih komponenti*

Sadržaj ukupnih fenolnih komponenti u uzorcima (*eng.* Total Phenolic Content, TPC) određen je spektrofotometrijski na osnovu prethodno publikovane metode (Singleton i sar., 1998).

Metoda je utemeljena na merenju redukujućeg kapaciteta fenola. Naime, fenolna jedinjenja pri disocijaciji daju proton i fenoksidni anjon (fenoli se oksiduju donirajući elektron u alkalnoj sredini). Novonastali fenoksidni anjon redukuje FC reagens (Folin-Ciuncateu reagens) do kompleksa plave boje, a intenzitet plave boje srazmeran je količini fenolih jedinjenja u rastvoru.

Metanolni ekstrakti pripremljeni su kako je prethodno objašnjeno, a serija standarnih rastvora galne kiseline (100 - 1800 µg/ml) primenjena je za konstruisanje kalibracione krive. Apsorbanca reakcione smeše očitana je na 760 nm primenom UV-Vis spektrofotometra (UV-1800, Shimadzu, Japan). Nakon očitavanja apsorbance, sa kalibracione krive određena je masena koncentracija rastvorljivih fenolnih jedinjenja u metanolnim ekstraktima (mg/ml). Konačan rezultat izražen je u ekvivalentima galne kiseline na 100 g suve materiju uzorka (mg EGK/100 g s.m.) i/ili na 100 g uzorka (mg EGK/100 g).

3.5.2.2. *Određivanje sadržaja ukupnih flavonoida*

Sadržaj ukupnih flavonoida (*eng.* Total Flavonoids Content, TFC) određen je kolorimetrijskom metodom korišćenjem aluminijum(III)-hlorida kao reagensa (Kim i sar., 2003b). Metoda je zasnovana na svojstvima flavonoida da sa metalima grade metalo-komplekse. Apsorbanca reakcione smeše očitana je na 510 nm, koristeći UV-Vis spektrofotometar (UV-1800, Shimadzu, Japan).

Kalibraciona kriva je pripremljena pomoću serije standardnog rastvora katehina. Uz pomoć kalibracione krive određena je masena koncentracija flavonoida u metanolnim ekstraktima (mg/ml), a potom je sadržaj ukupnih flavonoida u uzorcima predstavljen u ekvivalentima katehina na 100 g suve materije uzorka (mg EK/100 g s.m.) i/ili 100 g uzorka (mg EK/100 g).

3.5.2.3. *Određivanje sadržaja ukupnih monomernih antocijana*

Sadržaj ukupnih monomernih antocijana (*eng.* Total Monomeric Anthocyanins, TMA) određen je pH-diferencijalnom metodom (Giusti i Wrolstad, 2005). Antocijani podležu reverzibilnim strukturnim transformacijama pri promeni pH, što se manifestuje u različitim apsorpcionim spektrima. Obojeni oksonijum ion (naranzaste do ljubičaste boje) je zastupljen pri pH 1, dok je bezbojni poluketalni oblik dominantan pri pH 4,5. Zasnovana na ovim reakcionim promenama, pH diferencijalna metoda omogućava tačna i brza merenja antocijana, čak i u prisustvu degradiranih polimerizovanih pigmenata i drugih interferirajućih jedinjenja u smeši (Giusti i Wrolstad, 2005). Kalijum hloridni i natrijum acetatni pufer (pH 1,0 i 4,5, redom) pripremljeni su prema uputstvu datom u Giusti i Wrolstad (2005), a za analizu antocijana primeljeni su alikvoti od 2 ml etanolnog ekstrakta. Nakon homogenizacije sa puferima reakciona smeša (ukupne zapremine 10 ml) je inkubirana 15 min. Potom su određene apsorbance u obe reakcione smeše na 534 i 700 nm primenom UV-Vis spektrofotometra (UV-1800, Shimadzu, Japan). Koncentracija monomernih antocijana u ekstraktima izračunata je prema sledećoj formuli:

$$\text{Koncentracija monomernih antocijana } \left(\frac{\text{mg}}{\text{l}} \right) = (A \times M \times F \times 1000) / (\varepsilon \times l) \quad (2)$$

A - apsorbanca razblaženog etanolnog ekstrakta;

M - molekulska masa cijanidin 3-rutinozida (595,16 g/mol);

F - faktor razblaženja (5);

ε - molarni (ekstinkcioni) koeficijent cijanidin 3-rutinozida (32800 l/mol·cm);

l - debljina kivete (1 cm)

A se izračunava prema formuli:

$$A = (A_{534} - A_{700})_{pH\ 1} - (A_{534} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (3)$$

Vrednost molarnog ekstinkcionog koeficijenta cijanidin 3-rutinozida (u zakišeljenom etanolu) u jednačini 2 preuzeta je iz prethodnih istraživanja (Cinquanta i sar., 2002), a cijanidin 3-rutinozid je odabran kao dominantan antocijanin u šljivi, kako je obrazloženo u poglavljju 2.4.1. Konačan rezultat izražen je u ekvivalentima cijanidin 3-rutinozida na 100 g suve materije uzorka (mg ECR/100 g s.m.) i/ili 100 g uzorka (mg ECR/100 g).

3.5.2.4. Određivanje antiradikalske aktivnosti na DPPH radikal

Antiradikalska aktivnost metanolnih ekstrakata prema 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalu ispitana je indirektnom spektrofotometrijskom metodom (Peinado i sar., 2015).

Metoda je zasnovana na redukciji DPPH radikala u prisutvu antioksidanata koji se ponašaju kao donori elektrona ili protona, pri čemu DPPH radikal prelazi u neutralnu formu (DPPH-H). U svojoj slobodnoj formi DPPH radikal apsorbuje svetlost na 515 nm, ali pri redukovani koncentraciji u prisustvu antioksidanata apsorbanca DPPH se smanjuje (Peinado i sar., 2005). Pripremljena je serija rastvora DPPH reagensa u metanolu (50 - 200 mg/l). Alikvoti od 100 µl metanolnih ekstrakata (uzoraka) preneti su u epruvete sa 3,9 ml DPPH rastvora. Nakon inkubacije (60 min) na tamnom mestu, apsorbance kontrole i uzorka su očitane na 515 nm primenom UV-Vis spektrofotometra (UV-1800, Shimadzu, Japan). Antiradikalska aktivnost (eng. Radical Scavenging Activity, %RSC) izračunata je prema formuli:

$$\%RSC = \left(\frac{A_{kontrola} - A_{uzorka}}{A_{kontrola}} \right) \times 100 \quad (4)$$

%RSC - % antiradikalske aktivnosti (% inhibiranih DPPH radikala);

$A_{kontrola}$ - apsorbanca DPPH rastvora na 515 nm pre dodatka uzorka;

A_{uzorka} - apsorbanca DPPH rastvora na 515 nm nakon dodatka uzorka.

Nakon konstruisanja krive zavisnosti između %RSC i koncentracija ekstrakata, izračunata je antioksidativna aktivnost.

Rezultat je izražen kao IC₅₀ vrednost (eng. Inhibitory Concentration) (mg/ml), koja predstavlja koncentraciju test rastvora pri kojoj se inhibira 50% slobodnih DPPH radikala.

3.5.3. Određivanje šećera, organskih kiselina i individualnih fenolnih jedinjenja visokopritisnom tečnom hromatografijom

3.5.3.1. *Ekstrakcija organskih kiselina i šećera*

Za ekstrakciju organskih kiselina i šećera iz matriksa uzorka primenjena je destilovana voda. Uzorci koji su podvrgnuti analizi šećera i kiselina su: sirovine korišćene za pripremu proizvoda, šest proizvoda od šljive primenjenih u inicijalnom potrošačkom tesiranju (PP1, PP2, PP3, KP1, KP2, KP3) i razvijeni funkcionalni proizvod proizveden u vakuum ukuvaču.

U kivetu za centrifugu zapremine 50 ml odmerena je masa uzorka (liofiliziran trop LT-Š2 i LT-Š3 \approx 0,5 g; proizvodi od šljive \approx 1 g; trop T-Š1 i nepasirana kaša od šljive NK-Š2-1 i NK-Š2 \approx 3 g), a zatim je dodato 30 ml destilovane vode. Sadržaj kivete intenzivno je promućkan (1 min), a zatim je dodatno homogenizovan pomoću vortex mešalice (1 min). Uzorci su centrifugirani (10000 rpm, 4 °C, 5 min) koristeći uređaj Centrifuge 5804R (Eppendorf, Germany), a dobijeni supernatant profiltriran je kroz filter hartiju (grade 1288, Munktell & Filtrak GMBh, Germany). Alikvot od 1 ml (dobijenog filtrata) pomešan je sa 2 puta većom zapreminom acetonitrila. Tako pripremljen esktrakt skladišten je na -18 °C do analize šećera (fruktoza, glukoza i saharoza) i kiselina (limunska, jabučna i čilibarna). Neposredno pre analize uzorci su intenzivno promućkani i profiltrirani kroz hidrofilne PTFE filtere (veličina pora je 0,45 µm).

3.5.3.2. *Određivanje šećera HPLC- ELSD metodom*

Određivanje šećera visokopritisnom tečnom hromatografijom (*eng. High Performance Liquid Chromatoraphy, HPLC*) izvedeno je na tečnom hromatografu (Agilent 1200 series, Paolo Alto, CA, SAD) opremljenom kolonom Zorbax Carbohydrate (5 µm - veličina punjenja, 4,6 × 250 mm) (Agilent Technologies Inc., SAD) i detektorom rasipanja svetlosti na ispitivanom uzorku (*eng. Evaporative Light Scattering Detector, ELSD*) (Agilent Technologies, SAD). Pritisak u ELSD detektoru bio je 3,5 bara, a temperatura isparivača unutar uređaja iznosila je 40°C. Pritisak i temperatura u koloni iznosili su \approx 74 bara i 35 °C. Kao mobilna faza korišćena je izokratska smeša acetonitrila i destilovane vode (65/35, v/v), pri protoku mobilne faze od 1,1 ml/min. Zapremina injektovanja iznosila je 10 µl, a injektovanje je izvršeno automatski, pomoću autosemplera. Ukupno vreme određivanja bilo je 15 min, dok je pauza između dve analize trajala 1,5 min.

Pikovi šećera na hromatogramu identifikovani su na osnovu poređenja sa retencionim vremenima standarda. Kvantifikacija je sprovedena integracijom površine dobijenih pikova i primenom kalibracione krive kreirane pomoću serije standarda šećera poznatih koncentracija.

3.5.3.3. *Određivanje organskih kiselina HPLC- DAD metodom*

HPLC određivanje organskih kiselina izvedeno je na tečnom hromatografu (Agilent 1200 series, Paolo Alto, CA, SAD), koristeći detektor na bazi niza dioda (*eng. Diode Array Detector, DAD*) (Agilent Technologies, SAD), na koloni Nucleogel Sugar 810H (8 - 10 µm veličina punjenja, 7,8 × 300 mm) (Macherey-Nagel, Düren, Germany). Kao mobilna faza upotrebljena je 5 mM H₂SO₄, a protok rastvarača kroz kolonu je bio podešen na 0,5 ml/min. Pritisak i temperatura u koloni iznosili su \approx 25 bara i 65°C. Primjenjen je izokratski režim rada. Zapremina

injektovanja iznosila je 10 µl, a injektovanje je bilo automatsko. Ukupno vreme određivanja bilo je 25 min, dok je pauza između dve analize trajala 1,5 min. Hromatogrami su snimani na talasnoj dužini od 210 nm.

Organske kiseline (limunska, jabučna i čilibarna) identifikovane su u uzorcima na osnovu poređenja sa retencionim vremenima i karakteristikama spekatara standarda. Kvantifikacija je sprovedena integracijom površine dobijenih pikova i primenom kalibracione krive kreirane pomoću serije standarda organskih kiselina poznatih koncentracija.

3.5.3.4. *Određivanje fenolnih komponenti HPLC metodom*

Analiza fenolnih komponenti izvedena je prema metodi Mišan i sar. (2011), visokopritisnom tečnom hromatografijom, na tečnom hromatografu (Agilent 1200 series, Paolo Alto, CA, SAD), koristeći detektor sa nizom dioda (eng. Diode Array Detector, DAD) (Agilent Technologies, SAD) i kolonu Agilent, Eclipse XDB-C18 (1,8 µm, unutrašnji prečnik $4,6 \times 50$ mm; veličina punjenja 1,8 µm) pri čemu je primenjen protok rastvarača od 1 ml/min. Mobilna faza sastojala se od rastvarača A (metanol) i rastvarača B (1% mravlja kiselina u vodi, v/v), a tokom hromatografskog razdvajanja korišćen je gradijentni mod koji je podrazumevao sledeći odnos faza: početni odnos 10% A; 0-10 min, 10-25% A; 10-20 min, 25-60% A; 20-30 min, 60-70% A. Ukupno vreme analize i vreme ispiranja kolone bilo je 45 i 10 min, respektivno. Temperatura unutar kolone bila je 30 °C, a injektovana zapremina uzorka i standarda iznosila je 5 µl. Injektovanje je sprovedeno automatski, koristeći autosempler. Spektar je podešen na snimanje u opsegu između 210 i 400 nm, a hromatogrami su snimljeni na 280, 330 i 350 nm.

Identifikacija fenolnih komponenti zasniva se na poređenju retencionih vremena i spektralnih karakteristika nepoznatih fenolnih jedinjenja iz ekstrakta sa odgovarajućim spoljašnjim standardima fenolnih jedinjenja: neohlorogenska kiselina, katehin, hlorogenska kiselina, kafena kiselina, p-kumarinska kiselina, ferulna kiselina, rutin, kvercetin, cijanidin 3-glukozid i cijanidin 3-rutinozid.

Kvantifikacija je sprovedena pomoću metode spoljašnjeg standarda, odnosno primenom kalibracionih kriva kreiranih pomoću serije standarda poznatih koncentracija.

Uzorak za analizu je pripremljen kako je prethodno opisano u 3.5.2., a neposredno pre HPLC analize metanolni ekstrakt je profiltriran kroz PTFE filter (0,45 µm).

3.5.4. Instrumentalno merenje površinske boje sirovina i proizvoda od šljive

Površinska boja sirovina i proizvoda od šljive merena je pomoću kolorimetra MINOLTA Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing Inc., Japan) (slika 18a) opremljenim sa konusnim dodatkom za zaštitu izvora svetlosti CR-A33f (primenjuje se za meke uzorke) (slika 18b). Očitavanje boje kroz primenu CIE L*a*b* modela za formiranje boja i razlike u boji (poznat kao CIELab) sprovedeno je pri upotrebi standardnog D₆₅ izvora svetlosti i ugla posmatranja od 2°. Površinska boja je kod svih uzoraka očitana kao CIE L* (stepen svetloće, 0-vrednost za crnu, 100-vrednost za belu), CIE a* (+a/-a, stepen prisustva crvene/zelene boje) i CIE b* (+b/-b, stepen prisustva žute/plave boje). U proizvodima FP1-FP15, na osnovu prethodno očitanih a* i b* vrednosti, izvedena su još dva parametra boje - C* (zasićenost boje, hroma) i h* (ugao nijanse, tzv. hue angle) prema sledećim formulama:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (5)$$

$$h^* = \text{arc tan} \frac{b^*}{a^*} \quad (6)$$

Vrednost za h* kreće se od +a do -b i izražava se u stepenima: +a je na 0° (crvena boja), +b je na 90° (žuta boja), -a je na 180° (zelena boja), -b je na 270° (plava boja) (Pestorić, 2016). CIE L*a*b* vrednosti pre svakog merenja kalibrirane su pomoću bele standardne kalibracione pločice. Sirovine (nepasirana kaša šljive) i želirani proizvodi, pre merenja boje, preneti su u stakleni sud sledećih dimenzija: unutrašnji prečnik - 34 mm, dubina suda - 42 mm. Za merenje boje praškastih/zrnastih uzoraka (liofiliziranog tropa) primenjen je CR-A50 nastavak (slika 18c).



Slika 18. Instrumentalno merenje površinske boje: a) merni uređaj Konica Minolta CR400, b) dodatak CR-A33f sa zaštitnim stakлом i c) dodatak za praškaste uzorke CR-A50.

Kako bi se odredila promena boje proizvoda od šljive izazvana dodatkom liofilizirnog tropsa, odnosno kakav je realan uticaj liofilizata tropsa na boju voćne prerađevine, izračunata je ukupna promena boje (ΔE) između kontrolnog (bez liofiliziranog tropsa) i funkcionalnog proizvoda (sa liofilizatom). S obzirom da je ljudsko oko manje osetljivo u odnosu na merni instrument koji može da detektuje promene, vrednosti ΔE u određenim opsezima mogu da ukažu u kojoj meri je razlika u boji vidljiva golim okom, vodeći se kriterijumima datim u Pestorić (2016). Ukupna promena boje (ΔE) izračunata je prema sledećoj jednačini:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (7)$$

3.5.5. Instrumentalno određivanje teksturnih svojstava proizvoda od šljive

Teksturne osobine želiranih proizvoda od šljive određivane su korišćenjem analizatora tekture TA.XTPlus Texture Analyzer TA.XT2 (StableMicro Systems, Velika Britanija) (slika 19a), prema proceduri opisanoj u Bajić i sar. (2020). Merenje je sprovedeno penetracijom sonde u uzorak, pri čemu je instrument podešen tako da se meri sila pri kompresiji usled kretanja sonde. Cilindrična sonda P/1R i merna ćelija od 5 kg primjenjeni su tokom jednog penetracionog ciklusa, pri čemu je snimljena kriva zavisnosti sile od vremena.

Sila okidanja (eng. trigger force) bila je podešena na 0,0981 N (10 g), a posuda sa uzorkom bila je postavljena centralno na platformu ispod cilindrične sonde neposredno pre merenja. Dužina puta pri kojem sonda komprimuje uzorak bila je podešena na 20 mm, mereći od gornje površine uzorka kada dođe do kontakta sa uzorkom, a parametri primjenjenog testa penetracije bili su sledeći:

- brzina pre merenja 3,0 mm/s;
- brzina tokom merenja 2,0 mm/s;
- brzina nakon merenja 10,0 mm/s.

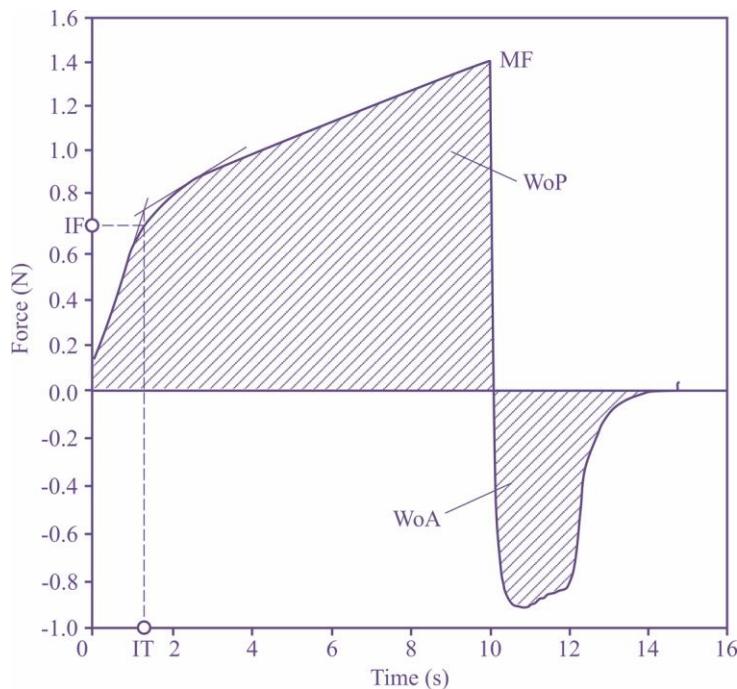


Slika 19. Analizatora tekture TA.XTplus Texture Analyser (StableMicro Systems, UK) (a) opremljen sa cilindričnom sondom P/1R (b) i konusnim mernim elementom za određivanje mazivosti - TTC Spreadability RIG, HDP/SR (c)

Ukupna količina sile neophodne da bi sonda prešla zadati put predstavljala je rad penetracije (N s) (*eng.* Work of Penetration, WoP) i obuhvatala je površinu ispod pozitivnog dela krive (slika 20). Vrednost sile na maksimalnoj dubini, tj. udaljenosti od površine uzorka, očitana je kao maskimalna sila (N) (*eng.* Maximal Force, MF). WoP i MF su posmatrani kao pokazatelji čvrstoće/konzistencije uzorka. Ukupna količina sile koju je nužno primeniti prilikom povlačenja sonde iz mase uzorka, predstavljala je rad adhezije (N s) (*eng.* Work of Adhesion, WoA) (Basu i Shihhare, 2013), i obuhvatala je površinu oformljenu u negativnom delu krive (slika 20). Rad adhezije jeste indikator lepljivosti/adhezivnosti uzorka.

U početnoj fazi penetriranja sonde kroz uzorak, usled postojanja različitih otpornosti koje pruža uzorak na deformacije prilikom prodiranja sonde, beležila se promena nagiba krive sile - vreme. Gel sistem pruža otpor pri razrušavanju primarnog sistema. Izračunati su gradijenti kriva sa različitim nagibom i na osnovu preseka tih kriva matematički je određena i locirana tačka u kojoj se menja nagib (gradijent) posmatrane krive. Za potrebe određivanja tačke preseka, primenjene su uobičajene makro-naredbe (macro-i) koje se zasnivaju na algoritmima u softverskom programu Exponent v.6.1.16.0 (StableMicro Systems, Surrey, England) za obradu podataka. Vreme u gradijentnom preseku (s) (*eng.* Intersection Time, IT) i sila u gradijentnom preseku (*eng.* Intersection Force, IF) posmatrani su kao indikatori otpornosti (jačine) gel sistema proizvoda od šljive na penetraciju sonde (Bajić i sar., 2020).

Primer krive iz koje su ekstrahovani parametri koji opisuju svojstva proizvoda prikazan je na slici 20.



Slika 20. Kriva sile - vreme iz koje su ekstrahovani teksturni parametri: rad penetracije (N s) (*eng.* Work of Penetration, WoP), maksimalna sila (N) (*eng.* Maximal Force, MF), rad adhezije (N s) (*eng.* Work of Adhesion, WoA), vreme u gradijentnom preseku (s) (*eng.* Intersection Time, IT) i sila u gradijentnom preseku (N) (*eng.* Intersection Force, IF) (Bajić i sar., 2020)

Na istom uređaju određena je čvrstoća razvijenog funkcionalnog proizvoda (sa liofilizatom LT-Š3) i kontrolnog proizvoda (bez dodatka liofilizata) pripremljenih pod

vakuumom, pri čemu je primjenjen konusni pribor za određivanje mazivosti (odnosno čvrstoće) TTC Spreadibility RIG, HDP/SR (slika 19c) i merna celija od 5 kg.

Pri određivanju mazivosti proizvoda podrazumeva se da se određuje čvrstoća proizvoda (diskretno opisuje mazivost kao teskturno svojstvo). Prilikom konzumiranja namirnice, prva impresija koju potrošač uočava pri korišćenju noža ili sličnih predmeta je čvrstoća proizvoda. Mazivost predstavlja lakoću kojom se proizvod može naneti u tankom ujednačenom sloju na površinu parčeta hleba (na primer).

Određivanje mazivosti podrazumevalo je merenje maksimalna sile pri kompresiji gornjeg mernog konusnog elementa kroz uzorak smešten u donjem elementu mernog pribora. Izmerena vrednost sile u njutnima (N) predstavljala je čvrstoću ispitivanog uzorka (*eng. Firmness, F*). Ukupna količina sile koja je potrebna da dođe do smicanja slojeva proizvoda iz donjeg dela pri penetraciji gornjeg konusnog pribora označena je kao rad smicanja (*eng. Work of Shear, WoS*) i bila je izražena u N s. Oba parametra su indikatori čvrstoće, s tim što F daje podatak u jednoj tački, dok rad smicanja pruža informacije o celom procesu deformacije sistema.

Pre sprovođenja merenja, gornji deo konusnog pribora kalibriran je na visinu od 25 mm iznad statičnog donjeg dela (bez uzorka), a rastojanje između ta dva dela tokom merenja bilo je 23 mm, odnosno sonda putuje od startnog položaja 23 mm. Nakon kalibriranja, donji konusni element se puni uzorkom i laganim pritiskom se oslobođa prisutnih mehurića vazduha, a potom se površina poravna nožem. Brzina kretanja dinamičkog gornjeg elementa tokom merenja bila je 3,0 mm/s, a brzina nakon merenja 10,0 mm/s.

3.5.6. Senzorska analiza proizvoda od šljive pomoću panela potrošača

Paneli potrošača korišćeni su dva puta kroz eksperimentalni tok doktorske disertacije, odnosno primjenjena su dva potrošačka panela različitog sastava populacije. Za pozicioniranje proizvoda od šljive koji su se međusobno razlikovali po poreklu, tipu, tehnologiji proizvodnje i senzorskim osobinama (I, slika 14) korišćen je panel od 71 ispitanika i ispitivanje je sprovedeno na Naučnom institutu za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, odnosno u laboratoriji za senzorske analize.

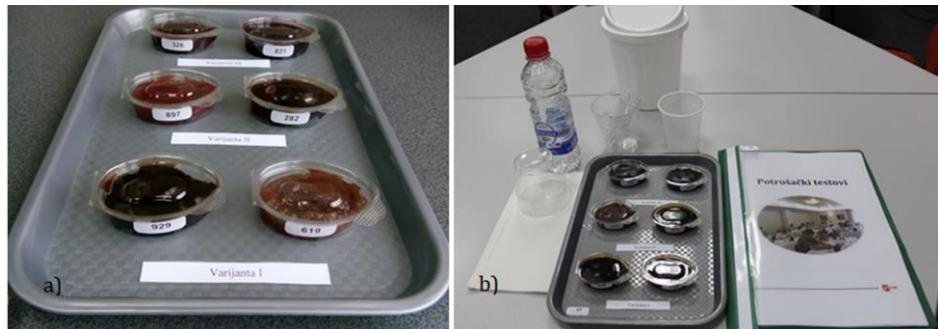
U inicijalnom potrošačkom testiranju, tri pilot proizvoda (PP1, PP2, PP3) i tri komercijalna proizvoda (KP1, KP2 i KP3) (slika 21) analizirana su kroz sprovođenje testova preferencije i prihvatljivosti pomoću panela ispitanika, sa ciljem da se izdvoji proizvod koji će poslužiti kao model za dalji razvoj novog funkcionalnog proizvoda.

U setu od šest uzoraka nalazila su se dva (KP1 i KP2) koji su poznati srpski brendovi. Komercijalni proizvod KP1 je pekmez od šljive, dok je KP2 komercijalni džem od šljive. Uzorak KP3 proizveden je u seoskom domaćinstvu u selu opštine Osečina, koja je poznata po izvozu konzumne i sušene šljive. Pekmez KP3 je pripremljen u šerpi i pomoću peći na drva uz lagano mešanje, što karakteriše tradicionalni način proizvodnje pekmeza u srpskom domaćinstvu. Pilot proizvodi PP1, PP2 i PP3 pripremljeni su kako je prethodno opisano (3.3).



Slika 21. Komercijalni (KP1, KP2, KP3) i pilot proizvodi od šljive (PP1, PP2, PP3) analizirani inicijalnim potrošačkim testiranjem

Uzorci su prezentovani potrošačima u plastičnim (PET) zatvorenim posudicama označenim trocifrenim brojevima (slika 22), a uoči testiranja uzorci su temperirani na sobnu temperaturu. Korišćena je voda između testova, kako bi se usna duplja isprala od prethodnog uzorka i čula pripremila za sledeći postavljen zadatak. Na slici 22 je dat prikaz prezentovanih uzoraka ispred svakog od potrošača, a u *Prilogu 1* nalazi se primer potrošačkog testa i ankete primenjenih u ovom delu doktorske discretacije (I, slika 14).



Slika 22. Uzorci želiranih proizvoda od šljive za inicijalni potrošački test (a) i postavka uzoraka za analizu (b)

Za ispitivanje finalnog razvijenog funkcionalnog proizvoda i dva komercijalna pekmeza od šljive (niskokalorični i standardni) применjen je panel od 79 potrošača (III, slika 14). Finalno potrošačko testiranje sprovedeno je u doba pandemije SARS-CoV-2 virusa, te je kontakt između ispitanika sveden na minimum kroz primenu elektronskog upitnika (obrazac *Google Forms*) (*Prilog 2*), koji je u periodu testiranja (od nekoliko dana) bio dostupan na prosleđenom linku. Uzorci su pažljivo prebačeni u staklenke (30 ml) sa poklopцима i obeležni trocifrenim brojevima, potom spakovani u zasebne zip kese sa tri plastične kašićice i flašom vode, kako je prikazano na slici 23. Takvi paketi su distribuirani potrošačima ili su potrošači samostalno preuzeli materijal u prostorijama laboratorije za Senzorske analize.



Slika 23. Proizvodi od šljive namenjeni za finalno potrošačko testiranje (niskokalorični i standardni pekmezi od šljive i optimalni funkcionalni proizvod od šljive) i izgled paketa za distribuiranje uzoraka do potrošača

U prvoj (inicijalnoj) fazi testiranja sprovedeni su testovi preferencije (*Prilog 1*), pri čemu su primjenjeni sledeći testovi nad setom od šest uzoraka (komercijalni proizvodi KP1, KP2, KP3; pilot proizvodi PP1, PP2 i PP3):

- *Test preferencije između dva uzorka sa forsiranim izborom (KP1 i KP2):*
 - test je primjenjen kako bi se utvrdilo da li postoje preferencije između ponuđena dva uzorka (KP1 i KP2) koja su prisutna na tržištu, posmatrajući ukupnu dopadljivost proizvoda;
 - bez dodatne informacije o brendovima proizvoda;
 - potrošaču se postavlja sledeće pitanje: „Koji Vam se od ponuđenih uzoraka više dopada?“;
 - izbor je forsiran i potrošač se mora opredeliti za jedan od dva ponuđena uzorka.
- *Test preferencije u odnosu na zadati proizvod sa forsiranim izborom (PP1 i PP2):*
 - test je imao svrhu da utvrdi da li potrošači preferiraju polazni funkcionalni proizvod sa dodatkom tropa T-Š1 (PP2) u odnosu na standardni proizvod PP1 (tipa domaće marmelade) posmatrajući ukupnu dopadljivost svakog od proizvoda;
 - bez informacija o proizvodu PP2;
 - potrošaču se postavlja sledeće pitanje: „Da li Vam se uzorak A (svetlij) više dopada u odnosu na uzorak B (tamniji)?“ (svetlij i tamniji uzorak su redom, PP2 i PP1);
 - izbor je forsiran.

■ *Test preferencije između proizvoda sa mogućnošću neopredeljenosti:*

- određivanje razlika u preferencijama potrošača posmatrajući ukupnu dopadljivost džema PP3 proizvedenog uz standardnu tehnologiju u pilot postrojenju i komercijalnog proizvoda KP3 (pekmez od šljiva proizведен na tradicionalan način u seoskom domaćinstvu);
- potrošač ima mogućnost da se opredeli: za jedan od ponuđenih proizvoda (PP3 ili KP3), za oba ili ni za jedan od ponuđenih proizvoda;
- rezultati testa se svode na test sa forsiranim izborom.

Rangiranje je korišćeno kao okosnica u ovom potrošačkom testiranju. Test *rangiranje proizvoda* primenjen je kako bi se uzorci (set od šest uzoraka) međusobno diferencirali po ukupnoj dopadljivosti, dodeljujući rang proizvodima po opadajućem redosledu (*Prilogu 1*). Proizvod najveće dopadljivosti dobija rang 1, sledeći rang 2 i tako redom. Opredeljenje za rangove je forsirano, te dva proizvoda ne mogu dobiti isti rang. Kako bi se utvrdilo da li između dobijenih zbirova rangova, odnosno uzorcima, postoje statistički značajne razlike, primenjen je Fridmanov test (Lawless i Heymann, 2010).

U narednoj fazi potrošačkog testiranja sprovedeni su testovi prihvatljivosti boje, teksture i ukusa u pogledu slatkoće i kiselosti. Testovi prihvatljivosti (dopadljivosti) uključuju primenu različitih tipova skala, dok verbalni iskazi ili razdaljine označene na skalama moraju da se prevedu u numeričke vrednosti kako bi se mogli statistički obraditi.

Za sprovođenje testova prihvatljivosti boje i teksture u ovom koraku primenjene su verbalno izražene hedonske skale koje imaju svrhu da daju odgovor na pitanje u kojoj meri se potrošaču dopada proizvod, posmatrajući pojedinačno svojstvo (boja ili tekstura) (*Prilog 1*). Test prihvatljivosti boje i teksture uključio je primenu hedonske skale sa 9 tačaka, kojima su odgovarale sledeće fraze:

- izuzetno bi me privukla (izuzetno mi se dopada);
- veoma bi me privukla (veoma mi se dopada);
- umereno bi me privukla (umereno mi se dopada);
- pomalo bi me privukla (pomalo mi se dopada);
- niti bi me privukla, niti bi me odbila (niti mi se dopada, niti mi se ne dopada);
- pomalo bi me odbila (pomalo mi se ne dopada);
- umereno bi me odbila (umereno mi se ne dopada);
- veoma bi me odbila (veoma mi se ne dopada);
- izuzetno bi me odbila (izuzetno mi se ne dopada).

Ocene koje su prikupljene pomoću verbalnih skala transformisane su u numeričke vrednosti od 1 do 9, te je broj 1 odgovarao frazi „izuzetno bi me odbila“ („izuzetno mi se ne dopada“) i tako redom do broja 9 koji je odgovarao frazi „izuzetno bi me privukla“ („izuzetno mi se dopada“).

U slučaju finalnog potrošačkog testiranja (gde se ocenjuje razvijeni optimalni funkcionalni proizvod) korišćena je hibridna hedonska skala koja kombinuje nestruktuiranu i struktuiranu skalu, odnosno linijsku skalu i hedonsku skalu sa 9 kategorija (Villanueva i Da Silva, 2009). Drugim rečima, primenjena skala se sastoji od 9 polja između kojih su jednakim razmacima, a verbalne oznake (fraze) nose ekstremni krajevi i srednji deo skale. Za razliku od hedonskih skala u inicijalnom testu, gde je svih devet tačaka verbalno izraženo, u slučaju finalnog testa verbalno su izražena krajnja („izuzetno mi se dopada“ i „izuzetno mi se ne dopada“) i centralna („niti mi se dopada, niti ne dopada“) polja skale. Hibridna skala primenjena je pri ispitivanju ukupne dopadljivosti proizvoda i dopadljivosti pojedinačnih senzorskih

svojstava (boja, miris, ukus, tesktura i peskovitost/zrnavost teksture) razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive i dva pekmeza od šljive (niskokalorični i standardni), kako je prikazano u *Prilogu 2.*

Testovi prihvatljivosti ukusa u pogledu slatkoće i kiselosti sprovedeni su na svim proizvodima koristeći linearu kontinualnu (nestruktuiranu) JAR skalu (*eng. just about right*, baš kako treba). Na skali je naznačen optimalni intenzitet/nivo posmatranog senzorskog atributa u JAR tački (centralni deo skale), dok se odstupanje od intenziteta posmatra u dva smera, kao nedovoljno izražen intenzitet (levo od JAR tačke) i suprotno, previše izražen intenzitet posmatranog svojstva (desno od JAR tačke). Zadatak potrošača bio je da naznače na skali koliko proizvod odstupa od optimuma u pogledu dva posmatrana svojstva (sladak i kiseo ukus) na dve odvojene skale, za slatkoću i kiselost. Kontinualna JAR skala od 100 mm korišćena je u inicijalnom senzorskom testiranju šest proizvoda od šljive, pri čemu se JAR tačka nalazila na 50 mm, dok su krajnji levi i desni deo skale ukazivali na nedovoljno slatko (ili nedovoljno kiselo) i preslatko (ili prekiselo), redom za skalu slatkoće (ili kiselosti). Vrednosti su merene u cm, pri čemu su levo od sredine skale bile negativne vrednosti, JAR tačka je bila jednaka 0, dok je desni deo skale (u odnosu na sredinu) bio pozitivan (Vickers, 1988; Johnson i Vickers, 1987).

Kod tipičnih kategorijskih JAR skala sa 3 do 9 jasno definisanih kategorija (tačaka), svakoj kategoriji se obično pridružuju opisne fraze za intenzitet ili se više kategorija kombinuje u cilju definisanja intenziteta, dok je kod kontinuirane JAR skale broj ovih kategorija (tačaka) teorijski beskonačan (Rothman, 2007). Kategorijска skala sa 9 tačaka primenjena je u slučaju finalnog senzorskog testiranja (III, slika 14; *Prilog 2*), pri ispitivanju optimalnog nivoa slatkoće i kiselosti, kao i optimalnog nivoa peskovitosti/zrnavosti tekture tri analizirana proizvoda.

Kako je peskovitost/zrnavost tekture svojstvo koje karakteriše finalni proizvod od šljive sa liofiliziranim tropom šljive, ispitnicima su postavljena pitanja i u vezi sa tim pokazateljem tekture, što je predstavljeno u *Prilogu 2.*

Kako bi se odredila demografska struktura ispitanika (pol, godine, stepen obrazovanja), kao i navike u svakodnevnom životu koje se mogu odraziti na osjetljivost čula (da li je ispitanik pušač) sprovedena je anketa. Postavljena su pitanja u vezi sa navikama potrošača u vezi sa izborom želiranih proizvoda od voća tipa džema, učestalosti kupovine istih, afektivnosti prema slatkom ukusu i želiranim proizvodima, uticaju boje, ukusa, tesktturnih svojstava na odabir proizvoda ovog tipa, kao i pitanja u vezi sa načinom ishrane i dr. Za anketiranje potrošača primenjena je Likertova skala sa 7 tačaka. Odgovori su se kretali od 1 do 7, gde 1 odgovara potpuno netačnoj tvrdnji, a 7 potpuno tačnoj. S obzirom da je različita struktura dva potrošačka panela primenjenih u inicijalnoj i finalnoj koraku doktorske disertacije (I i III, slika 14), zasebno su analizirani rezultati anketiranih potrošača iz dva primenjena panela. Anketa u *Prilogu 2* je blago modifikovana u pogledu postavljenih pitanja, kako bi se što približnije odredili pravci koje treba slediti u daljem usavršavanju funkcionalnog proizvoda.

3.5.7. Box-Behnken-ov eksperimentalni dizajn i statistička obrada rezultata

Metode dizajniranja (planiranja) eksperimenata (*eng.* Design of Experiments, DOE) koriste se za ispitivanje uticaja eksperimentalnih faktora (nezavisno promenljivih) koje su značajne za tok procesa/analitičke tehnike/kvalitet proizvoda itd., odnosno utiču na ispitivane izlazne parametre (zavisno promenljivih) u posmatranom ekperimentu. Eksperimentalni plan istraživaču daje mogućnost manipulacije ulaznim parametrima i određivanja uticaja na izlazne parametre (tj. odgovore).

Rezultati eksperimentalnih planova mogu se primeniti za postavljanje matematičkih modela čija je osnovna uloga predikcija parametara (tzv. odziva) na osnovu dobijene matematičke funkcije (odzivne funkcije ili regresione funkcije). Takvi modeli omogućavaju da se podešavaju vrednosti ulaznih faktora i da se koriste podaci koji nisu dobijeni merenjem u eksperimentu. Modeli za predviđanje izlaza mogu biti regresione funkcije, najčešće u obliku polinoma drugog reda (*eng.* Second Order Plynominal - SOP), ili veštačke neuronske mreže (*eng.* Artifical Neuron Networks - ANN). U ovoj doktorskoj disertaciji za predviđanje izlaznih parametara primjenjen je ANN model.

Box-Behnken-ov eksperimentalni plan sa tri nezavisno promenljive, koje su varirane na tri nivoa vrednosti, primjenjen je u eksperimentu prilikom proizvodnje funkcionalnog proizvoda sa liofiliziranom tropom od šljive (LT-Š2). Praćeni su izlazni parametri 15 formulacija označenih kao FP1-FP15. Ulazni eksperimentalni faktori varirani u eksperimentima (tabela 5) bili su:

- Liofiliziran trop LT-Š2 (%), x_1 , sa korakom (intervalom) variranja 4;
- Saharoza (%), x_2 , sa korakom (intervalom) variranja 5;
- LMA pektin (%), x_3 , sa korakom (intervalom) variranja 0,1.

Tabela 5. Nivoi nezavisno promenljivih primjenjeni u Box-Behnken-ovom eksperimentalnom dizajnu

Nezavisno promenljive	Nivoi nezavisno promenljivih		
	-1	0	+1
Liofiliziran trop LT-Š2 (%), x_1	2	6	10
Saharoza (%), x_2	10	15	20
LMA pektin (%), x_3	0	0,1	0,2

Kombinacije svih 15 formulacija pripremljene prema Box-Behnken-ovom dizajnu date su u tabeli 4 (prikazano u 3.4.2), a uticaj variranja sastojaka u proizvodnji funkcionalnih proizvoda na izlazne parametre ispitivan je u svim formulacijama (FP1-FP15).

Dobijene vrednosti izlaznih parametara korišćene su kao *srednje vrednosti merenja* u analizi glavnih komponenti (*eng.* Principal Component Analysis, PCA), optimizaciju formulacije kroz primenu metode standardnih ocena (*eng.* Standard Score, SS) i kreiranje ANN modela.

Statistička obrada podataka

Da bi se izračunala srednja vrednost merenja ($n=3$ ili više) i standardna devijacija merenja, u eksperimentima je primenjena osnovna statistika. Za utvrđivanje statističke značajnosti razlika srednjih vrednosti merenja između dva uzorka primjenjen je t-test na nivou

značajnosti od 5% ($p<0,05$). U slučaju poređenja srednjih vrednosti populacija više od dva uzorka primenjena je analiza varijanse (eng. Analysis of Variance, ANOVA) i post hoc Tukey-Kramerov test na nivou značajnosti 5% ($p<0,05$). Tukey-Kramerova procedura odabrana je s obzirom da toleriše nejadnak broj opservacija unutar posmatrane grupe (populacija jednog uzorka), što je od značaja kod rezultata u potrošačkim testiranjima. U analizi razlika između rangova šest proizvoda (KP1, KP2, KP3, PP1, PP2 i PP3) upotrebljen je Friedman-ov statistički test. Između sadržaja fenolnih jedinjenja i antioksidativne aktivnosti (IC_{50}), boje i fenolnih biokomponenti, sile u gradijentnom preseku (IF) i drugih ispitanih teksturnih parametara izračunati su Pearson-ovi korelacioni koeficijenti. Statistička procena određena je pomoću programa Microsoft Excel 2010.

Analiza pada srednje vrednosti ukupne dopadljivosti (eng. Mean Drop ili Penalty Analysis) funkcionalnog proizvoda od šljive koristi dva seta podataka. Primjenjeni su podaci o ukupnoj dopadljivosti proizvoda i rezultati JAR (eng. Just About Right) skala sa 9 kategorija primenjenih za ocenu intenzita slatkoće, kiselosti i peskovitosti teksture uzorka. Sirovi podaci sa skale sa devet kategorija se grupišu u nove tri („premalo“: 1, 2 i 3, „taman kao treba“: 4, 5 i 6 i „previše“: 7, 8 i 9 izraženo svojstvo) kategorije unutar kojih se preračunava srednja vrednosti ukupne dopadljivosti. Na osnovu razlika srednje vrednosti za kategoriju „taman kako treba“ i srednjih vrednosti koje su iznad i ispod optimalne (grupa potrošača za „premalo“ i „previše“) pojedinačno, dobijaju se rezultati za pad srednje vrednosti ukupne dopadljivosti u te dve posmatrane kategorije. Drugim rečima, *penalty* analiza određuje koliko je opala ukupna dopadljivost proizvoda usled odstupanja pojedinačnih svojstava od optimalnih (taman kako treba ili JAR) i na taj način identificuje atribute koji narušavaju ukupnu dopadljivost. Za potrebe analize pada srednje vrednosti i stastističku obradu primjenjen je program XLSTAT 2023 trial version.

Analiza glavnih komponenti

Analiza glavnih komponenti (PCA) je tehnika višeparametarske analize. Predstavlja jednu od najšire primenjivanih *data mining* tehnika (služe za otkrivanje znanja u bazama podataka) u nauci i primenjuje se za različite baze podataka (senzorne metode, instrumetalne metode, hemijski podaci i drugo). PCA ima ulogu da redukuje dimenzionalnost skupa na novi skup promenljivih, pri čemu takav smanjen skup sadrži većinu informacija iz primarnog skupa. PCA koristi matematičku proceduru za transformisanje grupe promenljivih koje su potencijalno u korelaciji u novu grupu promenljivih koje nisu u korelaciji, tzv. glavne komponente (Cozzolino i sar., 2019).

Interpretacija glavnih komponenti zasniva se na sopstvenim vektorima (eng. eigenvectors), koji u višedimenzionalnoj geometrijskoj strukturi predstavljaju nule sopstvene jednačine, odnosno glavnih komponenti. Ukupnu varijansu čini suma varijansi svih primarnih (izvornih) promenljivih, a deo ukupne varijanse objašnjen jednom glavnom komponentom je tzv. svojstvena vrednost (eng. eigenvalue). Projekcijom sopstvenih vektora u PC ravnima dobijaju se skorovi glavnih komponenti, a unutar PC prostora mogu se prikazati i uzorci (Pestorić, 2011). PC grafik omogućava vizuelizaciju položaja skorova glavnih komponenti. Kada su dve promenljive blizu jedna druge (manji je ugao između njih), tada su u pozitivnoj korelaciji. U slučaju kada su promenljive na suprotnim stranama od centra, nalaze se u negativnoj korelaciji. Kada su postavljene ortogonalno (90°), promenljive nisu u korelaciji.

PCA se primenjuje u raznim naučnim sferama, kao i u prehrambenim istraživanjima, uključujući i oblast prerađevina od voća i povrća. Igual i sar. (2014) su PCA koristili u analizi boje i reoloških svojstava džema od grejpfruta, kao i u ispitivanju odnosa između rezultata dobijenih instrumentalnim i senzorskim metodama. Renna i sar. (2013) su za vizualizaciju podataka o džemovima od mrkve koristili PCA metodu, pri čemu su pratili odnose između 12 uzoraka džema i 11 fizičko - hemijskih pokazatelja (parametre boje: L*, a*, b* i hemijske parametre: Na, K, Mg, Ca, sadržaj ukupnih fenola, sadržaj β-karotena i antioksidativnu aktivnost).

PCA je u ovoj tezi korišćena u analizi efekata ulaznih promenljivih (deo liofiliziranog tropsa, šećera ili LMA pektina) na izlazne promenljive od interesa (TPC, TFC, TMA, IC₅₀, MF, WoP, WoA, IT, IF, L*, a* i b*) određene u 15 funkcionalnih proizvoda od šljive. Primenjen je STATISTICA 10.0 sofver (StatSoft Inc., 2010).

Optimizacija formulacije primenom metode standardne ocene

Kako bi se iz serije od 15 formulacija izdvojio uzorak sa optimalnim sadržajem fenolnih biokomponenti, antioksidativnošću i teksturnim i hromatskim osobinama, primenjen je proces optimizacije formulacije. Proces optimizacije sproveden je primenom metode standardnih ocena tj. primenom SS metode (eng. Standard Score).

Proces rangiranja analiziranih uzoraka zasnovan je na dodeljenim standardnim ocenama. Suma normalizovanih ocena daje bezdimenzionalnu vrednost koja se naziva standardna ocena (eng. standard score, SS), koja je specifična kombinacija podataka dobijenih različitim metodama merenja i koja nema ograničenja u pogledu jedinica (Brlek i sar., 2013). Ocene se mogu kretati u intervalu od 0 do 1, pri čemu SS bliži 1, odnosno maksimalna vrednost ukazuje na optimalniji izbor ulaznih promenljivih, tj. na optimalan sastav formulacije u odnosu na postavljene ciljeve optimizacije.

S obzirom da su jedinice i skale (rangovi) „sirovih“ analiziranih fizičko-hemijskih pokazatelja različiti, veličine iz primarnog skupa podataka moraju se transformisati u novi skup normalizovanih rezultata koje su bezdimenzionalne (Brlek i sar., 2013) i omogućavaju sprovođenje metode. Obično se primenjuje tehnika normalizacije podataka.

Procedura rangiranja uzoraka na bazi SS ocena sprovedena je na bazi odnosa između sirovih, tj. eksperimentalnih podataka i ekstremnih vrednosti za svako sprovedeno merenje (Brlek i sar., 2013). Na putu do rangiranja i definisanja vrednosti standardne ocene, parametri su normalizovani prema sledećim formulama (gde \bar{x}_i predstavlja „sirove“, odnosno eksperimentalno dobijene, vrednosti analiziranog parametra):

- za parametre TPC, TFC, TMA (teži se što većoj vrednosti izlaznog parametra, odnosno koristi se kriterijum „što veća vrednost, to je bolje“):

$$\bar{x}_i = \frac{x_i - \min_i x_i}{\max_i x_i - \min_i x_i}, \forall i \quad (8)$$

- za parametar IC₅₀ (teži se što manjoj vrednosti izlaznog parametra, odnosno primenjuje se kriterijum „što manja vrednost, to je bolje“):

$$\overline{x_i} = 1 - \frac{x_i - \min_i x_i}{\max_i x_i - \min_i x_i}, \forall i \quad (9)$$

Za parametre koji opisuju teksturu i boju potrebno je dostići vrednosti koji odgovaraju parametrima koji su potrošačkim testovima prethodno pronađeni kao optimalni, te se koristi kriterijum optimalnog opsega kroz sledeću formula (Bajić i sar., 2020):

$$\overline{x_i} \begin{cases} x_i = \frac{x_i - \min_i x_i}{\text{opt} \min_i x_i - \min_i x_i}, & \min_i x_i \leq x_i < \text{opt} \min_i x_i \\ 1, & \text{opt} \min_i x_i \leq x_i < \text{opt} \max_i x_i \\ 1 - \frac{x_i - \text{opt} \max_i x_i}{\max_i x_i - \text{opt} \max_i x_i}, & \text{opt} \max_i x_i < x_i \leq \text{opt} \max_i x_i \end{cases} \quad (10)$$

Zbirna ocena (standard score) računata je sumiranjem proizvoda normalizovanih ocena vrednosti izlaznih parametara i odgovarajućih težinskih koeficijenata prema sledećoj formuli (Bajić i sar., 2020):

$$SS (\text{liofilizat, šećer, LMA pektin}) = w_1 \cdot \overline{\text{TPC}} + w_2 \cdot \overline{\text{TFC}} + w_3 \cdot \overline{\text{TMA}} + w_4 \cdot \overline{\text{IC}_{50}} + w_5 \cdot \overline{\text{MF}} + w_6 \cdot \overline{\text{WoP}} + w_7 \cdot \overline{\text{WoA}} + w_8 \cdot \overline{\text{IT}} + w_9 \cdot \overline{\text{IF}} + w_{10} \cdot \overline{L^*} + w_{11} \cdot \overline{a^*} + w_{12} \cdot \overline{b^*} \quad (11)$$

w_i - težinski koeficijenti za odgovarajuće izlazne promenljive ($i = 1 - 12$)

\overline{X} - normalizovana ocena (eng. score) izlazne promenljive (TPC, TFC, TMA, IC₅₀, MF, WoP, WoA, IT, IF, L*, a* i b*) izračunata prema jednačinama (8), (9) ili (10).

Izlaznim parametrima, odnosno svim zavisno promenljivim, dodeljeni su sledeći težinski koeficijenti (w_i) (Bajić i sar., 2020):

- pokazatelji nutritivnog kvaliteta (fenolni antioksidanti) (TPC, TFC, TMA, IC₅₀) - pojedinačno svakom parametru vrednost od 0,075 (ukupno 0,3)
- teksturni parametri (MF, WoP, WoA, IT, IF) - pojedinačno svakom parametru vrednost od 0,080 (ukupno 0,4)
- parametri boje (L*, a*, b*) - pojedinačno svakom parametru vrednost od 0,075 (ukupno 0,3).

U optimizaciji formulacije *standard score* metodom primenjen je Microsoft Excel 2007.

Veštačke neuronske mreže

Višeslojni perceptron (eng. Multilayer Perceptron Model, MLP) je najšire primenjena tehnika modelovanja podataka u ANN (Sonawane i sar., 2020) i pokazao se kao sposoban da aproksimira (uklapa vrednosti modela sa eksperimentalnim rezultatima) nelinearnoj funkciji (Pavlić i sar., 2019).

ANN model koristi vrednosti ulaznih faktora i izlaznih parametara (koji su mereni u eksperimentalnom radu) za kreiranje modela. Dobijeni ANN model je u formi regresione formule. Ulagani i izlagani podaci prethodno su normalizovani da bi se poboljšalo „ponašanje“ ANN

modela. Kao metod za ANN modelovanje primjenjen je Broyden-Fletcher-GoldfarbShanno (BFGS) algoritam (Benković i sar., 2015).

Eksperimentalni podaci za ANN su nasumično podeljeni na podatke za: trening (60%), unakrsnu validaciju (20%) i testiranje (20%).

Koeficijenti koji se odnose na skriveni i izlazni sloj, težinski koeficijenti i biasi, grupisani su u matrice W_1 i B_1 , i W_2 i B_2 (biasi). Model neuronske mreže može se predstaviti kroz sledeću formulu (Kollo i von Rosen, 2005):

$$Y = f_1 \cdot [W_2 \cdot f_2 \cdot (W_1 \cdot X + B_1) + B_2] \quad (12)$$

f_1 i f_2 - transferne funkcije za skriveni i izlazni sloj (redom)

X i Y - matrice ulaznih i izlaznih promenljivih (redom)

W_1 i W_2 - matrice težinskih koeficijenata za skriveni i izlazni sloj (redom)

B_1 i B_2 - biasi za skriveni i izlazni sloj (redom)

Numerička verifikacija dobijenog matematičkog modela testirana je primenom standardnih statističkih testova: redukovani χ^2 kvadrat test - χ^2 (eng. Reduced Chi-Square), koren srednje vrednosti kvadratne greške - RMSE (eng. Root Mean Square Error), srednja greška biosa - MBE (eng. Mean Percentage Error), srednja vrednost procentualne greške - MPE (eng. Mean Percentage Error) i koeficent determinacije - r^2 (eng. Coefficient of Determination).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Karakterizacija sirovina za proizvodnju pilot proizvoda od šljive

Hemijski sastav i fizičke osobine sirovina upotrebljenih za pripremu pilot proizvoda PP1, PP2 i PP3 (slika 14), odnosno nepasirane kaše šljiva 1, NK-Š1 (kod uzorka: PP1, PP2 i PP3) i tropa šljiva 1, T-Š1 (kod uzorka PP2) prikazan je u tabeli 6. Sirovine su analizirane i u pogledu sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja (TPC), flavonoida (TFC) i monomernih antocijana (TMA) (tabela 6). Karakterizacija sirovina sprovedena je kako bi se ispitalo postojanje funkcionalnog potencijala tropa iz prerade šljiva, pre svega u pogledu prehrambenih vlakana i fenolnih jedinjenja, dok je podrobnije ispitivanje sirovina za proizvodnju proizvoda FP1-FP15 i razvijenog funkcionalnog proizvoda sprovedeno u narednim poglavljima.

Ukus proizvoda direktno zavisi od udela i sastava u pogledu osnovnih šećera i organskih kiselina, kao i koncentracije primenjenih zaslajivača i aditiva za korekciju kiselosti (limunska kiselina). Profil organskih kiselina i šećera u nepasiranoj kaši šljive NK-Š1 i tropu šljive T-Š1 prikazan je u tabeli 6. Razlike u koncentracijama fruktoze i glukoze u kaši NK-Š1 i tropu šljive T-Š1 su minimalne, dok je koncentracija saharoze skoro četiri puta veća u kaši. Zbirna vrednost D i L-jabučne kiseline blago je povišena u NK-Š1 u odnosu na trop T-Š-Š1. Koncentracija cílibarne kiseline je takođe blago povišena u sirovini NK-Š1 u odnosu na trop. Koncentracija limunske kiseline u nepasiranoj kaši od šljiva iznosi 0,26 g/kg, dok je u tropu višestruko niža (0,03 g/kg). Ukupne organske kiseline bile su veće u NK-Š1 u odnosu na trop T-Š1 (4,78 i 4,01 g/kg, respektivno). Do sličnih zaključaka došli su Usenik i sar. (2013) analizirajući koncentraciju organskih kiselina u mesu i pokožici ploda šljive. Sadržaj organskih kiselina u mesu ploda šljiva bio je viši u poređenju sa sadržajem u pokožici, krećući se od 2,0 - 7,4 g/kg (meso ploda) i 0,2 - 2,6 g/kg (pokožica) (Usenik i sar., 2013). Sadržaj ukupne jabučne kiseline u NK-Š1 nalazi se u opsegu vrednosti kao u slučaju sorte Čačanska rodna u prethodno publikovanom istraživanju (Barać i sar., 2022), dok je koncentracija cílibarne kiseline nešto viša nego kod gorenavedenih autora.

U tabeli 6 dat je pregled tehnološki bitnih komponenata hemijskog sastava. Rastvorljiva suva materija (SMR) tropa šljive je manja jer je i sadržaj ukupnih šećera manji u pokožici, tj. tropu. Takođe, trop sadrži skoro dvostruko više pepela u odnosu na nepasiranu kašu od šljiva, dok je vлага blago povišena u NK-Š1.

Šljiva obiluje prirodno prisutnim prehrambenim vlknima, čija su blatvorna dejstva na ljudsko zdravlje prethodno objašnjena. Vlakna u tropu šljive korišćenog u ovoj fazi eksperimenta bila su prisutna u dvostruko većoj koncentraciji (3,23 g/100 g) nego u nepasiranoj kaši od plodova šljive 1 (1,64 g/100 g), što ukazuje na funkcionalni potencijal koji trop ima u pogledu prehrambenih vlakana. Koncentracija prehrambenih vlakana u NK-Š1 odgovara vrednostima koncentracije vlakana u svežoj šljivi (1,3-2,4 g/100 g) koje su u svom istraživanju određivali Wills i sar. (1983). Koncentracija i odnos rastvorljivih i nerastvorljivih prehrambenih vlakana u šljivi odražava se na zdravstvenu funkciju koju ispoljavaju i na tehnološku funkciju pri preradi. Udeo prirodno prisutnih pektinskih materija doprinosi želirajućem kapacitetu voća pri preradi, ali je često neophodno dodati pektin u formi aditiva kako bi se adekvatno umrežili u gel strukturu proizvoda do kog se šljiva prerađuje, pre svega u slučaju niskokaloričnih prerađevina. U šljivi su prisutne velike količine pektina u poređenju sa drugim voćem, ali je koncentracija ukupnih pektinskih materija, kao i odnos između pojedinačnih frakcija određena faktorima poput sorte, stepena zrelosti i dr. Želirajuća svojstva u pektinskim frakcijama ispoljava *pektininska kiselina* (pektin). S obzirom da se polazni funkcionalni proizvod ukuvavao do niskih vrednost SMR,

raspoloživa količina pektina iz nepasirane kaše i tropa ne bi dovela do umrežavanje sistema i formiranja stabilnog sistema, zbog čega je bilo potrebno dodati LM pektin.

Trop T-Š1 sadržao je tri puta veću koncentraciju ukupnih fenolnih jedinjenja i ukupnih flavonoida u poređenju sa nepasiranom kašom šljive NK-Š1, dok je koncentracija monomernih antocijana bila veća pet puta (na s.m.). Na osnovu skrininga sadržaja ukupnih fenola i osnovnih podgrupa iz ove klase jedinjenja, može se uvideti da trop šljive, sporedni proizvod iz prerađe šljive, odličan izvor fenola, flavonoida i antocijana. Time je opravdانا prepostavka da integrisanje tropa može povećati koncentraciju fenolnih jedinjenja u novom proizvodu od šljive.

Tabela 6. Hemijski sastav sirovina za proizvodnju PP1, PP2 i PP3

Parametar	NK-Š1	T-Š1
Vлага (g/100 g)	80,71	79,81
Pepeo (g/100 g)	4,66	8,86
	fruktoza	2,45
	glukoza	6,06
Šećeri (g/100 g)	saharoza	3,50
	ukupni šećeri	12,01
SMR (°Brix)	17,28	15,88
	limunska	0,26
	L-jabučna	1,64
Organske kiseline (g/kg)	D-jabučna	0,22
	ukupna jabučna	1,86
	ćilibarna	2,66
	ukupne kiseline	4,78
pH	3,86	3,59
Ukupna vlakna (g/100 g)	1,64	3,23
Pektinske materije (g/100 g)	pektininjska kiselina (pektin)	0,24
	pektinska kiselina	0,08
	protoppektin	0,46
	TPC	195,70
Fenolna jedinjenja (mg ekv.jed./100 g s.m.)	TFC	35,20
	TMA	4,69
		22,98

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost (n=3). NK-Š1 - nepasirana kaša šljive 1, T-Š1 - trop šljive 1. Fenolna jedinjenja izražena su u mg ekvivalentnog jedinjenja/100 g suve materije: TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja izražen na galnu kiselinu, TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinozid.

4.2. Karakterizacija komercijalnih i pilot proizvoda od šljive

Nepasirana kaša i trop šljive 1 (NK-Š1 i T-Š1) (I, slika 14) iskorišćeni su za pripemu pilot proizvoda PP1, PP2 i PP3, prema proceduri opisanoj u eksperimentalnom delu (3.3), te su sva tri proizvoda uz komercijalne uzorke KP1, KP2 i KP3 dalje analizirani primenom I potrošačkog testa (I, slika 14). Kako bi se sagledale fizičko-hemijske osobine i dobili parametri koji će usmeriti dalju optimizaciju i razvoj proizvoda od šljive, svih šest uzoraka je podvrgnuto brojnim fizičko-hemijskim i instrumentalnim merenjima, što je detaljno prikazano u tabelama 7 i 8. Dopadljivost i preferencije ukusa u proizvodima od šljive zavise od prisutnih organskih kiselina i šećera u sastavu proizvoda. U setu od šest proizvoda, praćena su teksturna svojstva i boja da bi se dobole okvirne vrednosti parametara teksture i boje kojima se teži u kreiranju formulacije novog proizvoda (tabela 7, tabela 8).

Najniži sadržaj fruktoze i glukoze imao je uzorak PP2 (4,28 i 7,71 g/100 g proizvoda), dok se prema sadržaju saharoze (12,99 g/100 g) nalazio na drugom mestu, odmah posle komercijalnog pekmeza KP3 (21,64 g/100 g). Fruktoza je bila dominantna u KP2 (31,88 g/100 g), a potom u PP1 i PP3, gde je bila prisutna u količinama od 21,18 i 20,54 g/100 g. Sadržaj glukoze bio je skoro dvostruko veći u odnosu na fruktozu u svim uzorcima, sem u KP2 (fruktoza je najzastupljenija), krećući se u opsegu od 7,71 (PP2) do 42,13 (PP1) g/100 g. Koncentracija glukoze se kod uzoraka KP1, PP1 i PP3 nije razlikovala statistički značajno.

Saharoza nije pronađena u KP2, dok je u KP1, PP1 i PP3 bila određena u višestruko nižim koncentracijama nego monosaharidi fruktoza i glukoza. Najvišu koncentraciju saharoze imao je proizvod KP3 (21,64 g/100 g). Kada se posmatraju ukupni šećeri, komercijalni pekmez KP1 i komercijalni džem KP2 slični su na statistički značajnom nivou (59,21 i 62,55 g/100 g, respektivno gledano), kao i domaća marmelada PP1 i džem PP3 (proizvedeni u pilot postrojenju), čiji su ukupni šećeri bili prisutni u koncentraciji od oko 68 g/100 g. Ukupni šećeri u polaznom funkcionalnom proizvodu PP2 bili su 24,99 g/100 g, što je oko dva puta manje od KP3 i tri puta manje od KP1 i KP2. Posmatrajući vrednosti rastvorljive suve materije (SMR), može se uvideti da su se uzorci razlikovali na statistički značajnom nivou, sa minimalnom vrednošću od 32,59 °Brix (PP2) i maksimalnom izmerenom vrednošću od 69,76°Brix kod uzorka PP1 (tabela 7).

Izmerene koncentracije L izomera jabučne kiseline i cílibarne kiseline u proizvodima od šljive bile su veće u odnosu na limunsku kiselinu (tabela 7). Najveća koncentracija limunske kiseline pronađena je u polaznom funkcionalom proizvodu PP2, a potom u PP1 (1,74 i 1,42 g/kg, redom), dok u KP2 nije detektovana. Maksimalna količina L-jabučne kiseline izmerena je u KP1 (4,20 g/kg), dok je najmanja određena u KP2 (1,56 g/kg), bez statistički značajne razlike u poređenju sa PP2 (1,74 g/kg). Najviše cílibarne kiseline imao je uzorak KP3 (3,79 g/kg), a potom KP1 (3,22 g/kg), dok su koncentracije cílibarne kiseline u KP2 i PP2 bile oko 2,30 g/kg. Minimalni sadržaj cílibarne kiseline imao je PP1 (1,82 g/kg) i nije se razlikovao na statistički značajnom nivou od PP3. Kada se sumiraju sadržaji organskih kiselina, najvišu zbirnu vrednost imao je komercijalni pekmez KP1 (8,22 g/kg), a najnižu komercijalni džem KP2 (3,86 g/kg). U polaznom proizvodu sa dodatkom tropske PP2 suma ukupnih kiselina bila je 5,85 g/kg (ne razlikuju se statistički značajno od PP3). Izmerene vrednosti pH kretale su se u opsegu od 3,07 (PP1) do maksimalne vrednosti od 3,75 (KP3).

Fenolna jedinjenja su najznačajnije fitohemikalije u šljivi koje doprinose antioksidativnoj aktivnosti. Sadržaj ukupnih fenola, ukupnih flavonoida i ukupnih monomernih antocijana (TPC, TFC i TMA, respektivno) određeni su u proizvodima (tabela 7). Koncentracija

ukupnih fenola kretala se u intervalu od 100,79 (PP1) do 737,96 mg EGK/100 g s.m. (KP2), gde je najviši TPC imao KP2, potom KP3 (690,70 mg EGK/100 g s.m.) (bez statistički značajne razlike), a zatim po opadajućem redosledu PP2, KP1, PP3 i PP1. Sadržaj TFC u uzorcima pratio je isti trend kao i TPC, sem u slučaju prva dva mesta, gde je KP3 imao veću koncentraciju ukupnih flavonoida u odnosu na KP2. TFC se kretao u opsegu od 22,99 mg EK/100 g s.m. (PP1) do 529,67 mg EK/100 g s.m. (KP3). Koncentracija antocijana bila je najviša u polaznom funkcionalnom proizvodu PP2 (28,55 mg ECR/100 g s.m.) bez statsitički značajne razlike u odnosu na KP3 (24,90 mg ECR/100 g s.m.). Sadržaji TMA u KP2 i KP1 bili su izrazito niski (1,12 i 0,62 mg ECR/100 g s.m) u poređenju sa PP2 i KP3, dok ih u PP1 nije bilo pri određivanju (tabela 7). Antocijani su prirodno prisutni pigmenti u šljivi koji daju crvenkasto-ljubičaste tonove proizvodima od šljive, ali su termolabilna jedinjenja sklona degradiranju tokom termičke obrade, što se odražava i na boju proizvoda. Može se uočiti da je uzorak PP2 prema maksimalnim sadržajima ukupnih fenola i flavonoida u setu posmatranih uzoraka na trećem mestu, odnosno na prvom, ukoliko se posmatra sadržaj antocijana. Prema tome, integrisanje tropa od šljive u proizvod ima potencijal da poveća koncentraciju fenolnih komponenti u gotovom proizvodu, a pre svega antocijana.

Kako su antocijani nosioci crvenkasto-ljubičastih tonova, prema podacima iz tabele 7 može se uočiti da proizvod PP2 ima najvišu vrednost a* komponente boje (značajno različita na statističkom nivou od ostalih uzoraka), koja ukazuje da boja proizvoda sa dodatkom tropa (PP2) teži crvenim nijansama. Vrednosti a* uzoraka KP2 i KP3 bile su niže (10,96 i 10,91), dok su izmerene vrednosti a* kod KP1, PP1 i PP3 skoro dvostruko niže u poređenju sa PP2. Statistički posmatrano, ne postoje značajne razlike u vrednosti a* između uzoraka KP2 i KP3, kao i između KP1, PP1 i PP3 (tabela 7). Uprkos činjenici da je a* komponenta kod ovih grupa uzoraka slična, negativna vrednost b* komponente kod KP3, PP3 i KP1 ukazuje da su plavkasti tonovi doprineli formiranju boje, te je boja uzoraka PP3 i KP3 posmatrana golim okom bila tamnocrvenasta. Pozitivna b* komponenta kod PP2 je dodala žućkaste tonove, pa je u prisutvu velikih količina antocijana (što može da objasni maksimalnu a* vrednost), realna boja vidljiva golim okom bila svetlocrvena. Kako je KP2 imao nižu a* vrednost i višu b* (2,78) koja daje žućkaste nijanse, kao i najvišu L* vrednost (viša vrednost odgovara svetlijem uzorku) ovaj uzorak je delovao braonkasto ali sa svetlijim tonom. Najtamniji uzorci u ovom setu proizvoda (najniži L*) imali su proizvodi KP1 i PP1, čije su L* i a* komponene statistički posmatrano slične, ali se razlikuju u b* komponenti. Te je tako b* vrednost KP1 (-2,79) 3 puta niža (apsolutna vrednost) u odnosu na PP1, što doprinosi više plavkastim nijansama. Boja proizvoda KP1 vidljiva golim okom imala je tamnije tonove smeđe boje u odnosu na PP1.

Posmatrajući ekstrahovane elemente iz prikazanih krivih *sila-vreme*, dobijene su vrednosti teksturnih parametara (tabela 8). Na osnovu rezultata datih u tabeli 8 može se uočiti da su pojedine krive „bliže“ po formi i vrednostima, te su tako PP1 i PP2 najsličnijeg oblika i svih izmerenih teksturnih parametara. Krive KP1, KP2 i KP3 imale su slične vrednosti pojedinačnih veličina (MF, WoP, WoA), te su tako kod proizvoda KP1 bile oko dva puta veće nego kod KP2 (u absolutnoj vrednosti kod WoA četvorostruko veće), a posmatrajući KP3 skoro dvostruko veće u poređenju sa KP1. Pri penetraciji sonde u uzorak KP3 matriks pruža otpor više nego uzorci KP1 i KP2, što se manifestuje promenom nagiba krive, što se vidi iz izgleda krivih u tabeli 8. Potrebna je manja sila u gradijentnom preseku (IF) da se naruši struktura sistema u slučaju KP1, KP2 i KP3 (0,29-0,58 N), nego u slučaju PP2, PP1 i PP3 (2,28, 2,55 i 5,83 N, redom posmatrano) (tabela 8). Maksimalne i minimalne vrednosti MF, WoP i WoA (apsolutna vrednost) pri penetraciji sonde imaju proizvodi PP3 i KP2 (redom posmatrano).

Tabela 7. Fizičko-hemijska karakterizacija komercijalnih i pilot proizvoda od šljive

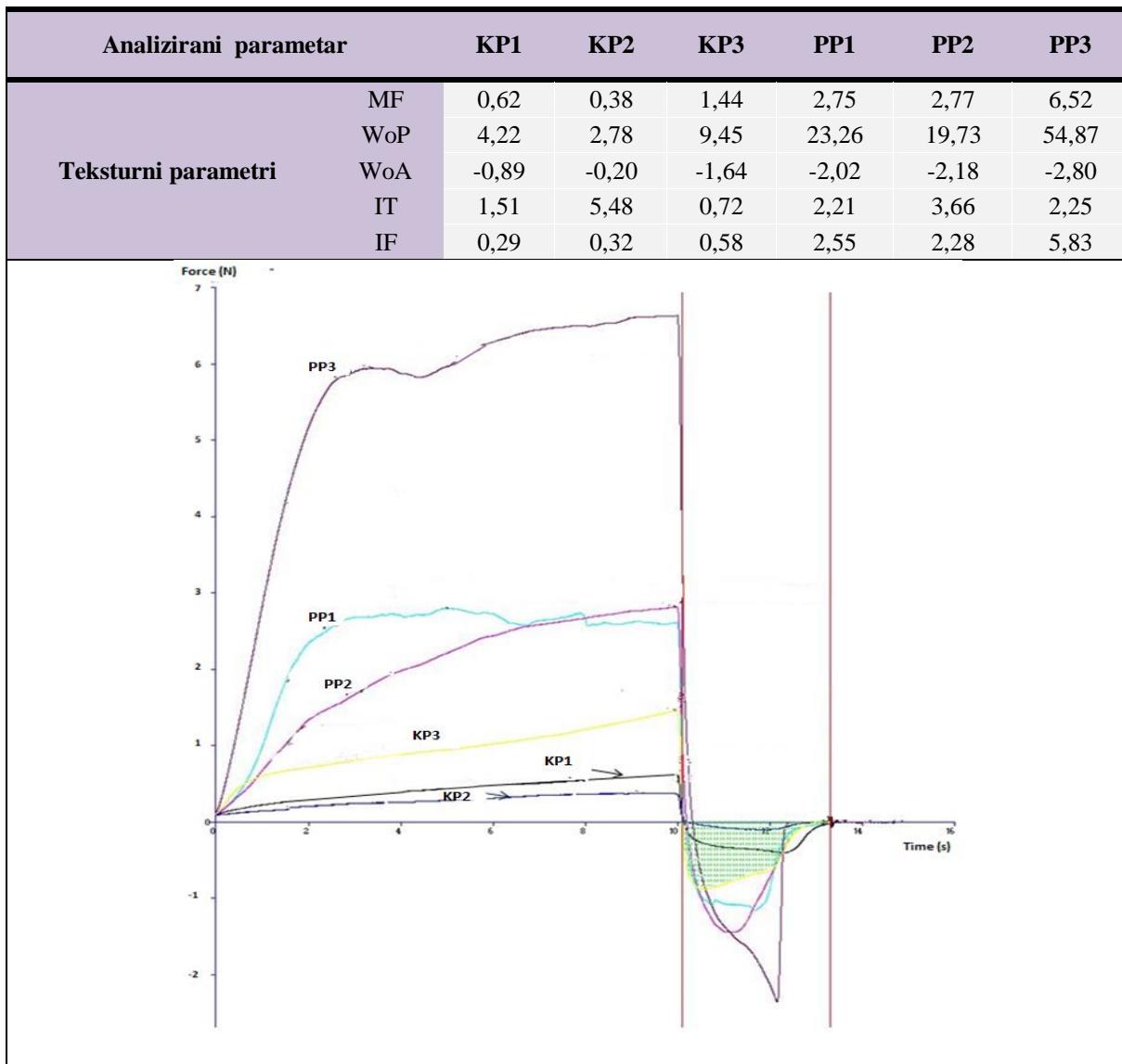
Analizirani parametar	KP1	KP2	KP3	PP1	PP2	PP3
SM (%)	65,07 ± 0,37 ^a	61,84 ± 0,20 ^b	60,56 ± 0,37 ^f	76,85 ± 0,14 ^c	34,24 ± 0,07 ^d	72,01 ± 0,41 ^e
	fruktoza	18,93 ± 0,11 ^a	31,88 ± 0,47 ^b	12,64 ± 0,39 ^e	21,18 ± 0,17 ^c	4,28 ± 0,23 ^d
	glukoza	40,69 ± 0,13 ^a	27,33 ± 0,00 ^b	20,17 ± 3,42 ^d	42,13 ± 0,33 ^a	7,71 ± 0,16 ^c
	saharoza	2,93 ± 0,05 ^a	n.d.	21,64 ± 0,52 ^b	4,78 ± 0,11 ^c	12,99 ± 0,13 ^d
Šećeri (g/100 g)	ukupni šećeri	62,55 ± 0,06 ^a	59,21 ± 0,47 ^a	54,45 ± 2,50 ^d	68,09 ± 0,27 ^b	24,99 ± 0,52 ^c
	SMR (°Brix)	60,32 ± 0,42 ^a	53,07 ± 0,13 ^b	56,26 ± 0,45 ^f	69,76 ± 0,03 ^c	32,59 ± 0,27 ^d
	limunska	0,57 ± 0,00 ^a	n.d.	0,27 ± 0,01 ^e	1,42 ± 0,00 ^b	1,74 ± 0,07 ^c
	L-jabučna	4,20 ± 0,02 ^a	1,56 ± 0,08 ^b	2,11 ± 0,03 ^e	3,48 ± 0,06 ^c	1,74 ± 0,07 ^b
Organske kiseline (g/kg)	D-jabučna	0,03 ± 0,00 ^a	n.d.	0,75 ± 0,11 ^b	0,03 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^a
	ukupna jabučna	4,23 ± 0,02 ^a	1,56 ± 0,08 ^b	2,86 ± 0,14 ^d	3,50 ± 0,05 ^c	1,76 ± 0,07 ^b
	ćilibarna	3,22 ± 0,04 ^a	2,30 ± 0,00 ^b	3,79 ± 0,07 ^d	1,82 ± 0,03 ^c	2,35 ± 0,09 ^b
	ukupne kiseline	8,22 ± 0,05 ^a	3,86 ± 0,08 ^b	6,91 ± 0,22 ^c	6,75 ± 0,02 ^c	5,85 ± 0,22 ^d
pH		3,51	3,32	3,75	3,07	3,17
Fenolna jedinjenja (mg EK/100 g s.m.)	TPC	425,10 ± 3,54 ^a	737,96 ± 3,91 ^b	690,70 ± 3,33 ^b	100,79 ± 2,32 ^c	569,53 ± 5,32 ^d
	TFC	148,30 ± 2,52 ^a	311,09 ± 5,30 ^b	529,67 ± 4,49 ^f	22,99 ± 1,40 ^c	199,67 ± 1,80 ^d
	TMA	0,62 ± 0,04 ^a	1,12 ± 0,36 ^a	24,90 ± 1,21 ^b	n.d.	28,55 ± 1,36 ^b
	L*	19,33 ± 0,10 ^a	24,49 ± 0,83 ^{b,c}	20,08 ± 0,41 ^{a,d,e,f}	19,18 ± 1,25 ^{a,f}	22,13 ± 0,09 ^{a,b,c}
Parametri boje	a*	9,10 ± 0,00 ^a	10,96 ± 0,55 ^b	10,91 ± 0,24 ^b	8,21 ± 0,49 ^a	18,73 ± 0,22 ^c
	b*	-2,79 ± 0,06 ^a	2,78 ± 0,11 ^b	-3,07 ± 0,08 ^a	-0,89 ± 0,14 ^c	4,95 ± 0,25 ^d
						-1,62 ± 0,26 ^e

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost merenja (n=3) ± s.d. (osim pH, n=1). Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja postoji statistički značajna razlika (p<0,05) (Tukey Kramerov test). Fenolna jedinjena su izražena kao mg ekvivalentne komponente (EK)/ 100 g suve materije:

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena (kao ekvivalent galne kiseline), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida (kao ekvivalent katehina) i TMA - sadržaj monomernih antocijana (kao ekvivalent cijanidin 3-rutinozida). SM - ukupna suva materija , SMR - rastvorljiva suva materija (određena refraktometrijski).

Tabela 8. Teksturna svojstva komercijalnih proizvoda KP1, KP2, KP3 i pilot proizvoda PP1, PP2 i PP3 i šematski prikaz kriva *sila-vreme* proizvoda iz koje su dobijeni analizirani teksturni parametri: rad penetracije (N s) (eng. Work of Penetration, WoP), maksimalna sila (N) (eng. Maximal Force, MF), rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion, WoA), vreme u gradijentnom preseku (s) (eng. Intersection Time, IT) i sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force, IF).

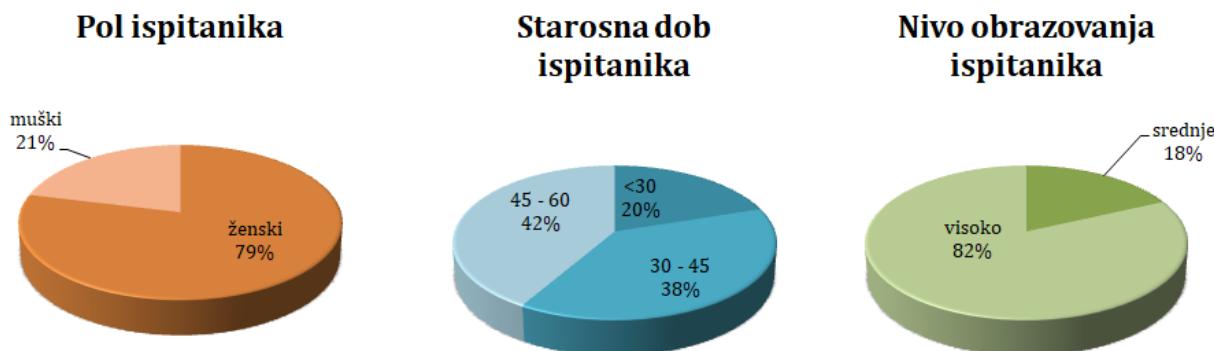
Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost merenja (n=3).



4.3. Potrošački testovi i pronalaženje vodećih senzorskih karakteristika za razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive

Okosnicu doktorske disertacije čini I potrošački test sproveden u inicijalnoj fazi eksperimenta. Primenjen je kako bi se na osnovu senzorske percepcije proizvoda od šljive (kroz prizmu konzumenta) primenom testova preferencije i prihvatljivosti utanačile senzorske osobine koje su najpovoljnije za potrošače i nadalje poslužile kao smernice za razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive. Polazni funkcionalni test proizvod sa dodatkom tropa šljive 1 (PP2) ispitan je u ovom koraku, te su se prikupile informacije o stavovima i utiscima potrošača o novom polaznom proizvodu, kao i njegovojo poziciji u odnosu na ostale prerađevine od šljive u pogledu preferencija potrošača i dopadljivosti, kako samog proizvoda, tako i individualnih senzorskih parametara (boja, tekstura, ukus: slatkoća i kiselost).

Prikupljeni su socio-demografski podaci učesnika potrošačkog panela (slika 24). U potrošačkom panelu preovladavaju ispitanici ženskog pola (79%) i visokog obrazovanja (82%). Starosna struktura panela je heterogena, te je tako 42% populacije starosti od 45-60 godina, 38% (30-45 godina) i manje od 20% su učesnici mlađi od 30 godina (slika 24). Potrošači su se izjasnili i po pitanju afiniteta prema konzumaciji cigareta, pri čemu je 15% pušača i 85% nepušača učestvovalo u ovoj fazi testiranja proizvoda.



Slika 24. Socio-demografski podaci o ispitanicima potrošačkog panela aktiviranog u inicijalnoj fazi eksperimenta

Primenom Likertove skale sa 7 tačaka (vrednost 1 odgovara tvrdnji koju ispitanik smatra potpuno netačnom, dok 7 odgovara tvrdnji koja je prema potrošaču potpuno tačna) identifikovani su mnogobrojni stavovi potrošača u vezi sa navikama u ishrani, sa fokusom na džemove i slične proizvode, o učestalosti konzumiranja istih, preferencijama u pogledu boje, teksture, ukusa, poznavanje oblasti funkcionalne hrane i prisutnosti vlakana u džemovima, kao i ishrani samog potrošača i drugo (slika 25).

Boja džema je izuzetno važan senzorski parameter pri odabiru džema kod 80% anketiranih potrošača (sumiranjem procenata potrošača koji su dali ocene 6 i 7). Preferencije u pogledu teksturnih svojstava džema ukazale su da se potrošačima sviđa džem koji je maziv (92,42%), koji je čvrst (62,12%), dok je džem koji je tečan neprimamljiv za potrošače (83,33%). Stavovi potrošača u pogledu ukusa džema su manje polarizovani na Likertovoj skali, te je tako nakiseo džem podjednako dopadljiv i nedopadljiv za ispitanike ovog potrošačkog panela (40,91 i 42,42%, redom), dok jako sladak džem potrošači više preferiraju (51,52%), što se slaže i sa preferiranjem slatke hrane kod gotovo 65% potrošača.

Potrošači su upoznati sa činjenicom da su vlakna blagotvorna za zdravlje (95% ispitanika), a gotovo 90% potrošača je svesno da vlakna nedostaju u njihovoj dnevnoj ishrani. Gotovo polovina anketiranih učesnika veruje da je džem značajan izvor vlakana, ali čak 80% ispitanika ne kupuje takvu hranu, a velik ideo ni ne jede džem (65,15%). Učestalost kupovine proizvoda sa smanjenim sadržajem šećera je svega 27,27%, dok je stav potrošača o frekvenciji kupovine funkcionalne hrane kod 30,30% ispitanika neutralan, što može biti posledica neinformisanosti potrošača o pojmu funkcionalne hrane, s obzirom da većina potrošača nesvesno konzumira funkcionalnu hranu veoma učestalo (npr. probiotski jogurt).

Udeo voća u džemu je izuzetno važan faktor pri odabiru proizvoda (95,45% potrošača), a prednost pri kupovni ispitanici daju tradicionalnim proizvodima (83,33%). Iznenadjuće je da preko 90% potrošača kao važan faktor pri odabiru džema navodi voćnu vrstu od koje je napravljen.



Slika 25. Stavovi potrošača inicijalnog potrošačkog testa kroz primenu Likert skale.

Dž./p./v.n. - džem/pekmez/voćni namaz

4.3.1. Testovi preferencije

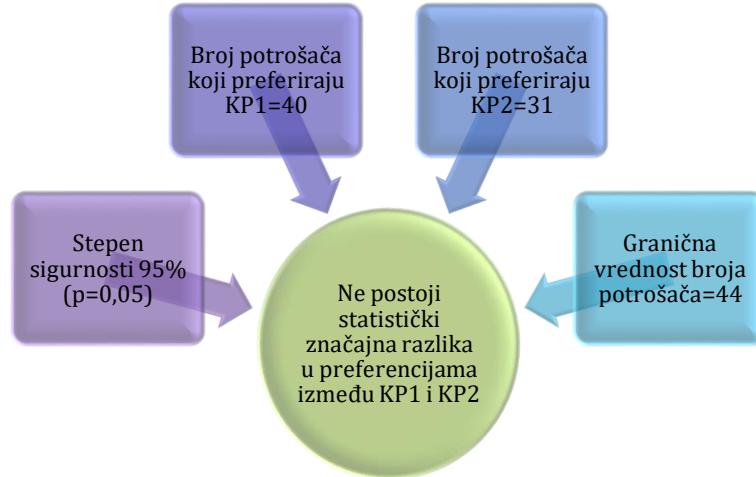
4.3.1.1. *Test preferencije između dva komercijalna proizvoda sa forsiranim izborom*

Test preferencije sa forsiranim izborom sproveden je između dva komercijalna proizvoda, pekmeza KP1 i džema KP2, bez naznake o brendu pod kojim se proizvodi nalaze na tržištu.

Nakon sumiranja odgovora potrošača, pronalazi se granična vrednost (tabela 34, prilog 3) u odnosu na broj potrošača koji je učestvovao u ispitivanju i odabran stepen sigurnosti ($p=0,05$), što omogućava da se utvrdi značajnost preferencije (Lawless i Heymann, 2010). Moguća su dva scenarija:

- kada je broj potrošača koji se opredelio za određeni proizvod veći ili jednak graničnoj vrednosti, taj proizvod potrošači preferiraju značajno više u odnosu na drugi ponuđeni proizvod
- kada je broj potrošača manji od granične vrednosti među ispitivanim proizvodima, nema razlika u pogledu preferencija potrošača.

Rezultati testa prikazani su na slici 26. U sprovedenom testu je ukupno 71 potrošača ispoljilo svoje preferencije, a na osnovu odabralih kriterijuma ustanovljeno je da između KP1 i KP2 ne postoje statistički značajne razlike u pogledu ukupne dopadljivosti za potrošača. Drugim rečima, proizvodi KP1 i KP2 koji se na tržište plasiraju pod poznatim, brendiranim imenima ne poseduju značajne razlike u pogledu ukupne dopadljivosti samog proizvoda za potrošače (bez uvida o kojim se brendovima radi).



Slika 26. Rezultati testa preferencije sa forsiranim izborom između proizvoda KP1 i KP2 ($p=0,05$)

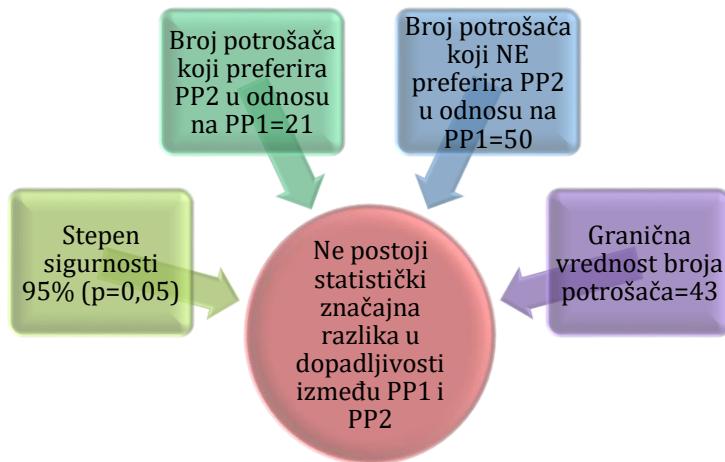
4.3.1.2. Test preferencije u odnosu na zadati proizvod sa forsiranim izborom: između polaznog funkcionalnog proizvoda od šljive i domaće marmelade proizvedenih u pilot postrojenju

Test preferencije sproveden je između dva proizvoda, polaznog proizvoda sa tropom (T-Š1), PP2, i domaće marmelade, PP1. U ovom ispitivanju polazni proizvod se testira u odnosu na zadati proizvod, odnosno u odnosu na domaću marmeladu koja je odabrana jer zadovoljava minimalne kriterijume kvaliteta propisane prema Pravilniku o kvalitetu voćnih džemova, želea, marmelade, pekmeza i zasladdenog kesten pirea (Sl. glasnik RS br. 101/2015). Nakon prikupljanja odgovora pronalazi se granična vrednost u tabeli 35 (prilog 3) za primjenjen test (Lawless i Heymann, 2010) u odnosu na broj potrošača koji je učestvovao u ispitivanju i odabran stepen sigurnosti, a kojom se može utvrditi da se analizirani polazni proizvod (PP2) više dopada potrošačima u odnosu na zadati (PP1).

Postoje dve mogućnosti:

- ukoliko je broj potrošača koji se opredelio za odgovor da im se testirani proizvod više dopada u odnosu na zadati, veći ili jednak očitanom graničnom broju potrošača, zaključak je da taj proizvod značajno više preferiraju u odnosu na zadati i
- ukoliko je broj potrošača koji se opredelio za odgovor da im se testirani proizvod više dopada u odnosu na zadati manji od očitanog graničnog broja potrošača, sledi da među proizvodima nema razlike u pogledu preferencija potrošača.

U ovom testu je svoje preferencije ispoljilo ukupno 71 potrošača. Na osnovu analiziranih rezultata, broj potrošača koji se opredelio za polazni funkcionalni proizvod je manji od granične vrednosti ($20 < 43$), odnosno ne postoje značajne razlike u preferencijama potrošača između PP1 i PP2 za potrošače (ilustrovano na slici 27). Polazni proizvod PP2 se ne dopada potrošačima više od standardne domaće marmelade PP1. Potrebno je utvrditi koja pojedinačna senzorska svojstva utiču na to da se PP2 ne dopada potrošačima kako bi se korigovala dopadljivost proizvoda.



Slika 27. Rezultati testa preferencije u odnosu na zadati proizvod (PP2) sa forsiranim izborom između proizvoda PP1 i PP2 ($p=0,05$)

Potrošači su u ovom koraku testiranja navodili mnoge razloge zbog kojih im se PP2 dopada ili ne dopada u odnosu na referentnu domaću marmeladu, što je pokazano pri analizi

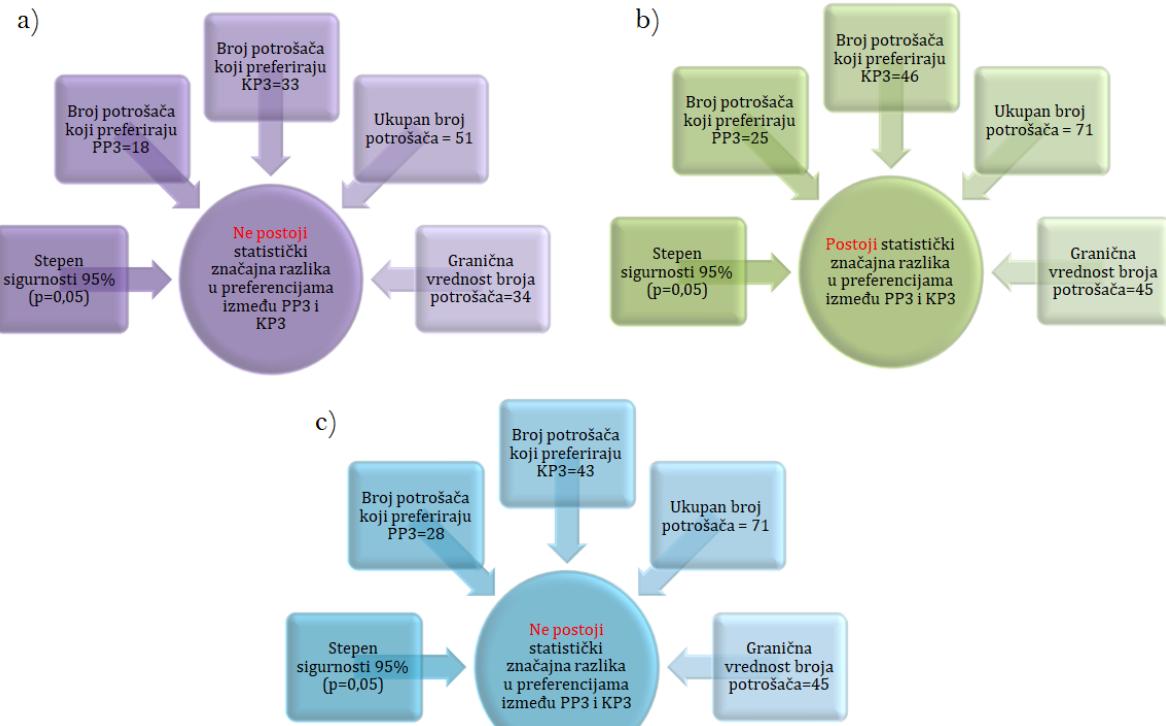
pojedinačnih senzorskih parametara (4.3.2.), te su slični i najfrekventniji odgovori sažeti kako bi se izdiferencirali razlozi koji utiču na takvu odluku potrošača.

4.3.1.3. Test preferencije između džema proizvedenog u pilot postrojenju i komercijalnog pekmeza sa mogućnošću neopredeljenosti

Test preferencije je sproveden između džema PP3 i pekmeza KP3, pri čemu su potrošači za razliku od prethodna dva slučaja, gde je izbor forsiran, imali dodatnu mogućnost da se ne opredele ni za jedan proizvod (odnosno da naznače da im se oba proizvoda dopadaju ili ne dopadaju). S obzirom da se rezultati testa svode na rezultate forsiranog testa, postoje tri načina da se neopredeljeni odgovori tretiraju, kako bi se došlo do vrednosti koja pokazuju da li su prisutne razlike u preferencijama potrošača u pogledu ukupne dopadljivosti proizvoda (slika 28).

Nakon dešifrovanja i brojanja ispravno popunjениh testova dobijeni su sledeći rezultati:

- broj potrošača koji se opredelio za PP3 je 18,
- broj potrošača koji se opredelio za KP3 je 33,
- broj potrošača koji se NIJE opredelio ni za jedan je 4
- broj potrošača koji se opredelio za OBA je 16.



Slika 28. Rezultati testa preferencije sa mogućnošću neopredeljenosti između proizvoda PP3 i KP3 ($p=0,05$): a) kada se broj neopredeljenih potrošača zanemari, b) kada se broj neopredeljenih potrošača raspodeli na oba proizvoda proporcionalno odgovorima i c) kada se broj neopredeljenih potrošača raspodeli jednakom na oba proizvoda

Prvi pristup u analizi dobijenih rezultata je da se zanemari broj neopredeljenih potrošača, što je dalje ilustrovano na slici 28a, na osnovu čega se može uvideti da potrošači ne preferiraju KP3 više u odnosu na PP3, mada je broj potrošača koji preferiraju KP3 izrazito blizak tabličnoj graničnoj vrednosti (tabela 34, prilog 3).

Ukoliko se neopredeljeni potrošači raspodele na jedan i drugi proizvod proporcionalno dobijenim odgovorima, PP3 i KP3 preferiraju redom 25 i 46 potrošača, a na osnovu granične vrednosti i stepena sigurnosti datim na slici 28b može se videti da potrošači preferiraju KP3 proizvod na značajnom nivou u poređenju sa PP3 (tabela 34, prilog 3).

Kada se broj neopredeljenih potrošača raspodeli jednakom na oba uzorka (slika 28c) i odredi se granična vrednost (tabela 34, prilog 3), nema razlika u preferencijama potrošača, odnosno prema preferencijama potrošača u pogledu dopadljivosti samog proizvoda komercijalni pekmez KP3 se ne razlikuje od džema PP3 pripremljenog u pilot postrojenju.

4.3.1.4. Rangiranje proizvoda

Nakon prvih impresija potrošača o proizvodima od šljive, potrošači su imali zadatku da rangiraju proizvode. Rezultati testa prikazani su u tabeli 9. U ovoj fazi eksperimenta potrošački panel je omogućio da se izvedu sledeći zaključci:

- najbolje rangiran proizvod je KP3, ali se njegov rang ne razlikuje statistički značajno od KP1;
- rangovi KP3 i KP1 su značajno niži (niži rang odgovara bolje ocenjenom proizvodu i obrnuto) u odnosu da ostale prozvode;
- rangovi KP2, PP1 i PP3 su bez statistički značajnih razlika;
- rangovi KP2, PP1 i PP3 su viši od rangova od KP1 i KP3, što označava njihov lošiji „plasman“;
- rang proizvoda PP2 je značajno viši u odnosu na ostale proizvode, odnosno najmanje se svideo učesnicima potrošačkog panela.

Rangiranje je pokazalo da su se proizvodi tipa pekmeza od šljiva (KP3 i KP1) izdiferencirali kao najprivlačniji za potrošače, dok je novi eksperimentalni proizvod obogaćen tropom generisanim pri pasiranju šljiva najslabije plasiran. Moguće je da su pekmezi najbolje rangirani jer su po tehnologiji prerade pripremljeni sa najvećom količinom voća ili zato što su tradicionalni proizvodi. Preferiranje tradicionalnih prerađevina od šljive tipa pekmeza od strane konzumenata takođe su pokazali prethodno Culetu i sar. (2014). Prepostavlja se da je polazni funkcionalni proizvod PP2 vrsta proizvoda koja je strana u ishrani potrošača, s obzirom da je poznato da navike potrošača i familijarnost sa proizvodima utiču na njegov opšti utisak. Zbog toga je kreiranje proizvoda obogaćenog tropom potrebno dalje usmeriti na ispitivanje pojedinačnih senzorskih svojstva svih ispitanih proizvoda, kako bi se uvidele prednosti i mane istih sa aspekta senzorskih osobina i kako bi se ukupna senzorska dopadljivost funkcionalnog proizvoda na bazi šljive poboljšala modifikovanjem formulacije. Iz tih razloga primenjeni su testovi prihvatljivosti boje, teksture i ukusa (slatkoća i kiselost).

Tabela 9. Vrednosti sume rangova ispitivanih proizvoda

Proizvod	KP1	KP2	KP3	PP1	PP2	PP3
Zbir rangova	175 ^a	254 ^b	160 ^a	250 ^b	321 ^c	226 ^b

Vrednosti u tabeli označene različitim slovima se statistički značajno razlikuju ($p<0,05$) (Tukey-Kramerov test).

KP1, KP2, KP3 - komercijalni proizvodi (pekmez KP1, džem KP2, pekmez KP3); PP1, PP2, PP3 - eksperimentalni pilot proizvodi (domaća marmelada, polazni funkcionalni proizvod sa tropom T-Š1, džem) (slika 14, slika 21)

4.3.2. Testovi prihvatljivosti pojedinačnih senzorskih karakteristika

4.3.2.1. Test prihvatljivosti boje i teksture

Prilikom percipiranja i odabira prehrambenog proizvoda od strane potrošača čulo vida se prvo aktivira, te je boja jedan od ključnih eliminacionih parametara pri odabiru hrane. Pored boje, teksturna svojstva namaza, pekmeza i ostalih želiranih proizvoda od voća zauzimaju značajno mesto za ovaj tip namirnica u pogledu dopadljivosti pojedinačnih senzorskih svojstava. Tekstura opisuje kako se proizvod „ponaša“ prilikom mazanja na površinu hleba/keksa, kakve je strukture i konzistencije, te kakav osećaj stvara u usnoj duplji između zuba i/ili nepca i na jeziku, ukazuje na veličinu i distribuciju čestica/komadića voća u gel sistemu i dr.

Prihvatljivost boje i teksture svih šest proizvoda ocenjena je pomoću pojedinačnih hedonskih skala sa 9 kategorija, od kojih je ocena bliža broju 1 ukazivala na odbojniji (lošije plasiran) proizvod u pogledu ispitivanog senzorskog parametra, dok je ocena bliža 9 odgovarala privlačnijoj i dopadljivijoj boji/teksturi proizvoda. Rezultati ocena dopadljivosti boje i teksture prikazani su u tabeli 10, a izvedeni zaključci prikazani su na slici 29.

Tabela 10. Vrednosti dopadljivosti boje i teksture ispitivanih proizvoda

Parametar		
Proizvod	Boja	Tekstura
KP1	6,02 ^a ± 2,20	7,30 ^a ± 1,68
KP2	4,91 ^b ± 2,10	5,30 ^b ± 2,35
KP3	7,97 ^c ± 1,20	7,55 ^a ± 1,67
PP1	5,94 ^a ± 1,61	6,83 ^a ± 1,48
PP2	4,38 ^b ± 2,29	4,71 ^b ± 2,25
PP3	7,29 ^c ± 1,51	6,61 ^a ± 1,86

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± s.d. Vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (Tukey-Kramerov test).

KP1, KP2, KP3 - komercijalni proizvodi (pekmez KP1, džem KP2, pekmez KP3); PP1, PP2, PP3 - eksperimentalni pilot proizvodi (domaća marmelada, polazni funkcionalni proizvod sa tropom T-Š1, džem) (slika 14, slika 21).

Tradicionalni prekmez od šljiva KP3 istakao se kao proizvod sa najdopadljivijom bojom i teksturom u zadatom setu uzoraka, posmatrajući srednju vrednost ocena, dok je polazni funkcionalni proizvod PP2 najlošije plasiran.

Pri prethodnom sprovođenju testa preferencije sa forsiranim izborom potrošači su naveli razloge koji su uticali na odabir dopadljivijeg proizvoda. Ovi podaci prikupljeni su sa težnjom da se konkretnizuju i identifikuju pozitivne i negativne osobine proizvoda PP2, kao kritične tačke u daljoj optimizaciji njegove recepture.

Boja proizvoda PP2 je nekolicini potrošača (5/71) delovala neprirodno i odbojno, svetla boja ih nije asocirala na šljivu već na proizvod od drugih voćnih vrsta. Svetla boja je posledica oslobođenih antocijana iz dodate pokožice šljive koja čini trop, koji su se oslobodili tokom kuvanja i očuvali su se u gotovom proizvodu usled kraćeg vremena izloženosti povišenoj temperaturi (poredeći sa tradicionalnim proizvodima). Tekstura PP2 izazvala je kod potrošača više reakcija u poređenju sa bojom (12/71), odnosno dodati trop (koji se sastoji od pokožice šljive), potrošači su okarakterisali kao ljuspice i ili nekuvane komadiće ploda koje osete na

nepcu. Pojedini potrošači su naveli da PP2 ne deluje dovoljno ukuvano, te kao da sadrži samo pasiranu/mlevenu šljivu i da ih ne podseća na džem/pekmez. Drugi učesnici panela naveli su da PP2 deluje kašasto, dok je jedan deo panelista istakao da se proizvod lakše konzumira. Prerada voća do namaza je usmerena ka minimalnom narušavanju senzorskih karakteristika i nutritivnog profila svežeg voća od kojeg se proizvodi (Peinado i sar., 2015). S obzirom da je proizvod PP2 bliži voćnom namazu nego drugim ispitanim tipovima proizvoda, moguće je da su prethodno navedene reakcije potrošača na teksturu i boju posledice kratkog perioda ukuvanja proizvoda (zbog čega deluje neprerađeno). To može biti posledica navika potrošača, pređasnog iskustva u vezi sa prerađevinama od šljive (frekventno kozumiranje pekmeza, džema, marmelade) i generalno male zastupljenosti voćnih namaza u ishrani u odnosu na druge prerađevine od voća.

DOPADLJIVOST BOJE PROIZVODA	DOPADLJIVOST TEKSTURE PROIZVODA
<ul style="list-style-type: none">Najdopadljivija boja je zagasita tamnocrvena boja pekmeza KP3, a na drugom mestu je tamnocrvena boja džema PP3, bez statistički značajne razlike između ocenaDopadljivost boje PP3 i KP3 je statistički značajna u odnosu na ostale proizvodeTamnocrvena boja pekmeza KP1 i domaće marmelade PP1 je na statistički značajno nižem nivou u odnosu na prva dva proizvoda, ali se ne razlikuju statistički značajno međusobnoNajmanje dopadljive boje su smeđa boja komercijalnog džema KP2 i jarko crvena boja polaznog funkcionalnog proizvoda PP2, sa statistički značajnim razlikama u dopadljivosti boje u poređenju sa ostala četiri proizvoda, dok se međusobno ne razlikuju na statistički značajnom nivou	<ul style="list-style-type: none">Najdopadljiviju teksturu za potrošače poseduje komercijalni pekmez KP3, potom po opadajućem redosledu pekmez KP1, domaća marmelada PP1 i džem PP3Razlike između dopadljivosti teksture proizvoda KP3, KP1, PP1 i PP3 nisu statistički značajne, ali su na statistički višem nivou u odnosu na KP2 i PP2Najniže ocene u pogledu dopadljivosti teksture u zadatom setu uzoraka imali su komercijalni džem KP2 i polazni funkcionalni proizvod PP2Srednja vrednost ocene dopadljivosti PP2 na verbalnoj skali kreće se između fraza "niti bi me privukla, niti bi me odbila" i "pomalo bi me odbila"

Slika 29. Prikaz rezimiranih rezultata testova prihvatljivosti boje i teksture komercijalnih i pilot proizvoda od šljive

KP1, KP2, KP3 - komercijalni proizvodi (pekmez KP1, džem KP2, pekmez KP3);
PP1, PP2, PP3 - eksperimentalni *pilot proizvodi* (domaća marmelada, polazni funkcionalni proizvod sa tropom T-Š1, džem) (slika 14, slika 21)

4.3.2.2. Test prihvatljivosti ukusa u pogledu slatkoće i kiselosti

Test prihvatljivosti ukusa sproveden je primenom JAR (*eng. Just About Right*) skala kako bi se ispitalo koliko svaki od proizvoda odstupa ili odgovara optimalnom nivou intenziteta slatkoće i kiselosti. Što je rezultat bliži vrednosti 0, to je percipirano senzorsko svojstvo idealnije za potrošača. Svako svojstvo je ispitano na zasebnoj JAR skali, a vrednosti su sumirane u tabeli 11. Na slici 30 dat je pregled zaključaka koji proizilaze iz rezultata testa.

Tabela 11. Vrednosti prihvatljivosti ukusa u pogledu slatkoće i kiselosti ispitivanih proizvoda

Parametar		
Proizvod	Slatkoća	Kiselost
KP1	$1,02^{a,b} \pm 1,78$	$-0,40^{a,c} \pm 1,51$
KP2	$-0,58^c \pm 1,97$	$0,11^{a,c} \pm 1,85$
KP3	$0,46^b \pm 1,39$	$-0,81^{a,d} \pm 1,63$
PP1	$1,78^a \pm 2,35$	$0,17^{c,d} \pm 2,23$
PP2	$-2,98^d \pm 1,43$	$2,07^e \pm 2,36$
PP3	$1,15^{a,b} \pm 1,82$	$-0,86^a \pm 1,79$

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost odstupanja ocene od optimuma \pm s.d. Vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (Tukey-Kramerov test)

KP1, KP2, KP3 - komercijalni proizvodi (pekmez KP1, džem KP2, pekmez KP3);

PP1, PP2, PP3 - eksperimentalni *pilot proizvodi* (domaća marmelada, polazni funkcionalni proizvod sa tropom T-Š1, džem) (slika 14, slika 21)

Zapažanja potrošača koja su prikupljena kroz test sa forsiranim izborom ukazala su da je ukus značajno uticao na odluku o dopadljivosti između PP1 i PP2. Polazni funkcionalni proizvod sa svežim tropom T-Š1 (PP2) je za velik broj potrošača „manje sladak“ (12/71), što su naveli kao nedostatak, dok je nekoliko (3/71) ukazalo da je to upravo razlog zbog kog im se dopada, te da se lakše konzumira kao da je iz grupe „light“ namirnica. Veliki broj potrošača ukazao je da je kiselost PP2 prenaglašena, odnosno da je proizvod kiseliji, što je uticalo na njegovu manju dopadljivost (20/71).

Test prihvatljivosti ukusa (tabela 11 i slika 30) ukazao je da je PP2 najudaljeniji od idealnih (taman kako treba ili JAR - *eng. Just About Right*) nivoa slatkoće i kiselosti i da su odstupanja intenziteta od optimuma u oba slučaja na statistički značajnom nivou.

PRIHVATLJIVOST UKUSA SLATKOĆA	PRIHVATLJIVOST UKUSA KISELOST
<ul style="list-style-type: none">• Proizvodi KP1, PP1, PP3 i KP3 su sladi, dok su KP2 i PP2 manje slatki od optimuma• Najmanje odstupanje od optimuma u pogledu slatkoće ima komercijalni pekmez KP3, koji je za nijansu sladi, i komercijalni džem KP2, koji je za nijansu manje sladak od JAR vrednosti (bliža 0)• Pekmez KP3 je najbliži optimumu, mada vrednost odstupanja nije statistički značajno različita od KP1 i PP3• Najudaljeniji od optimuma slatkoće je polazni funkcionalni proizvod PP2, čija se vrednost odstupanja značajno statistički razlikuje od odstupanja slatkoće od optimuma kod ostalih proizvoda	<ul style="list-style-type: none">• Proizvodi KP1, PP3 i KP3 su manje kisi od optimuma, dok su KP2, PP1 i PP2 više kisi u odnosu na optimalnu vrednost• Najmanje odstupanje od optimuma u pogledu kiselosti imaju komercijalni džem KP2 i domaća marmelada PP1, koji su za nijansu kiseliji, i pekmez KP1, koji je za nijansu manje kiseo od JAR vrednosti (bliža 0)• Odstupanje vrednosti od optimuma kiselosti za džem KP2 se ne razlikuje statistički značajno od odstupanja ocena ostalih proizvoda, osim za PP2, koji je najkiseliji u posmatranom setu proizvoda

Slika 30. Prikaz rezimiranih rezultata testa prihvatljivosti ukusa (slatkoće i kiselosti) komercijalnih i pilot proizvoda od šljive

KP1, KP2, KP3 - komercijalni proizvodi (pekmez KP1, džem KP2, pekmez KP3);

PP1, PP2, PP3 - eksperimentalni *pilot proizvodi* (domaća marmelada, polazni funkcionalni proizvod sa tropom T-Š1, džem) (slika 14, slika 21)

4.3.3. Tradicionalno proizveden pekmez od šljiva kao model za modifikaciju i razvoj novog funkcionalnog proizvoda od šljive

Nakon sagledavanja kompletne slike proistekle iz primjenjenog potrošačkog testa pokazalo se da se komercijalni pekmez KP3 plasirao visoko po ukupnoj dopadljivosti i pojedinačnim senzorskim parametrima. Rangiranjem je utvrđeno da potrošači najviše preferiraju KP3, i to na statistički značajnom nivou u relaciji sa ostalim uzorcima (KP1 je bez statistički značajne razlike u poređenju sa prvoplasiranim proizvodom).

Primenom testova prihvatljivosti pojedinačnih senzorskih parametara pronađeno je da se KP3 ističe kao proizvod sa najbolje ocjenjenom bojom, a sledeći po dopadljivosti boje je PP3 (bez statistički značajne razlike). Prema instrumentalno određenom atributu boje L^* , uzorak PP2 je bez značajne razlike u odnosu na PP3, ali se razlikuje od KP3, što znači da bi bilo optimalnije da novi uzorak bude blago tamniji. Potrebno je da se brojna vrednost a^* komponente u novom proizvodu smanji tako da se crvenkasti tonovi koji su uočljivi kod polaznog funkcionalnog proizvoda PP2 (poredeći sa PP3 i KP3) usmere ka zelenkastim tonovima. Parametar b^* je neophodno prevesti u negativan deo skale (ili približiti), kao u slučaju optimalnih KP3 i PP3,

odnosno od žućkastih nijansi koje se prisutne kod PP2 (4,95) do plakastih nijansi ($b^*=-3,07$ kod KP3) (tabela 10).

Članovi potrošačkog panela ocenili su da optimalan nivo slatkoće poseduje KP3 (slađi od optimuma), a potom KP2 (manje sladak od optimuma), s tim što se KP1 i PP3 nisu razlikovali na statistički značajnom nivou od KP3. Sadržaj ukupnih šećera kod najoptimalnijeg KP3 proizvoda iznosio je 54,45 g/100 g, a potom je najbliži optimumu bio KP2 (59,21 g/100 g) (tabela 7). Između KP2 i KP1 nije detektovana statistički značajna razlika u pogledu količine šećera (tabela 7), što odgovara i rezultatima potrošačkog testa. Sa druge strane, PP3 je sadržao skoro identičnu koncentraciju šećera kao PP1, a za potrošače je PP3 imao optimalniju slatkoću. Suma glukoze i fruktoze bila je nešto niža kod PP3 (u odnosu na PP1), što se možda odrazilo na ocenu potrošača. Polazni proizvod PP2 imao je gotovo dvostruko manju koncentraciju saharoze i skoro trostruko manje koncentracije fruktoze i glukoze u odnosu na KP3, sa optimalnim nivoom slatkoće na JAR skali. Ukupni šećeri bili su dvostruko manji, te se slast može modifikovati dodatkom šećera, ali u koncentraciji koja neće narušiti dijetetske osobine novog proizvoda koji treba da ima snižen sadržaj šećera, kao i sniženu energetsku vrednost.

Optimalnu kiselost imao je komercijalni proizvod KP2, ne razlikujući se na statistički značajnom nivou od ostalih proizvoda, izuzev od PP2. Statistički značajna razlika u sastavu organskih kiselina između KP2 i PP2 postojala je samo u slučaju limunske kiseljine (posledično ukupnih kiselina) (tabela 7). Indeks slasti, količnik između ukupnih šećera i organskih kiselina, bio je najviši i najniži kod KP2 i PP2 (redom) (KP2>PP3>PP1>KP3>KP1>PP2), što je povezano i sa optimalnjom kiselošću KP2 u odnosu na PP2. UKUS novog proizvoda mora se korigovati u smeru povećanja indeksa slasti, odnosno smanjenjem nivoa kiselosti kroz redukovanje dodatka limunske kiseljine i povećanjem slatkoće kroz dodatak zasladičivača (saharoze).

Anketirani potrošači naveli su da vole mazivu teksturu džema (koja odgovara pekmezima KP3 i KP1 u ponuđenom setu uzoraka), te da više preferiraju čvrst džem (poput džema PP3) u odnosu na retku konzistenciju (kao kod proizvoda KP2). Nakon analize rezultata potrošačkog testa pokazalo se da najdopadljiviju teksturu za potrošače poseduje uzorak KP3, praćen po opadajućem redosledu sa KP1, PP1 i PP3, gde između uzoraka nema statistički značajne razlike, dok je najmanje dopadljiva tekstura KP2 i PP2 (tabela 10, slika 29). Tekstura pekmeza (KP3 i KP1) identifikovana je kao idealna u ponuđenoj grupi uzoraka. S obzirom da su potrošačima po dopadljivosti odgovarale i teksture PP1 i PP3 koje su imale višestruko veće vrednosti instrumentalno analiziranih parametara (čvršća struktura) od KP1 i KP3 (tabela 8), uzorak KP3 je odabran kao najpogodniji za dalju optimizaciju teksture, jer se nalazi „u sredini“ između posmatrana četiri uzorka koji su slične dopadljivosti (bez statistički uočljivih razlika) (prikaz krivih *sila-vreme* u tabeli 8). Vrednosti praćenih teksturnih svojstava uzorka KP3 posmatrane su kao optimalne. Uzorak KP3 proizveden je na klasičan način u domaćinstvu u opštini Osečina, koja je poznata u Srbiji po preradi šljive. Ispitujući tradicionalno proizvedene džemove od šljive bez dodatka šećera, grupa autora iz Rumunije (Culetu i sar., 2014) došla je do sličnog rezultata. Naime, među osam ispitanih uzoraka (različitog geografskog porekla, različite sorte, pripremljnih različitim tehnologijama prerade), najdopadljiviji proizvod (ocena 7,07 na skali od 1-9) bio je džem pripremljen tradicionalno “na vatri” i u šerpi. Visoko ocenjen džem imao je izbalansiran odnos slatkoće i kiselosti, bio je izrazito tamne boje i čvrste konzistencije.

Tekstura polaznog funkcionalnog proizvoda PP2 pripremljenim sa tropom kao osnovnim sastojkom (T-Š1) mora se modifikovati u pogledu načina primene funkcionalnog dodatka, s obzirom da pokožica koja čini trop zaostaje na nepcu i odražava se negativno na mazivost i konzistenciju proizvoda. Neophodno je poboljšati teksturu tako da se ne naruši nutritivni kvalitet

novog proizvoda, a da voćna prerađevina ujedno deluje "ukuvanje", kao što su pekmez ili džem. Kako bi tekstura bila mazivija, potrebno je da se pokožica adekvatno mehanički usitni do forme koja bi se inkorporirala u proizvod, ali je nužno da se ne naruši struktura prehrambenih vlakana.

Boja proizvoda PP2 treba da se približi zagasito crvenoj boji KP3 i tamnocrvenoj boji PP3. Pretpostavka je da se boja PP2 može pomeriti ka tamnijim tonovima ukoliko se trop koji se sastoji od pokožice šljive primeni u sušenoj formi (uz odabir adekvatne tehnike sušenja koja bi minimalno narušila koncentraciju bioaktivnih jedinjenja poput prirodnih bojenih materija u pokožici). Ujedno, osušen trop usitnjen do praha bio bi pogodniji za postizanje ujednačenije i povoljnije konzistencije proizvoda.

Polazeći od činjenica da su ukupna dopadljivost, boja, tekstura i slatkoća proizvoda KP3 istaknute kao najdopadljivije članovima potrošačkog panela (premda bez statistički značajnih razlika u poređenju sa nekim od preostalih uzoraka), pekmez KP3 je identifikovan kao model koji će poslužiti za dalji razvoj funkcionalnog proizvoda, odnosno težiće se dostizanju instrumentalno određenih parametara (boja i tekstura) proizvoda KP3 koji se mogu povezati sa goreispitanim senzorskim parametrima koji su istaknuti kao najdopadljiviji.

4.4. Karakterizacija sirovina za proizvodnju funkcionalnih proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa od šljive

Fizičko-hemijska karakterizacija sirovina za proizvodnju funkcionalnih proizvoda od šljive sa liofilizatom tropa, odnosno proizvoda u procesu optimizacije u laboratorijskim uslovima (FP1-FP5) (II, slika 14), kao i optimalnog razvijenog funkcionalnog i kontrolnog (bez liofilizata) proizvoda u vakuuum ukuvaču (III, slika 14), data je u tabeli 12.

Vlaga tropa šljive 2 i šljive 3 bila je 78,10 i 78,52%, redom. Nakon mlevenja i prosejavanja liofiliziranog tropa određena je ukupna suva materija u oba praškasta uzorka (LT-Š2 i LT-Š3) koji su dalje korišćeni u proizvodnji funkcionalnih proizvoda (tabela 12). Određena je suva materija i u nepasiranoj kaši šljive 2 (NK-Š2) (tabela 12). SM liofiliziranog tropa LT-Š2 (96,40%) sušenog u laboratorijskom liofilizatoru bila je veća na statistički značajnom nivou od LT-Š3 dobijenom sušenjem u industrijskom uređaju (93,60%), što može biti posledica dužeg perioda sušenja LT-Š2 (48h) u poređenju sa LT-Š3 (16h) zbog različitih performansi primenjenih uređaja. Razlike u SM mogu biti i posledica primene različitih uzoraka u dve sezone koje su korišćene za proizvodnju liofiliziranog tropa. Sadržaj SM u liofiliziranom plodu šljive kretao se u intervalu od 88,35 - 93,46% u zavisnosti od sorte šljive, a niža vrednost bila je postignuta u sorti Toptaste (Vakula, 2020). Liofilizacijom se dobija najniži ideo vlage u dve sorte šljiva u poređenju sa konvektivnim i vakuuum sušenjem, kao i najniže a_w vrednosti (Vakula, 2020), koje su značajne i za mikrobiološku stabilnost liofiliziranog tropa. Rastvorljiva suva materija određena je u nepasiranoj kaši šljiva (NK-Š2) i iznosila je 12,45 °Brix. Rastvorljiva suva materija (SMR) NK-Š2 nalazila se u opsegu vrednosti SMR analiziranih u 178 sorti šljiva (Sahamishirazi i sar., 2017).

Sadržaj šećera u sirovinama prikazan je u g/100 g uzorka (u obliku u kojem su korišćene u procedurama kuvanja proizvoda) i u g/100 g s.m. (tabela 12). Koncentracije fruktoze, glukoze i saharoze u nepasiranoj kaši šljiva (NK-Š2) iznosile su 1,85, 4,85 i 2,37 g/100 g. Stacewicz-Sapuntzakis i sar. (2001) izmerili su nešto više prosečne koncentracije fruktoze, glukoze i saharoze u šljivi (3,4, 6,1 i 4,5 g/100 g, redom), ali je fokus tih autora bio usmeren na sorte namenjene za dalje sušenje (sadrže više šećera). Koncentracija ukupnih šećera u nepasiranoj kaši

šljiva (NK-Š2) iznosila je 9,08 g/100 g, a do sličnih rezultata došli su i Tomić i sar. (2019) pri analizi šećera u sortama šljive sa područja Srbije.

Najveću koncentraciju ukupnih šećera (izraženo na s.m.) imala je nepasirana kaša šljiva (NK-Š2) praćena liofilizatima LT-Š3 i LT-Š2, po opadajućem redosledu (tabela 12). Liofilizati tropa, LT-Š2 i LT-Š3 nisu se razlikovali na statistički značajnom nivou u pogledu ukupnih šećera (izraženo u g/100 g) (tabela 12) i bili su skoro identičnih vrednosti (57,78 i 57,43 g/100 g, respektivno). Gumul i sar. (2023) detektovali su visoke koncentracije ukupnih šećera u tropu od aronije (oko 40 g/100 g s.m.), dok je u tropu crne ribizle i trešnje koncentracija bila niža. Saharoza nije detektovana u liofilizatu LT-Š2, dok su koncentracije monosaharida fruktoze i glukoze bile statistički značajno više u liofilizatu LT-Š2 u odnosu na liofilizat LT-Š3, kako je prikazano u tabeli 12. Glukoza je bila dominantni šećer u oba liofilizata tropa (tabela 12), a do istog zapažanja došli su Milala i sar. (2013) pri analizi sastava ugljenih hidrata u liofiliziranim tropovima tri sorte šljive.

Ukupne organske kiseline u nepasiranoj kaši šljive 2 (NK-Š2) bile su prisutne u koncentraciji od 3,60 g/kg, što je niže nego u prethodnim ispitivanjima sadržaja kiselina u šljivama koje su sproveli Tomić i sar. (2019). Količina kiselina u šljivama koju su odredili Tomić i sar. (2019) kretala se u opsegu od 0,89-2,47 g/100 g. Sadržaj ukupnih organskih kiselina bio je gotovo dvostruko veći u nepasiranoj kaši šljive nego u liofilizatima (izraženo na s.m.), kako je prikazano u tabeli 12, s obzirom da su kiseline najvećim delom rastvorljive vodi i nalaze se u vakuolama voćnog tkiva. Koncentracija ukupnih organskih kiselina u liofilizatima tropa bila je oko 1,8 g/100 g s.m, što je bilo približno kiselosti liofiliziranog tropa šljive sorte Promis (2,4 g/100 g s.m) u ispitivanjima Milala i sar. (2013).

Količina limunske kiseline u NK-Š2 bila je zanemarljiva u odnosu na ostale kiseline (0,28 g/kg s.m.), dok u liofilizatima nije pronađena (tabela 12). Mada je jabučna kiselina najzastupljenija u šljivi (Wills i sar., 1983), u sirovinama primenjenim u ovoj disertaciji pokazalo se da je cílibarna kiselina dominantnija kod svih sirovina (tabela 12). Koncentracije ukupne jabučne kiseline i cílibarne kiseline u nepasiranoj kaši od šljiva (NK-Š2) bile su redom 1,56 i 2,02 g/kg, što čini 43 i 56% ukupnih organskih kiselina. Sadržaj ukupne jabučne kiseline i cílibarne kiseline (izraženo na s.m.) u nepasiranoj kaši (NK-Š2) bio je veći nego u liofilizatima tropa. L izomer jabučne kiseline bio je dominantniji u odnosu na D izomer u svim analiziranim sirovinama (tabela 12).

Prehrambena vlakna određena su u sve tri sirovine, a rezultati su dati u tabeli 12. Količina ukupnih prehrambenih vlakana (*eng. total dietary fiber, TDF*) u nepasiranoj kaši šljiva iznosila je 1,90 g/100 g (15,14 g/100 g s.m.) što se nalazi u opsegu koncentracija vlakana u svežoj šljivi (1,3 - 2,4 g/100 g) (Wills i sar., 1983). Prehrambena vlakna akumuliraju se u pokožici ploda šljive (Milala i sar., 2013), zbog čega su koncentracije ukupnih vlakana višestruko veće u liofiliziranom tropu, odnosno LT-Š2 i LT-Š3 nastalih sušenjem egzokarpa ploda šljive (tabela 12). Koncentracije TDF u liofilizatima LT-Š2 i LT-Š3 su 30,89 i 38,98 g/100 g s.m. (respektivno).

Koncentracije nerastvorljive i rastvorljive frakcije prehrambenih vlakana (IDF i SDF) razlikovale su se u nepasiranoj kaši šljiva i liofilizatu LT-Š2. Vrednosti IDF i SDF u sirovini NK-Š2 bile su gotovo jednake (tabela 12), dok je u liofilizatu LT-Š2 frakcija SDF (11,20 g/100 g s.m.) bila skoro upola manja od IDF (20,31 g/100 g s.m.). Rastvorljiva frakcija je daleko manje zastupljena u pokožici nego u mesu ploda šljive prema Kosmala i sar. (2013), a isti trend je pokazala i SDF u liofilizatu LT-Š2 u ovom istraživanju. Rastvorljiva frakcija u NK-Š2 (dobijena od celog ploda šljive) čini skoro 52% ukupnih vlakana, što je u skladu sa prethodnim

ispitivanjima Kosmala i sar. (2013), sprovedenim na različitim sortama šljive. U liofilizatu LT-Š2 odnos SDF/TDF iznosio je 36%, što je veće u poređenju sa rezultatima istih autora (13 do 22%, u zavisnosti od sorte).

Tabela 12. Hemijski sastav sirovina za prozvodnju funkcionalnih proizvoda od šljive

Analizirani parametar		NK-Š2	LT-Š2	LT-Š3
SM (%)		12,58 ± 0,17 ^a	96,40 ± 0,04 ^b	93,60 ± 0,24 ^c
Šećeri (g/100 g)	fruktoza (g/100 g)	1,85 ± 0,05 ^a	17,51 ± 0,24 ^b	10,90 ± 1,54 ^c
	fruktoza (g/100 g s.m.)	14,74 ± 0,40	18,17 ± 0,25	11,65 ± 1,64
	glukoza (g/100 g)	4,85 ± 0,24 ^a	40,27 ± 0,83 ^b	32,57 ± 2,21 ^c
	glukoza (g/100 g s.m.)	38,53 ± 1,92	41,77 ± 0,86	34,80 ± 2,36
	saharoza (g/100 g)	2,37 ± 0,12 ^a	0,00 ^a	13,96 ± 1,67 ^b
	saharoza (g/100 g s.m.)	18,87 ± 0,92	0,00	14,91 ± 1,79
	ukupni šećeri (g/100 g)	9,08 ± 0,41 ^a	57,78 ± 0,78 ^b	57,43 ± 1,00 ^b
	ukupni šećeri (g/100 g s.m.)	72,14 ± 3,25	59,94 ± 0,81	61,36 ± 1,07
SMR (°Brix)		12,45 ± 0,21	-	-
limunska (g/kg)	0,04 ± 0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	
Organske kiseline (g/kg)	limunska (g/kg s.m.)	0,28 ± 0,00	0,00	0,00
	L-jabučna (g/kg)	1,51 ± 0,00 ^a	6,66 ± 0,26 ^b	6,39 ± 0,25 ^b
	L-jabučna (g/kg s.m.)	11,96 ± 0,00	6,91 ± 0,27	6,83 ± 0,27
	D-jabučna (g/kg)	0,05 ± 0,01 ^a	0,46 ± 0,14 ^b	0,44 ± 0,13 ^b
	D-jabučna (g/kg s.m.)	0,40 ± 0,12	0,48 ± 0,15	0,48 ± 0,14
	ukupna jabučna (g/kg)	1,56 ± 0,01 ^a	7,12 ± 0,33 ^b	6,84 ± 0,32 ^b
	ukupna jabučna (g/kg s.m.)	12,36 ± 0,12	7,39 ± 0,34	7,31 ± 0,34
	ćilibarna (g/kg)	2,02 ± 0,16 ^a	10,32 ± 0,22 ^b	9,91 ± 0,21 ^b
	ćilibarna (g/kg s.m.)	16,08 ± 1,25	10,70 ± 0,23	10,58 ± 0,23
	ukupne kiseline (g/kg)	3,60 ± 0,17 ^a	17,44 ± 0,54 ^b	16,74 ± 0,52 ^b
(g/kg s.m.)		28,58 ± 1,33	18,09 ± 0,56	17,89 ± 0,55
pH		3,66 ± 0,02	-	-

Nastavak Tabele. 12

Analizirani parametar		NK-Š2	LT-Š2	LT-Š3
Vlakna	TDF (g/100 g)	1,90 ± 0,04 ^a	29,78 ± 0,44 ^b	36,49 ± 0,49 ^c
	IDF (g/100 g s.m.)	15,14 ± 0,32	30,89 ± 0,46	38,98 ± 0,52
	SDF (g/100 g)	1,05 ± 0,02	19,58 ± 0,57	-
		8,38 ± 0,17	20,31 ± 0,59	-
	SDF (g/100 g s.m.)	0,99 ± 0,03	10,80 ± 0,49	-
		7,84 ± 0,24	11,20 ± 0,51	-
Pektinske materije	pektininska kiselina (pektin) (g/100 g)	0,14 ± 0,00 ^a	0,59 ± 0,00 ^b	0,68 ± 0,03 ^c
	pektininska kiselina (g/100 g s.m.)	1,07 ± 0,02	0,61 ± 0,02	0,73 ± 0,03
	pektinska kiselina (g/100 g)	0,06 ± 0,00 ^a	0,92 ± 0,03 ^b	0,63 ± 0,03 ^c
		0,48 ± 0,01	0,95 ± 0,03	0,67 ± 0,03
	protopektin (g/100 g)	1,43 ± 0,03 ^a	6,49 ± 0,19 ^b	2,88 ± 0,13 ^c
		11,36 ± 0,24	6,73 ± 0,20	3,08 ± 0,14

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=3$) ± sd. Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja postoji statistički značajna razlika ($p<0,05$) (Tukey-Kramerov test).

NK-Š2 - nepasirana kaša šljive 2, LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2, LT-Š3 - liofiliziran trop šljive 3, SMR - rastvorljiva suva materija (određena refraktometrijski), TDF - ukupna prehrambena vlakna, SDF - rastvorljiva prehrambena vlakna, IDF - nerastvorljiva prehrambena vlakna

Prisustvo vlakana u sirovinima može da pomogne u formiranju gel strukture i da doprinese stabilnim teksturnim osobinama proizvoda poput džemova i jogurta, tako što sprečava pojavu sinerezisa (Abid i sar., 2017), gde se tekstura direktno odražava na kvalitet i prihvatljivost proizvoda. S obzirom da oba liofilizirana tropa imaju preko 30% vlakana u suvoj materiji, prepoznati su kao potencijalna alternativa za primenu aditiva pri kreiranju funkcionalnih proizvoda od šljive u ovoj doktorskoj disertaciji.

Pektini su dominantna jedinjenja u rastvorljivoj frakciji vlakana sušene šljive (Nunes i sar., 2008b), dok je u nerastvorljivoj frakciji vlakana dominantna celuloza (Fatimi i sar., 2007). Posmatraјuci koncentracije frakcija pektinskih materija u sirovinama (tabela 12), može se uočiti da je protopektin bio najzastupljenija pektinska materija u sve tri sirovine. Koncentracija protopektina u liofilizatu LT-Š3 iznosila je 3,08 g/100 g s.m., dok je u liofilizatu LT-Š2 bio prisutan u dvostruko većoj koncentraciji (6,73 g/100 g s.m.). U nepasiranoj kaši od šljiva NK-Š2 nalazilo se 11,36 g/100 g s.m (1,43 g/100 g) protopektina. Prema Kosmala i sar. (2013), u pokožici šljive određeno je manje rastvorljivih pektinskih materija nego u plodu šljive nakon ekstrakcije soka primenom enzima. Mada u okviru ove disertacije nisu korišćeni pektolitički enzimi prilikom proizvodnje tropa kao kod Kosmala i sar. (2013), sadržaj pektina bio je niži u liofilizatima tropa u poređenju sa nepasiranim kašom od celog ploda šljive (NK-Š2) (izraženo na s.m.) (tabela 12). Koncentracija pektina u NK-Š2 iznosila je 1,07 g/100 g s.m., dok se u liofilizatima tropa sadržaj pektina kretao u opsegu od 0,61-0,73 g/100 g s.m. Količina pektinske kiseline u NK-Š2 bila je upola manja od sadržaja pektina u toj sirovini. Sadržaj pektinske

kiseline u LT-Š3 (0,67 g/100 g s.m.) takođe je bio manji od pektina (0,73 g/100 g s.m.), dok je u liofilizatu LT-Š2 koncentracija pektinske kiseline (0,95 g/100 g s.m.) bila veća od sadržaja pektina (0,61 g/100 g s.m.) (tabela 12).

Kapacitet vezivanja vode sirovina bogatih vlaknima je tehnološki značajan parametar koji se odražava na primenu istih prilikom proizvodnje hrane. Kapacitet vezivanja vode liofilzata LT-Š3 određen je na dve temperature koje su odgovarale uslovima proizvodnje u laboratorijskim uslovima (80°C) i pod vakuumom (50°C), kako bi se ispratila sposobnost vlakana da vežu vodu u zavisnosti od temperature kojoj se izlažu pri kuhanju finalnog proizvoda. Isti parametar određen je i na kontrolnoj tj. sobnoj temperaturi. Rezultati dati u tabeli 13 pokazuju da je WBC na kontrolnoj temperaturi i na 80°C gotovo identičan i blago veći nego na 50°C, međutim razlika nije statistički značajna. Dobijene vrednosti bile su veće u odnosu za WBC tropa crne ribizle (2,2 g/g) (Kosmala i sar., 2010), osušenog tropa maline i borovnice (2,10 i 3,07 g/g) (Šarić, 2016) i liofilzata tropa paradajza (3,10-3,58 g/g) (Belović, 2016), ali su bile niže od WBC za pokožicu (5,5-7,1 g/g) i plod (12,7-15,6 g/g) tri sorte šljive koje su izučavali Kosmala i sar. (2013). Prema zapažanjima Kosmala i sar (2013), pokožica šljive poseduje dovoljno visoke vrednosti WBC, što je čini pogodnim funkcionalnim sastojkom za primenu u prehrambenom sektoru.

WBC liofiliziranog tropa LT-Š3 nije se menjala u zavisnosti od temperature, s obzirom da nisu detektovane statistički značajne razlike između srednjih vrednosti WBC određenih na sobnoj i povиšenim temperaturama (tabela 13).

Tabela 13. Kapacitet vezivanja vode (WBC) liofiliziranog tropa LT-Š3

Toplotni tretman	Kontrola (sobna t)	t=50°C	t=80°C
WBC _{LT-Š3} (g/g)	3,85 ± 0,05 ^a	3,63 ± 0,13 ^a	3,86 ± 0,16 ^a

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost (n=3) ± sd. Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja postoji statistički značajna razlika (p<0,05) (Tukey-Kramerov test)

Parametri boje nepasirane kaše od šljiva 2 (NK-Š2) i liofilizata tropa (LT-Š2 i LT-Š3) prikazani su u tabeli 14. Između svih praćenih pokazatelja boje (L*, a*, b*, C* i h*) liofilizata tropa LT-Š2 i LT-Š3 postojala je statistički značajna razlika (p<0,05). Svaki od parametara boje bio je statistički značajno veći kod LT-Š2 u relaciji sa LT-Š3 (tabela 14). Liofiliziran trop LT-Š2 bio je svetlij, jarkije crvene nijanse (veća C* vrednost) u odnosu na LT-Š3, koji je bio tamnije crvene boje. Ugao nijanse (h*) uzorka LT-Š2 bio je bliži +b* osi, što znači da sadrži više primesa žute nijanse nego LT-Š3 (uprkos činjenici da su oba h* smeštena između +a* i +b* osi, i taj položaj odgovara crvenoj nijansi boje). Vreme sušenja tropa šljive 2 bilo je duže u odnosu na trop šljive 3, što se verovatno odrazilo na gubitak pigmenata poput antocijana i time dovelo do slabijeg intenziteta boje LT-Š2 u poređenju sa LT-Š3.

Parametri boje L*, a* i b* (47,32; 14,68 i 13,63, redom) liofilizirane pokožice šljive proizvedene od sorte Valor (Michalska i sar., 2019) nalazili su se u intervalima vrednosti liofiliziranog tropa LT-Š2 i LT-Š3 u ovoj disertaciji (tabela 14).

Tabela 14. Instrumentalno određeni parametri boje sirovina za proizvodnju funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa

Parametar boje	NK-Š2	LT-Š2	LT-Š3
L*	22,53 ± 0,14	51,16 ± 0,95 ^a	36,18 ± 1,32 ^b
a*	17,11 ± 0,16	15,34 ± 0,42 ^a	13,74 ± 0,51 ^b
b*	8,42 ± 0,03	16,68 ± 0,30 ^a	8,87 ± 0,45 ^b
C*	19,07 ± 0,14	22,66 ± 0,45 ^a	16,36 ± 0,67 ^b
h*	26,21 ± 0,25	47,39 ± 0,67 ^a	32,85 ± 0,36 ^b

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=5$) ± sd. Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja parametara boje liofiliziranog tropa LT-Š2 i LT-Š3 postoji statistički značajna razlika ($p<0,05$) (t-test).

NK-Š2 - nepasirana kaša šljiva 2 , LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2, LT-Š3 - liofiliziran trop šljive 3

4.4.1. Pregled fenolnih komponenti i antioksidativne aktivnosti sirovina

Sadržaji ukupnih fenola, flavonoida i monomernih antocijana (TPC, TFC i TMA, redom) u NK-Š2 i liofilizatima tropa šljiva 2 i 3 (LT-Š2 i LT-Š3), kao i antoksidativna aktivnost njihovih ekstrakata prema slobodnim DPPH• radikalima date su u tabeli 15. Koncentracije fenolnih jedinjenja, ukupnih flavonoida i ukupnih monomernih antocijana u nepasiranoj kaši šljive NK-Š2, kretale su se po opadajućem redosledu: 49,41 mg EGK/100 g (384,45 mg EGK/100 g s.m.), 32,17 mg CE/100 g (250,29 mg CE/100 g s.m.) i 6,77 mgCRE/100 g (52,65 mg CRE/100 g s.m.). Slične rezultate u pogledu TPC vrednosti NK-Š2 publikovali su prethodno Sahamishirazi i sar. (2017). Određene TPC i TFC vrednosti u kratkotrajno blanširanoj nepasiranoj kaši šljiva 2 (NK-Š2) nalazile su se u opsegu vrednosti dobijenih za TPC i TFC u dve sorte prethodno ispitivanih svežih šljiva (Vakula, 2020), dok je TMA vrednost dobijena u okviru ove doktorske disertacija bila veća.

Opadajući trend koncentracija fenolnih jedinjenja (TPC>TFC>TMA) pored NK-Š2 pokazao je liofiliziran trop LT-Š2. TPC u liofiliziranom tropu LT-Š2 bio je višestruko veći u poređenju sa NK-Š2 ($p<0,05$) (tabela 15). Nisu uočene statistički značajne razlike između NK-Š2 i LT-Š2 u koncentraciji flavonoida i antocijana (izraženo na s.m.). Sa druge strane, kada se rezultat posmatra u formi u kojoj su sirovine primenjene za proizvodnju funkcionalnih proizvoda, može se zapaziti da su vrednost TFC i TMA u liofilizatu tropa LT-Š2 višestruko veće ($p<0,05$) u odnosu na NK-Š2 (tabela 15). Liofiliziran trop LT-Š3 ponašao se isto kao i druge dve sirovine, kada se prati promena TPC i TFC (TPC>TFC), ali se može uočiti da je TMA bio veći od TFC. Sadržaj fenola u LT-Š3 bio je dvostruko veći od LT-Š2 (1096,00 i 537,96 mg EGK/100 g s.m., redom), dok je TMA bio deset puta veći (580,56 mgCRE/100 g s.m.) ($p<0,05$). Međutim, TFC je imao drugačiji trend kada se posmatraju liofilizati, te je LT-Š3 imao manje ukupnih flavonoida od LT-Š2 (210,17 i 250,90 mg EK/100 g s.m., respektivno) ($p<0,05$).

Michalska i sar. (2019) ukazali su da suma polifenolih jedinjenja u osušenoj pokožici šljive zavisi od metode sušenja (liofilizacija, konvenktivno sušenje, mikrotalasno sušenje pod vakuumom i kombinovana poslednja dva tipa sušenja), te se u njihovom ispitivanju suma polifenolnih jedinjenja kretala u opsegu od 841 do 1270 mg/100 g s.m., pri čemu su maksimalne vrednosti postigli primenom liofilizacije. Vrednost TPC liofilizirane pokožice koju su prethodno

dobili Michalska i sar. (2019) bila je nešto viša nego TPC liofiliziranog tropa LT-Š3 i 2,5 puta veća nego TPC liofiliziranog tropa LT-Š2 datih u tabeli 15.

Razlike u koncentracijama fenolnih komponenti i određenih podklasa u liofiliziranim uzorcima zavise od brojnih faktora, uključujući primjenjenu sirovinu za proizvodnju tropa (sorta), uslova sušenja, kao i primenjene analitičke tehnike za njihovo određivanje (Chun i sar., 2003). Antocijani su u ovoj disertaciji analizirani iz etanolnog ekstraka, dok su fenoli i flavonoidi analizirani iz metanolnog ekstrakta, te je moguće da je ta vrsta rastvarača pogodniji ekstraktioni medijum i razlog zbog kojeg je koncentracija TMA>TFC kod LT-Š3 (tabela 15). U ispitivanju uticaja metode sušenja (konvektivno, vakuum sušenje i liofilizacija) i sorte šljive, liofilizacija je pokazala prednost, ali i nedostatak kada se posmatra uticaj na fenole, flavonoide i monomerne antocijane (Vakula, 2020). Liofilizacijom je postignut maksimalan sadržaj flavonoida u obe sorte, kao i viši sadržaj antocijana u odnosu na vakuum sušenje, dok je u slučaju ukupnih fenola liofilizacija imala prednost u odnosu na vakuum sušenje za sortu Anna Spath u prethodnim ispitivanjima (Vakula, 2020). S obzirom da je proces sušenja LT-Š3 tri puta kraći nego LT-Š2, fenolna jedinjenja u osušenom tropu LT-Š3 bila su kraće izložena uticaju temperature koja (mada niža u odnosu na druge tipove sušenja) može da degradira termolabilne polifenole, a pre svega antocijane, koji su izrazito osetljivi. Pored uslova sušenja, razlike u sadržaju antocijana bile su posledica razlika u sirovinama iz dve berbene sezone. Sadržaj TMA u liofilizatu LT-Š3 bio je veći više od deset puta nego u NK-Š2 (izraženo na s.m.), što je posledica veće akumulacije antocijana u pokožici ploda (koja čini trop) u odnosu na meso ploda crveno-ljubičastih sorti (Díaz-Mula i sar., 2009). TMA liofiliziranog tropa LT-Š2 bio je identičan kao i TMA sirovine NK-Š2 (izraženo na s.m.).

Tabela 15. Koncentracija fenolnih jedinjenja u sirovinama i antioksidativna aktivnost sirovina za proizvodnju funkcionalnih proizvoda od šljive

Analizirani parametar		NK-Š2	LT-Š2	LT-Š3
TPC	(mg/100 g)	49,41 ± 1,96 ^a	518,58 ± 12,58 ^b	1026,23 ± 4,79 ^c
	(mg/100 g s.m.)	384,45 ± 15,26 ^a	537,96 ± 13,05 ^b	1096,00 ± 5,11 ^c
TFC	(mg/100 g)	32,17 ± 1,08 ^a	241,86 ± 1,61 ^b	196,79 ± 4,15 ^c
	(mg/100 g s.m.)	250,29 ± 8,41 ^a	250,90 ± 1,67 ^a	210,17 ± 4,43 ^b
TMA	(mg/100 g)	6,77 ± 0,66 ^a	50,69 ± 1,56 ^b	543,60 ± 0,17 ^c
	(mg/100 g s.m.)	52,65 ± 5,11 ^a	52,58 ± 1,62 ^a	580,56 ± 0,18 ^b
IC ₅₀	(mg/ml)	5,79 ± 0,20 ^a	0,91 ± 0,05 ^b	0,24 ± 0,14 ^c

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost (n=3) ± sd u mg ekvivalentog jedinjenja/100 g i 100 g suve materije (s.m.). Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja postoji statistički značajna razlika (p<0,05) (Tukey-Kramerov test).

NK-Š2- nepasirana kaša šljive 2; LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2; LT-Š3 - liofiliziran trop šljive 3.

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja izražen na galnu kiselinu, TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinozid. IC₅₀ je izražen u mg/ml metanolnog ekstrakta i predstavlja koncentraciju ekstrakta koja je neophodna da se neutrališe 50% slobodnih DPPH• radikala

Kada se posmatra antioksidativna aktivnost ekstrakata pomenutih uzoraka, kao najpotentniji u neutralizaciji slobodnih radikala pokazao se ekstrakt liofiliziranog tropa LT-Š3

(manja IC₅₀ odgovara većem antioksidativnom potencijalu ekstrakta), a gotovo četiri puta slabije dejstvo imao je liofiliziran trop LT-Š2. NK-Š2 imao je višestruko veću IC₅₀, a time i manju antioksidativnu aktivnost od liofiliziranog tropa šljive LT-Š2 i LT-Š3. Razlike između srednjih vrednosti IC₅₀ sirovina bile su na statistički značajnom nivou ($p<0,05$).

S obzirom da su fenolne komponente nosioci antioksidativnog potencijala šljiva, postoji značajna korelacija između antioksidativnog kapaciteta i sposobnosti hvatanja slobodnih radikala (Kim i sar., 2003a), te se tako veća antioksidativna aktivnost LT-Š3 može objasniti većim sadržajem ukupnih fenola u odnosu na LT-Š2 i NK-Š2 (imaju manju antioksidativnu moć u odnosu na LT-Š3). Prema Chun i sar. (2003) najveći antioksidativni potencijal u šljivama imaju antocijani, potom kvercetini i hlorogenske kiseline. Ipak, gorenavedeni autori ukazuju da je sadržaj antocijana manji u ukupnim polifenolima i da glikozidni oblici flavonoida (u kojima se i antocijani češće javljaju) imaju redukovana aktivnost u poređenju sa aglikonskim oblikom, te ne utiču značajno na ukupnu antioksidativnost. Sa druge strane, isti autori ističu da su u šljivama dominantne hlorogenske kiseline, te da uprkos manjoj antiksidiativnoj moći više doprinose ukupnoj antioksidativnosti šljiva. Podaci dati u tabeli 15 pokazuju da je suma antocijana u liofilizatu LT-Š3 daleko veća u odnosu na NK-Š2, te je otuda veća i antioksidativna moć.

Profil fenolnih komponenti koje su praćene u sirovinama za proizvodnju finalnog funkcionalnog proizvoda, odnosno nepasiranoj kaši šljive (NK-Š2) i liofilizatu tropa (LT-Š3), predstavljen je u tabeli 16. Može se uočiti da su sve komponente prisutne u većoj količini u liofilizatu nego u kaši od celih plodova šljive, osim neohlorogenske kiseline i katehina, kod kojih je obrnuto. Međutim, ključne komponente, koje prema Chun i sar. (2003) doprinose antioksidativnoj aktivnosti (antocijani, kvercetini i hlorogenska kiselina), su statistički značajno više zastupljene u liofilizatu, što dodatno opravdava veću IC₅₀ liofiliziranog tropa (tabela 16).

Tabela 16. Koncentracija individualnih fenolnih jedinjenja u sirovinama za proizvodnju finalnog razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive

Fenolno jedinjenje	NK-Š2	LT-Š3
neohlorogenska kiselina	84,68 ± 1,89 ^a	51,63 ± 0,89 ^b
katehin	14,76 ± 1,58 ^a	7,22 ± 5,37 ^a
hlorogenska kiselina	8,97 ± 0,19 ^a	31,58 ± 1,01 ^b
kafena kiselina	4,99 ± 0,03 ^a	6,47 ± 3,59 ^a
p-kumarinska kiselina	0,00 ^a	3,61 ± 0,34 ^b
ferulna kiselina	0,00 ^a	3,63 ± 0,37 ^b
rutin	18,48 ± 1,87 ^a	172,69 ± 16,54 ^b
kvercetin	1,09 ± 1,54 ^a	22,63 ± 3,52 ^b
cijanidin 3-glukozid	16,45 ± 0,30 ^a	194,96 ± 2,91 ^b
cijanidin 3-rutinozid	17,97 ± 0,40 ^a	236,30 ± 4,60 ^b

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=3$) ± sd i izraženi su u mg/100 g s.m. Različita slova u istom redu ukazuju da između srednjih vrednosti merenja postoji statistički značajna razlika ($p<0,05$) (t-test).

NK-Š2- nepasirana kaša šljive 2, LT-Š3 - liofiliziran trop šljive 3

Dominanta grupa polifenola u pokožici šljive su flavan-3-oli (polimerni procijanidini, katehin i epikatechin) koji čine 81,3% ukupnih polifenola analiziranih u sušenoj pokožici šljive (Michalska i sar., 2019). Najzastupljeniji flavan-3-oli procijanidin C1 i dimer procijanidin B2

pronađeni su u prahu pokožice šljive, dok ih u soku šljive nije bilo (Michalska i sar., 2019). Polimerni oblici procijanidina u okviru ove disertacije nisu određivani, što može objasniti veće TPC vrednosti za liofiliziran trop LT-Š3 (tabela 15) u poređenju sa sumom individualnih fenolnih jedinjena datih u tabeli 16.

Sledeća grupa koju gore navedeni autori ističu po zastupljenosti u sprašenoj pokožici su fenolne kiseline (12,5%), sa fokusom na neohlorogensku kiselinsku, što odgovara i rezultatima u pogledu zastupljenosti fenolnih kiselina u tropu LT-Š3 istaknutim u tabeli 16. Neke grupe autora identifikovale su neohlorogensku kiselinsku kao glavnu u svežim šljivama (Tomić i sar., 2019; Chang i sar., 2016; Sójka i sar., 2015; Kristl i sar., 2011; Slimestad i sar., 2009; Usenik i sar., 2008; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a; Tomás-Barberán i sar., 2001; Raynal i sar., 1989), a isto se može uočiti za kratkotrajno blanširanu nepasiranu kašu šljiva 2 (NK-Š2) (tabela 16). Neohlorogenska kiselina u NK-Š2 bila je prisutna u najvećoj koncentraciji u odnosu na fenolne kiseline i ostale analizirane fenolne komponente.

Hlorogenska kiselina u liofilizatu tropa bila je prisutna u skoro četiri puta većoj količini nego u nepasiranoj kaši od celog ploda šljive, a dobijena vrednost za LT-Š3 bila je slična kao kod Michalska i sar. (2019). Pojedine fenolne kiseline (p-kumarinska i ferulna) bile su detektovane samo u liofilizatu tropa (tabela 16).

Flavonoidi rutin i kvercetin bili su prisutni u 10 i 20 puta većoj koncentraciji (redom) u liofilizatu tropa (LT-Š3) u poređenju sa NK-Š2, dok su koncentracije antocijana cijanidin 3-glukozida i cijanidin 3-rutinozida bile veće 12 i 14 puta (redom) (tabela 16). Rutin je bio dominantniji flavonoid u odnosu na kvercetin u oba uzorka (tabela 16), a količina u LT-Š3 od 172,69 mg/100 g s.m. je viša skoro četvorostruko od rezultata koje su prijavili Michalska i sar. (2019). Rutin je najzastupljeniji flavonol u šljivama (Kristl i sar., 2011; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a), što je usaglašeno i sa prikazanim rezultatima za NK-Š2 u tabeli 16.

Cijanidin 3-rutinozid preovladava u profilu antocijana šljive (Tomić i sar., 2019; Slimestad i sar., 2009; Usenik i sar., 2008; Raynal i sar., 1989). Koncentracije dva analizirana antocijana u NK-Š2 bile su skoro identične, ali je cijanidin 3-rutinozid bio prisutan u blago većoj koncentraciji u odnosu na glukozid (tabela 16). Isti trend se može uočiti u slučaju tropa, s tim da je razlika između cijanidin 3-glukozida i rutinozida bila veća. Sadržaj individualnih antocijana u LT-Š3 bio je višestruko veći (194,96-236,30 mg/100 g s.m.) u odnosu na prethodno objavljene rezultate za Valor sortu (14,2-26,6 mg/100 g s.m.) (Michalska i sar., 2019), s tim da je u oba slučaja cijanidin 3-rutinozid dominantniji antocijanin.

4.5. Hemijske osobine, tekstura i boja funkcionalnih proizvoda od šljive obogaćenih liofiliziranim tropom od šljive

Voćni proizvodi od šljive, odnosno funkcionalni proizvodi (FP1-FP15) pripremljeni su od nepasirane kaše šljiva 2 (NK-Š2) sa dodatkom praha dobijenog od liofiliziranog tropa šljive 2 (LT-Š2) (II, slika 14) u laboratorijskim uslovima. Fizičko-hemijske osobine proizvoda, odnosno pH, a_w , ukupna i rastvorljiva suva materija (SM i SMR), dati su u tabeli 17.

U okviru eksperimenta, LMA pektin (DE=30-35%, DA=15-20%) primenjen je u zadatim formulacijama po preporukama proizvođača (Vinipex d.o.o.), kao i predlozima Herbstreith&Fox, svetski priznate kompanije za proizvodnju pektina (za pektin sličnih osobina). Svi proizvodi (FP1-FP15) dostigli su zadatu vrednost rastvorljive suve materije (39,97 - 41,82°Brix), koja se

nije stastistički značajno razlikovala između svih posmatranih uzoraka (tabela 17), odnosno postignuta je konstantna SMR kod svih uzoraka.

Ukupna suva materija (SM) proizvoda kretala se u opsegu od 43,55 (FP2) do 46,50% (g/100 g) (FP3). Najviša SM određena je u proizvodu sa maksimalnom količinom šećera i minimalnom količinom liofiliziranog praha od tropa (FP3), dok je obrnut trend ova dva sastojka (najniži udeo šećera i najviši udeo liofiliziranog tropa) doveo do proizvodnje funkcionalnog proizvoda sa najnižom SM (FP2) (tabela 17). Posmatrajući uzorku kod kojih je dodato 2 i 10% liofiliziranog tropa i LMA je na konstantnom nivou, vidi se da dodatak šećera jedini dovodi do značajnog povećanja SM u recepturama (FP1, FP3; FP2, FP4). Slično, kod uzorka sa 6% liofiliziranog tropa, povećanje udela šećera se oslikalo na povećanje SM vrednosti (FP9, FP10; FP11, FP12), ali razlike nisu bile na statistički značajnom nivou (tabela 17).

Tabela 17. Rezultati merenja fizičko-hemijskih parametara funkcionalnih proizvoda od šljive (FP1-FP15)

Uzorak	Nezavisno promenljive			SM (g/100 g)	SMR (°Brix)	pH	a_w
	LT-Š2	Šećer	LMA				
FP1	2	10	0,1	44,48 ± 0,36 ^{a,b,c}	40,23 ± 0,41 ^a	3,61	0,91
FP2	10	10	0,1	43,55 ± 0,31 ^a	40,02 ± 2,23 ^a	3,35	0,92
FP3	2	20	0,1	46,50 ± 0,74 ^d	41,82 ± 0,06 ^a	3,45	0,92
FP4	10	20	0,1	45,33 ± 0,06 ^{b,c,d}	40,38 ± 0,14 ^a	3,40	0,93
FP5	2	15	0	45,83 ± 0,28 ^{c,d}	41,12 ± 0,54 ^a	3,51	0,93
FP6	10	15	0	43,97 ± 0,03 ^{a,b}	39,97 ± 0,89 ^a	3,46	0,94
FP7	2	15	0,2	44,86 ± 0,73 ^{a,b,c}	41,31 ± 0,92 ^a	3,51	0,94
FP8	10	15	0,2	43,70 ± 0,68 ^a	40,01 ± 2,19 ^a	3,47	0,93
FP9	6	10	0	43,87 ± 0,38 ^{a,b}	39,95 ± 0,07 ^a	3,54	0,91
FP10	6	20	0	43,99 ± 0,21 ^{a,b}	40,05 ± 0,24 ^a	3,58	0,93
FP11	6	10	0,2	44,04 ± 0,04 ^{a,b}	40,20 ± 0,08 ^a	3,53	0,93
FP12	6	20	0,2	44,74 ± 0,29 ^{a,b,c}	40,13 ± 0,38 ^a	3,55	0,93
FP13	6	15	0,1	43,74 ± 0,47 ^a	40,23 ± 0,75 ^a	3,58	0,93
FP14	6	15	0,1	44,86 ± 0,08 ^{a,b,c}	40,31 ± 0,35 ^a	3,53	0,93
FP15	6	15	0,1	44,60 ± 0,29 ^{a,b,c}	39,97 ± 0,18 ^a	3,50	0,92

Rezultati za SM i SMR su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=3$) ± sd. Različita slova u istoj koloni ukazuju da između srednjih vrednosti merenja izmerenih parametara postoji statistički značajna razlika ($p<0,05$) (Tukey-Kramerov test). Vrednosti pH i a_w su predstavljeni u jednom merenju ($n=1$).

LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2; LMA - amidirani niskoesterifikovani pektin; FP1-FP15 -funkcionalni proizvodi od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa LT-Š2; SM - ukupna suva materija; SMR - rastvorljiva suva metrija

Vrednosti pH nalazile su se u intervalu od 3,4 do 3,61, što je u saglasnosti sa preporukama za dijetetski džem (Downing, 1996), osim u slučaju FP2, čija je pH nešto niža (3,35). Formulacije uzorka FP1 (pH=3,61) i FP2 (pH=3,35) imale su najnižu količinu šećera (10%) i srednji udeo LMA pektina (0,1%) u inicijalnoj smeši za pripremu, dok je udeo liofiliziranog tropa bio na minimalnom i maksimalnom nivou (respektivno). Niža pH uzorka FP2 verovatno je posledica kiselosti sirovine LT-Š2, te se usled dodatka veće količine liofiliziranog tropa koncentrišu kiseline u matriksu uzorka, što doprinosi i većoj ukupnoj kiselosti (odnosno nižoj izmerenoj pH) proizvoda. Određene pH vrednosti bile su više nego u džemovima od šljive (2,97-3,02), koje su prijavljene u prethodnim istraživanjima (Kim i Padilla-Zakour, 2004), ali su džemovi imali višu rastvorljivu suvu materiju (65°Brix) nego proizvodi FP1-FP15 ($\approx 40^{\circ}$ Brix).

Aktivnost vode funkcionalnih proizvoda bila je u opsegu od 0,91 do 0,94 (tabela 17). Aktivnost vode bila je visoka s obzirom na niži sadržaj šećera u voćnoj prerađevini (Abid i sar., 2018). Džemovi od nara koje su Abid i sar. (2018) pripremali sa različitim koncentracijama šećera, kuvani su do 65°Brix, te su svi imali niže a_w od prikazanih rezultata u tabeli 17. Imajući u vidu činjenicu da je a_w veća od 0,90, proizvodi FP1-FP15 bili su pogodna podloga za razvoj mikroorganizama kao što su kvasci i plesni (Petrucci i sar., 2017). Da bi se prolongirao rok trajanja takvih voćnih prerađevina, proizvode je potrebno konzervisati primenom pasterizacije ili hemijskih konzervanasa u koncentracijama koje su dozvoljene Pravilnikom o prehrambenim aditivima (Sl. glasnik RS, 53/2018). Rok trajanja može se produžiti i čuvanjem proizvoda na niskim temperaturama. Skladištenje niskokaloričnih džemova na nižim temperaturama utiče i na očuvanje boje džema, koja potiče od prisutnih antocijana (Holzwarth i sar., 2013; Shinwari i Rao, 2018).

4.5.1. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na fenolne komponente i antioksidativnu aktivnost funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa

Proizvodi od šljive FP1-FP15 okarakterisani su u pogledu sadržaja ukupnih fenola, flavonoida, monomernih antocijana i antioksidativne aktivnosti prema slobodnoim DPPH• radikalima (TPC, TFC, TMA i IC₅₀, respektivno) (tabela 18).

Najviša TPC vrednost izmerena je u formulaciji FP2, a potom u FP11, FP9 i FP6, dok je najniža TPC određena u FP3, praćena uzorcima FP7 i FP5 koji su bili nešto viši (tabela 18). Flavonoidi, kao široka podgrupa fenola, ponašali su se u istom maniru kao TPC. Povećanje udela liofiliziran tropa šljive (LT-Š2) u matriksu proizvoda od šljive, verovatno je posledično vodilo ka povećanju TPC, TFC i TMA u gotovom proizvodu. Ovo je rezultat koncentrisanja fenolnih komponenti poreklom iz pokožice šljive (Díaz-Mula i sar., 2009) koja čini trop (LT-Š2) prilikom isparavanja vode u procesu kuvanja formulacija. Svi proizvodi od šljive (FP1-FP15) pokazuju 16-41% veći sadržaj TMA (izražen na svež uzorak) u odnosu na vrednosti antocijana u džemu od šljiva koji su ranije publikovani (Kim i Padilla - Zakour, 2004). Drugim rečima, obogaćivanje proizvoda liofilizatom tropa šljive uticao je na povećanje udela antocijana u gotovom proizvodu.

Maksimalan sadržaj TMA izmeren je u FP10 (20,2 mg CRE/100 g s.m.) koji je pripremljen sa srednjom količinom liofiliziranog tropa (6%) i najvišom količinom saharoze (20%). TMA od 20,1 mg CRE/100 g s.m. imala je formulacija sa 10% liofiliziranog tropa i 15% šećera (FP8). Niža koncentracija antocijana izmerena je pri upotrebi minimalne količine liofiliziranog tropa (2%) u proizvodnji uzorka.

U ovom eksperimentu minimalni nivo saharoze (na srednjem nivou liofiliziranog tropa, 6%) doveo je do najvećih sadržaja TPC i TFC (FP9 i FP11). Koncentracija ukupnih fenola u džemu od jagode (67°Brix) bila je veća u poređenju sa niskokaloričnim džemom (39°Brix) kod kojeg je 30% saharoze supstituisano drugim zaslăđivačima (Kopjar i sar., 2009). Ipak, zapažen trend u pogledu ukupnih fenola i flavonoida (FP9 i FP11), nije uočen u slučaju monomernih antocijana u ovoj disertaciji. Stabilnost antocijana može biti povećana u prisustvu većih količina šećera zbog sniženja a_w vrednosti sa dodatkom šećera (Kopjar i sar., 2009), ali je uticaj šećera na antocijane obrnut kod džemova sa sniženom energetskom vrednošću (Shinwari i Rao, 2018). Pri nižim koncentracijama šećera dolazi do nastanka furfurala (proizvoda Millard-ovih reakcija) koji pospešuju razgradnju antocijana (Shinwari i Rao, 2018). Suprotno navedenom, Kopjar i sar. (2009) izmerili su više vrednosti antocijana u niskokaloričnim džemovima u poređenju sa standardnim, ali je u tim proizvodima 30% saharoze supstituisano kombinacijom fruktoze ili fruktuznim sirupom sa aspartamom.

Tabela 18. Vrednosti ulaznih faktora i izlaznih parametra funkcionalnih proizvoda od šljive namenjeni za razvoj ANN modela

Uzorak	Nezavisno promenljive			Izlazni parametri												SS		
				Hemijski parametri				Teksturni parametri				Parametri boje						
	LT-Š2	Šećer	LMA	TPC	TFC	TMA	IC ₅₀	MF	WoP	WoA	IT	IF	L*	a*	b*	C*	h*	
FP1	2	10	0,1	217,7	111,0	14,3	3,9	1,6	11,5	-2,7	1,8	1,0	18,4	12,5	2,7	12,73	0,21	0,697
FP2	10	10	0,1	289,9	141,5	19,5	3,4	2,8	19,9	-3,8	1,3	1,5	18,2	13,2	2,7	13,52	0,20	0,774
FP3	2	20	0,1	140,0	80,3	13,8	5,2	0,5	3,5	-0,8	0,7	0,2	17,4	13,0	2,2	13,22	0,17	0,197
FP4	10	20	0,1	248,1	114,3	18,4	3,8	0,9	6,0	-1,3	1,3	0,4	17,5	13,4	2,3	13,59	0,17	0,627
FP5	2	15	0	176,1	89,8	13,7	4,6	0,8	5,4	-1,3	0,8	0,4	17,9	13,0	2,6	13,25	0,20	0,488
FP6	10	15	0	271,0	128,5	19,5	3,5	1,4	10,0	-2,1	1,3	0,7	18,1	13,3	2,5	13,52	0,19	0,842
FP7	2	15	0,2	170,7	83,5	14,4	4,8	1,0	6,9	-1,6	0,7	0,5	17,9	12,9	2,6	13,14	0,20	0,578
FP8	10	15	0,2	261,8	123,1	20,1	3,5	1,9	13,7	-2,7	1,3	1,1	17,7	13,2	2,5	13,45	0,18	0,768
FP9	6	10	0	275,5	128,3	16,6	3,6	2,2	15,9	-3,7	1,0	1,1	17,7	13,5	2,9	13,80	0,21	0,690
FP10	6	20	0	199,7	101,2	20,2	4,4	0,7	4,5	-0,9	0,7	0,2	17,3	13,6	2,4	13,79	0,18	0,457
FP11	6	10	0,2	278,9	134,6	17,7	3,4	2,7	19,5	-4,2	1,7	1,6	18,4	13,1	2,8	13,37	0,21	0,719
FP12	6	20	0,2	190,9	102,8	17,2	4,5	0,9	6,0	-1,2	0,8	0,4	17,2	13,5	2,3	13,72	0,17	0,493
FP13	6	15	0,1	230,6	118,3	15,7	3,9	1,3	9,5	-2,1	0,9	0,6	17,4	13,4	2,6	13,68	0,19	0,682
FP14	6	15	0,1	228,0	119,7	16,5	3,9	1,4	9,6	-2,2	1,2	0,6	17,4	13,3	2,5	13,58	0,19	0,689
FP15	6	15	0,1	224,1	115,6	15,8	4,0	1,4	9,4	-2,1	1,1	0,6	17,7	13,2	2,6	13,49	0,20	0,704

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost merenja (n=3). FP (1-15) - uzorci funkcionalnih proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa; LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2; LMA - amidirani niskoesterifikovani pektin; TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.); TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin (mg EK/100 g s.m.); TMA - sadržaj monomernih antocijanina izražen na cijanidin 3-rutinozid (mg ECR/100 g s.m.); IC₅₀ - koncentracija ekstrakta neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala (mg/ml); MF - maksimalna sila (N) (eng. Maximal Force); WoP - rad penetracije (N s) (eng. Work of Penetration); WoA - rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion); IT - vreme u gradijentnom preseku (s) (eng. Intersection Time); IF - sila u gradijentnom preseku (eng. Interception Force); L*, a*, b*, C* (zasićenje boje), h* (ugao nijanse) - parametri boje; SS - vrednosti standardne ocene (eng. Standard Score).

Džemovi i slični proizvodi predstavljaju kompleksne smeše fenolnih jedinjenja koje karakteriše različita kinetika degradacije (Turturică i sar., 2016). Prilikom kuvanja dolazi do gubitaka određenih termolabilnih fenolnih jedinjenja, a glavni gubici se događaju u grupi antocijana (Kim i Padilla-Zakour, 2004; Poiana i sar., 2012; Shinwari i Rao, 2018). S obzirom da su antocijani podložniji termalnoj degradaciji (Ahmed i sar., 2004), promene u sadržaju TMA su izraženije nego u sadržaju TPC. Zato je antioksidativna aktivnost proizvoda primarno određena sadržajem TPC i TFC, a ne sadržajem TMA što potvrđuje i značajna negativna korelacija između antioksidativne aktivnosti i fenola i flavonoida ($r \approx -0,97$) u poređenju sa manjom vrednošću korelacije sa antocijanima ($r = -0,613$) (tabela 19). Isto je uočeno za ekstrakte šljive ispitivane u istraživanjima koje su sproveli Turturică i sar. (2016). Višem antioksidativnom kapacitetu uzoraka odgovara niža IC_{50} koncentracija ekstrakta, te su tako proizvodi sa visokim TPC i TFC vrednostima potentniji u hvatanju slobodnih DPPH[•] radikala pri nižim koncentracijama ekstrakta (tabela 18). Poiana i sar. (2013) ukazali su da povećanje LMA u formulaciji može da poveća udeo antocijana i posledično TMA. Pozitivan efekat pektina na retenciju antocijana objasnili su pretpostavkom da dolazi do povećanja elektrostatičkih interakcija između flavilijum katjona pigmenta (antocijana) i disosovanih negativno nanelektrisanih karboksilnih grupa u lancima pektina. Isti uticaj LMA na sadržaj TMA može se zapaziti u ovom eksperimetu (uzorci FP5-FP9 i FP11). Međutim, rezultat PCA analize (slika 31) pokazuje da je korelacija između LMA i TMA manja nego korelacija između liofiliziranog tropa i šećera sa antocijanima.

Tabela 19. Korelacioni koeficijenti između IC_{50} i fenolnih jedinjenja funkcionalnih proizvoda FP1-FP15

	TPC	TFC	TMA
IC_{50}	-0,981*	-0,967*	-0,613*

*Korelacije su značajne na $p < 0,05$.

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja; TFC - sadržaj ukupnih flavonoida; TMA - sadržaj monomernih antocijana; IC_{50} - koncentracija ekstrakta neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH[•] radikala

4.5.2. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na parametre boje funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa

Pored visoke bioaktivnosti funkcionalnih proizvoda od šljive, kvalitet proizvoda je određen tehnološkim svojstvima poput boje i teksture, te su ovi parametri takođe praćeni kod svih formulacija (FP1-FP15) (tabela 18).

Parametri boje kod FP1-FP15 bili su približnih vrednosti i kretali su se u sledećim opsezima: L* (17,2-18,4), a* (12,5-13,6), b* (2,2-2,9), C* (12,73-13,80) i h* (0,17-0,21) (tabela 18). Crvena boja (predstavljena parametrom a*) određena je primarno sadržajem antocijana u ovim proizvodima što potvrđuje umerena korelacija između a* i TMA ($r = 0,593$) u poređenju sa slabom korelacijom između a* i TPC ili TFC ($r < 0,3$) (tabela 20). Udeo šećera i LMA nije uticao na promenu crvene boje džemova od nara u prethodnim ispitivanjima (Abid i sar., 2017). Pomenuti autori zaključili su da različite koncentracije pektina korištene u pripremi džemova od nara sa 10 i 20% šećera nemaju uticaj na prametar a*, a slično se može uočiti u tabeli 18 kada se posmatra uticaj pektina na a* (FP5, FP7; FP6, FP8; FP10, FP12). Tokom toplotne prerade u medijumu koji karakteriše niska koncentraciji šećera i kisela sredina pospešuje se nastanak furfurala, komponenti koje iniciraju proces degradacije antocijana (Shinwari i Rao, 2018) kod

svih uzoraka, što može biti posledica bliskih vrednosti parametra a^* , odnosno sličnog intenziteta crvenkaste boje FP1-FP15. Ipak, može se uočiti da veći ideo šećera od 20% vodi blagom povećanju a^* u poređenju sa recepturama sa 10% šećera (FP1, FP3; FP2, FP4; FP9, FP10; FP11, FP12), ali je ta razlika mala (tabela 18). Sa druge strane, korišćeni zaslađivač ima obrnut efekat na b^* i posledično h^* parametar u ispitivanim proizvodima (FP1, FP3; FP2, FP4; FP9, FP10; FP11, FP12) (tabela 18). Millard-ove reakcije mogu biti razlog minimalnih promena u intenzitetu svetloće proizvoda s obzirom da ubrzavaju proces stvaranja smeđih pigmenata (Touati i sar., 2014).

Tabela 20. Korelacioni koeficijenti između parametara boje i fenolnih jedinjenja funkcionalnih proizvoda FP1-FP15

	TPC	TFC	TMA
L*	0,435	0,394	-0,033
a*	0,272	0,273	0,593*
b*	0,556*	0,536*	-0,071
C*	0,334	0,346	0,576*
h*	0,363	0,358	-0,263

*Korelacije su značajne na $p < 0,05$.

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja; TFC - sadržaj ukupnih flavonoida; TMA - sadržaj monomernih antocijana.

4.5.3. Uticaj šećera, liofiliziranog tropa i LMA pektina na teksturne karakteristike funkcionalnih proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa

Variranje udela sastojaka u recepturama FP1-FP15 odrazilo se i na teksturna svojstva gotovih proizvoda. Tipičan primer krive nastale pri izvođenju testa prikazan je u eksperimentalnom delu na slici 20 (funkcionalni proizvod FP6). Ekstrakcijom elemenata od značaja iz dobijenih krivih zavisnosti „sila-vreme“, pri penetraciji sonde u matriks uzorka, prikupljeni su podaci o teksturi (tabela 18). Visoke vrednosti parametara WoP i MF koje su odgovarale proizvodu sa najvećom čvrstinom ispoljio je proizvod FP2 (19,9 N s i 2,80 N, respektivno), a potom FP11 i FP9 (tabela 18). Obrnuto, najmanju čvrstinu imao je uzorak FP3, praćen sa FP10 i FP5. Maksimalne negativne vrednosti WoA (koje odgovaraju adhezivnijim proizvodima) izmerene su redom kod FP11, FP2 i FP9, dok su minimalne bile kod FP3 i FP10.

Slično, otpornost gela koju opisuje IF (sila u gradijentnom preseku) bila je u snažnoj korelaciji sa MF, WoP i WoA. Između IT i IF (vreme i sila u gradijentnom preseku) postojala je pozitivna korelacija ($r = 0,722$, statistički značajna na nivou $p < 0,05$) (tabela 21). Ipak, više vrednosti koeficijenta korelacije zapažene između IF i MF, WoP i WoA ($\approx 0,98$) (tabela 21) ukazuju na činjenicu da je veća vrednost sile u početnim fazama (IF) bolji pokazatelj čvrstine gel sistema ispitivanih proizvoda. Sa druge strane, duže vreme tokom kojeg sistem pruža otpor sondi pri penetraciji u inicijalnim fazama ne znači nužno da je reč o čvršćem proizvodu. IT se nije menjao u skladu sa IF, s obzirom da su na istom IT (1,3 s) izmerene različite IF vrednosti (0,2 - 1,5 N) što se može videti u tabeli 18 (FP2, FP4, FP6 i FP8) (Bajić i sar., 2020).

Tabela 21. Korelacioni koeficijenti između sile u gradijentnom preseku i drugih ispitanih teksturnih parametara funkcionalnih proizvoda FP1-FP15

	MF	WoP	WoA	IT
IF	0,982*	0,985*	-0,972*	0,722*

*Korelacije su značajne na $p < 0,05$.

MF - maksimalna sila (eng. Maximal Force); WoP - rad penetracije (eng. Work of Penetration); WoA - rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion); IT - vreme u gradijentnom preseku (eng. Intersection Time); IF - sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force)

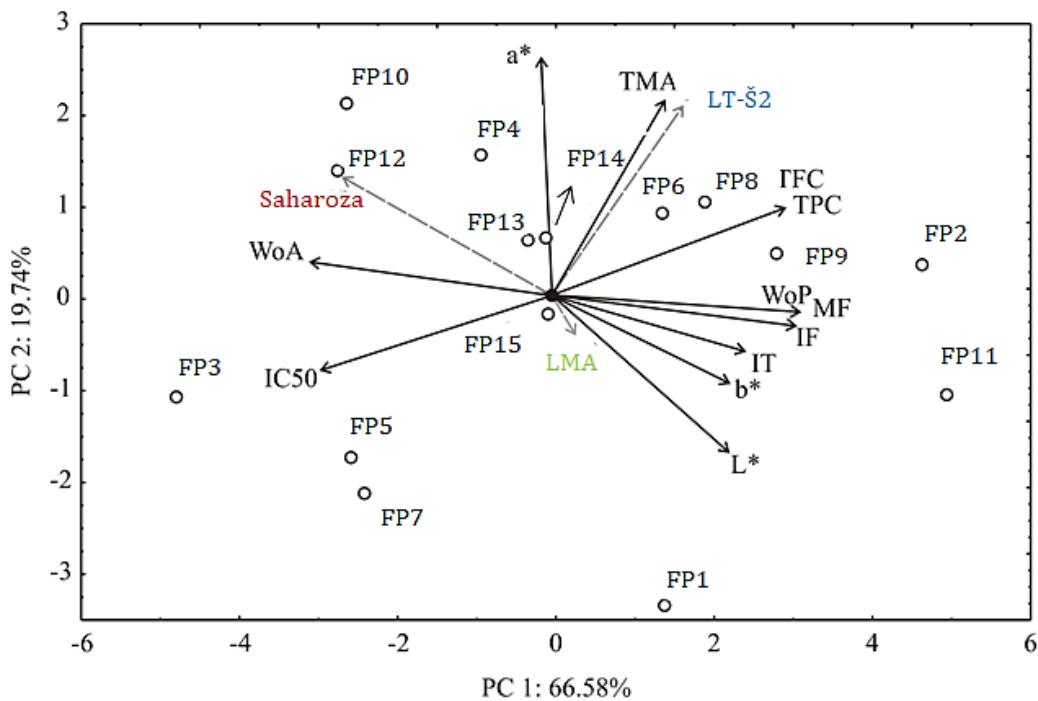
Prilikom praćenja uticaja šećera na čvrstoću i adhezivnost funkcionalnih proizvoda sa liofiliziranim tropom (tabela 18), može se uvideti da dodatak veće količine šećera (20%) dovodi do manje čvrstoće i adhezivnosti proizvoda u poređenju sa upotrebom minimalne količine šećera (10%) (FP1 i FP3; FP2 i FP4; FP9 i FP10; FP11 i FP12). Sličan rezultat publikovali su Abid i sar. (2018). Naime, gorenavedeni autori zaključili su da redukovanjem količine šećera sa 30 na 10% (pri jednakim koncentracijama komercijalnog pektina), dolazi do opadanja čvrstoće i adhezivnosti džemova od nara. Primena pektina na nivou od 0,2% utiče na proizvodnju formulacija koje karakterišu povišene vrednosti MF, IF, WoP i WoA, tj. čvršći i adhezivniji proizvodi u relaciji sa proizvodima koji su pripremljeni bez LMA pektina (FP5-FP12) (tabela 18). Dobijeni rezultat u okviru ove doktorske disertacija bio je usklađen sa prethodno publikovanim rezultatima za žele od jabuka (Garrido i sar., 2015). Suprotno prikazanim rezultatima, druga grupa autora utvrdila je da, u prisutvu 3% vlakana, povećanje količine pektina sa 0,2 na 0,7% ne utiče značajno na čvrstinu džemova od nara (Abid i sar., 2018).

Postojanje razlika u teksturnim svojstvima primarno je uslovljeno variranjem sadržaja šećera i liofiliziranog tropa LT-Š2, kao i njihovim interakcijama. Čestice liofiliziranog tropa šljive (200-400 μm) kompaktne su inkorporirane u strukturu, što se odražava na izmerene parametre. Integriranje maksimalne količine liofiliziranog tropa (10%) povećava otpornost (predstavljene kroz IF), čvrstoću i adhezivnost uzoraka u poređenju sa formulacijama pripremljenim sa minimalnom količinom tropa (2%), što se može videti pri poređenju parova uzoraka (FP1, FP2; FP3, FP4; FP5, FP6; FP7, FP8). Takva zapažanja usaglašena su sa Cappa i sar. (2015) koji su utvrdili da se dodatkom čestica pokožice grožđa u voćne bombone ojačava gel struktura i tvrdoća proizvoda (45-80%) u odnosu na referentni uzorak. Cappa i sar. (2015) su u svom ispitivanju ukazali na postojanje značajnog uticaja veličine čestica pokožice grožđa na distribuciju rastvorljive i nerastvorljive frakcije vlakana u proizvodu, kao i na teksturni profil voćnih bombona. Javanmard i Endan (2010) predložili su mehanizam po kojem čestice pulpe ili nerastvorljiva vlakna utiču na povećanje čvrstoće voćnih džemova. Prema istim autorima, do povećanja čvrstoće dolazi zbog hidratacionih svojstava vlakana, a ne direktnim učestovanjem u izgradnji gel strukture u proizvodu. Ipak, pojedine grupe autora imaju drugačije viđenje, te ističu da dodatak vlakana može da podstakne dalje umrežavanje gel sistema inicijalno formiranog pektinima kao nosiocima takve strukture (Abid i sar., 2018; Igual i sar., 2014). Integriranjem vlakana bambusa u sastav džema od grejpfruta značajno se povećava konzistencija proizvoda (Igual i sar., 2014). Slično tome, dodatkom 8,85% sušene kore nara (sadrži 3% vlakana) povećava se čvrstina džema od nara u odnosu na uzorke koji su pripremljeni sa 3% osušene ili liofilizirane kore nara (sadržaj vlakana je niži) (Abid i sar., 2018). Tekstura funkcionalnih proizvoda od šljive sa liofiliziranim tropom zavisi od primenjene količine liofiliziranog tropa, s obzirom da vlakna poreklom iz liofilizata doprinose povećanju čvrstine i adhezivnosti izučavanih funkcionalnih proizvoda.

4.6. Analiza glavnih komponenti

Multivarijabilni podaci koji su prikupljeni prilikom određivanja hemijskih, teksturnih karakteristika i karakteristika boje funkcionalnih proizvoda od šljive (FP1-FP15) podrobnije su istraženi (u cilju pronalaženja razlika između uzoraka i povezanosti između praćenih parametra) kroz primenu analize glavnih komponenti (*eng. Principal Component Analysis, PCA*). Podaci korišćeni za PCA analizu bili su sledeći: hemijski parametri (TPC, TFC, TMA, IC₅₀), teksturni parametri (MF, WoP, WoA, IF, IT) i parametri boje (L*, a*, b*). Rezultati su predstavljeni u vidu biplot dijagrama koji pokazuju lokaciju uzoraka (FP1-FP15) u PC prostoru u odnosu na rezultate fizičko-hemijske karakterizacije uzoraka.

PCA analizom (slika 31) objašnjeno je da prve dve faktorske komponente opisuju 86,32% ukupne varijanse, pri čemu je doprinos prve glavne komponente (PC 1) 66,58%, dok je doprinos druge glavne komponente (PC 2) 19,74% u okviru dvanaest analiziranih promenljivih.



Slika 31. Rezultati PCA analize, biplot dijagram primjenjen na funkcionalnim proizvodima i promenljivim koje opisuju fizičko-hemijski kvalitet funkcionalnih proizvoda.

FP1 - FP15 - funkcionalni proizvodi od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa; LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2; LMA - amidirani niskoesterifikovani pektin;

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katechin (mg EK/100 g s.m.) i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijandin 3-rutinozid (mg ECR/100 g s.m.). IC₅₀ - koncentracija ekstrakta koja je neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala (mg/ml); WoP - rad penetracije (N s) (*eng. Work of Penetration*); MF - maksimalna sila (N) (*eng. Maximal Force*); WoA - rad adhezije (N s) (*eng. Work of Adhesion*); IT - vreme u gradijentnom preseku (s) (*eng. Intersection Time*) i IF - sila u gradijentnom preseku (*eng. Intersection Force, IF*); L*, a*, b* - parametri boje.

PC 1 se nalazi u pozitivnoj korelaciji sa TPC (10,5% ukupne varijanse, na osnovu korelacija), TFC (10,4%), WoP (11,7%), MF (11,8%), IF (11,6%) i IT (7,2%), dok je u negativnoj korelaciji sa IC₅₀ (10,5%) i WoA (11,6%).

Sa druge strane, PC 2 je u pozitivnoj korelaciji sa TMA (24,5% ukupne varijanse, na osnovu korelacija) i parametrom boje a* (37,2%), a negativan uticaj na izračunavanje PC 2 je zapažen u slučaju parametra boje L* (16,2%).

Blizina tačaka u PC prostoru ukazuje na sličnost obrazaca koje reprezentuju, dok je dužina vektora proporcionalna kvadratu korelacije vrednosti između uklapajuće vrednosti za promenljivu i same promenljive (Krulj i sar., 2016). Najviše vrednosti TPC, TFC, WoP, MF, IF i IT locirane su u desnom prostoru PCA grafika, odnosno kod proizvoda FP2 i FP11. Suprotno, najviše vrednosti parametra WoA i IC₅₀ diferencirali su se u levi deo PCA dijagrama (uzorak FP3). Kao rezultat visokog stepena korelacije između TPC i TFC (manji ugao je proporcionalan većem stepenu korelacije) (Krulj i sar., 2016), TPC i TFC vektori su se poklopili (slika 31). S obzirom na oštar ugao između TPC i TFC sa TMA, postoji snažna korelacija između fenola i antocijana, kao i flavonoida sa antocijanima.

Najviše TMA i a* vrednosti izdvojile su se u gornjem delu dijagrama, dok je najviša L* vrednost uočena kod uzorka koji su se pozicionirali u donjem delu grafika (formulacija FP1). Mali ugao između TMA i a* vektora ukazuje na veći stepen korelacije između promenljivih. U donjem delu dijagrama pozicionirali su se uzorci FP1, FP3, FP5 i FP7, koji su imali niže srednje vrednosti a* (a* = 13,0 ili < 13,0) u odnosu na ostale uzorke, a što može biti posledica primene najniže koncentracije liofiliziranog tropa za njihovu pripremu. Pored niže a*, ove uzorke karakteriše i najniže vrednosti TMA u grupi od petnaest receptura. Na suprotnoj strani, u gornjem delu grafika nalaze se uzorci sa većim TMA što ukazuje da se primena liofiliziranog tropa na 6 i 10% povoljnije odrazila na sadržaj antocijana i posledično uticala na crveniju boju funkcionalnih proizvoda.

4.7. Optimizacija formulacije funkcionalnog proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa

Svaki prehrambeni proizvod mora posedovati odgovarajuću svežinu i izgled, bez vidljivih znakova oštećenja. Kompleksan pojam izgleda hrane obuhvata veličinu, oblik, boju, konzistenciju, površinsku teksturu i mnoge druge parametre koji omogućavaju ocenu i karakterizaciju izgleda (Pestorić, 2016).

Većina potrošača je pod uticajem prethodno zamišljenih ideja o tome kako treba da izgleda hrana/namirnica, te je izgled određen predašnjim iskustvom potrošača, a očekivanja konzumenata o izgledu su psihološki uslovljena (Pestorić, 2016; Szczesniak, 2002). To su potencijalni razlozi koji su doveli do izdvajanja tradicionalnog pekmeza od šljive (KP3) kao proizvoda sa optimalnim fizičkim svojstvima koja su poslužila kao osnov za dalji razvoj funkcionalnog proizvoda od šljive, s obzirom da je taj tip proizvoda dobio najbolje ocene.

Senzorsko svojstvo koje se prvo percipira pri oceni hrane je boja (Kopjar i sar., 2009), te je ona često odlučujući parametar pri donošenju suda o preostalim činiocima izgleda i nutritivnim svojstvima proizvoda (Pestorić, 2016). Kako prvi dojam i utisak o namirnici dolazi vizuelno do potrošača, boja se smatra eliminacionim faktorom pri oceni kvaliteta džemova i sličnih voćnih prerađevina (Abid i sar., 2018). Tekstura i boja su indikatori svežine prerađevina

od voća, pokazatelji potencijalnih grešaka pri procesu prerade (Kamiloglu i sar., 2015), pokazatelji koncentrisanja i stabilnosti pigmenata u proizvodima od voća i stabilnosti proizvoda tokom perioda skladištenja (Holzwarth i sar., 2013). Pri odabiru voćnih žela osjetljivost potrošača uglavnom je određena ukusom i bojom proizvoda (Szczesniak, 2002). S obzirom da tekstura zavisi od mnogobrojnih faktora, proizvodnja želiranih voćnih prerađevina poželjnih teksturnih karakteristika je vrlo zahtevno i izazovno. Upravo su iz gore navedenih razloga tekstura i boja prepoznati kao ključni fizički pokazatelji kvaliteta funkcionalnih proizvoda od šljive.

Poslednjih decenija porasla je svest potrošača o nutraceuticima u hrani, kao i kvalitetu hrane sa bioaktivnim jedinjenjima prirodnog porekla, poput jedinjenja iz klase fenola koje imaju širok spektar farmakoloških aktivnosti i velik potencijal u zaštiti ljudskog zdravlja (Dillard i Bruce German, 2000). Adekvatan i jednostavan put kojim bi se očekivani zahtevi savremenog potrošača ispunili je koncentrisanje fitohemikalija (dokazanog povoljnog dejstva) u regularnoj/uobičajenoj namirnici. Hemijski kvalitet funkcionalnog proizvoda od šljive sa aspekta koncentracije bioaktivnih jedinjenja je u ovoj fazi eksperimenta opisan kroz sadržaj fenola, flavonoida, monomernih antocijana i antioksidativnu aktivnost. Kroz prizmu ova četiri pokazatelja optimizovan je hemijski kvalitet nove prerađevine od šljive.

Kako bi se dobio proizvod bogat bioaktivnim komponentama i željenih fizičkih karakteristika, pre samog procesa prerade neophodno je dobiti optimalne izlazne promenljive kroz ciklus variranja ulaznih promenljivih.

Optimalni opsezi izlaznih prametara prikazani su u tabeli 22. Optimalni opsezi parametara koji opisuju teksturu i boju definisani su na osnovu instrumetalno izmerenih vrednosti teksture i boje sprovedenih na uzorku KP3, tradicionalno proizvedenom pekmezu od šljive koji su prethodno potrošači visoko ocenili po dopadljivosti ta dva fizička atributa, kao i ukupnoj dopadljivosti proizvoda. Pošto je cilj bio postizanje što boljeg kvaliteta sa nutritivog aspekta, kao optimalna vrednost IC_{50} i koncentracije ukupnih fenolnih komponenti (uključujući flavonoide i antocijane) postavljena je najniža (IC_{50}) i najviša (TPC, TFC, TMA) izmerena vrednost praćenih nutritivnih parametara u ispitivanim proizvodima.

Tabela 22. Optimizacija vrednosti za fizičko-hemijski kvalitet funkcionalnih proizvoda od šljive

Parametar	TPC	TFC	TMA	IC_{50}	MF	WoP	WoA	IT	IF	L*	a*	b*
Min vr.	139,97	80,32	13,72	3,36	0,38	2,78	-4,23	0,70	0,20	17,18	8,21	-3,07
Opt min	/	/	/	/	1,30	8,50	-1,48	0,65	0,53	18,08	9,82	-2,76
Opt max	/	/	/	/	1,59	10,39	-1,80	0,79	0,64	22,09	12,00	-3,38
Max vr.	289,88	141,47	20,16	5,20	6,52	54,87	-0,20	5,48	5,83	24,49	18,73	4,95
TK_P	0,075	0,075	0,075	0,075	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,100	0,100	0,100
GTK_P	0,3				0,4				0,3			

TK_P - težinski koeficijent parametra; GTK_P - grupni težinski koeficijent parametara

Standardna ocena je izračunata kako je objašnjeno u eksperimentalnom delu, a rezultati SS dati su u tabeli 18. Maksimalna vrednost SS (tabela 18) predstavlja optimalnu kombinaciju

sastojaka u recepturi proizvoda koja dovodi do optimalnih izlaznih fizičko-hemijskih parametara kvaliteta. Kako je najviša SS ocena (najbliža 1) postignuta kod voćne preparacije pod oznakom FP6, optimalna receptura proizvoda postiže se pri sledećim vrednostima ulaznih promenljivih: 10% liofilziranog tropa LT-Š2, 15% saharoze i 0% LMA pektina. Kombinacija sastojaka voćne smeše FP6 ukazuje da za proizvodnju funkcionalnog proizvoda od šljive optimalnih nutritivno-fizičkih atributa nije potrebna primena komercijalnog pektina, s obzirom da može biti supstituisan kroz primenu funkcionalnog praha od liofilizarenog tropa šljive.

4.8. ANN model

Promenljive date u tabeli 18 korišćene su za modelovanje veštačkom neuronskom mrežom. Optimizacija neuronske mreže podrazumevala je računanje težinskih koeficijenata prema srednjem sloju i prema izlaznom sloju, a tokom građenja neuronske mreže proces je uključivao i različit broj neurona u skrivenom sloju. Kroz ovaj iterativni računski proces, parametri neuronske mreže podešavaju se tako da dobijeni rezultat bude što bliži eksperimentalnim podacima. Na kraju iterativnog procesa dobija se optimalna struktura neuronske mreže, koja predstavlja broj neurona u skrivenom sloju. Oslanjajući se na performanse ANN modela u procesu optimizacije, iz ovog iterativnog proračuna pokazalo se da je optimalan broj neurona u skrivenom sloju mreže koji je poteban da se postignu zadovoljavajuće vrednosti indikatora performansi, odnosno visoke vrednosti koeficijenta determinacije r^2 (dobijena vrednost 0,888) i niske vrednosti sume kvadrata razlika (*eng. Sum of Squares, SOS*), bio devet. Primenjen je višeslojni perceptron model (*eng. Multi Layer Perceptron, MLP*), a mreža je bila MLP 3-9-12. U tabeli 23 prikazane su vrednosti performansi i grešaka modela.

Tabela 23. Rezime ANN modela - prikaz performansi i grešaka tokom ciklusa učenja, testiranja i validacije modela

Naziv mreže	MLP 3-6-18
Performanse ciklusa učenja (r^2)	0,888
Performanse ciklusa testiranja (r^2)	0,951
Performanse ciklusa validacije (r^2)	0,577
Greška ciklusa učenja	0,072
Greška ciklusa testiranja	0,206
Greška ciklusa validacije	0,514
Algoritam učenja	BFGS 23
Funkcija greške	SOS
Aktivaciona funkcija skrivenog sloja - tangens hiperbolikus	Tanh
Aktivaciona funkcija izlaznog sloja - tangens hiperbolikus	Tanh
Naziv mreže	MLP 3-6-18

MLP - višeslojni perceptron model (*eng. Multi Layer Perceptron*); BFGS - algoritam Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno; SOS - suma kvadrata razlika (*eng. Sum of Squares*)

Fitovanje između eksperimentalnih merenja i izlaznih vrednosti promenljivih izračunatih po modelu, koji su predstavljeni kao performanse modela (suma r^2 između izmerenih vrednosti i izračunatih izlaza po modelu) praćeno je kroz korake treninga (učenja), testiranja i validovanja mreže (tabela 24).

Tabela 24. Koficijenti determinacije (r^2) između eksperimentalnih vrednosti i vrednosti izlaza predviđenih ANN modelom tokom ciklusa učenja, testiranja i validacije mreže

	TPC	TFC	TMA	IC ₅₀	MF	WoP	WoA	IT	IF	L*	a*	b*
Učenje	0,992	0,986	0,957	0,982	0,993	0,991	0,973	0,660	0,986	0,676	0,605	0,934
Testiranje	0,976	0,868	0,892	0,975	0,994	0,994	0,965	0,951	1,000	0,998	0,935	0,870
Validacija	0,946	0,788	0,672	0,964	0,937	0,945	0,907	0,744	0,916	0,787	0,276	0,944

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin (mg EK/100 g s.m.) i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinoid (mg ECR/100 g s.m.); IC₅₀ - koncentracija ekstrakta koja je neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala (mg/ml); MF - maksimalna sila (N) (eng. Maximal Force); WoP - rad penetracije (N s) (eng. Work of Penetration); WoA - rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion); IT - vreme u gradijentnom preseku (s) (eng. Intersection Time) i IF - sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force, IF); L*, a*, b* - parametri boje

ANN model primjenjen je kako bi se što bolje predvidele eksperimentalne vrednosti za širok opseg procesnih promenljivih. Za ANN modele, vrednosti predviđene modelom bile su veoma blizu željenim vrednostima u većem broju slučajeva, što potvrđuju r^2 vrednosti. SOS dobijene tokom računanja izlaznih promenljivih pomoću ANN modela su istog reda veličine kao i eksperimentalne greške prikazane u prethodnim istraživanjima (Benković i sar., 2015).

ANN model je kompleksan (sa 156 težinskih koeficijenata - eng. weights i nultih članova - eng. biases) s obzirom na izrazitu nelinearnu prirodu u razvijenom sistemu jednačina (Benković i sar., 2015). Tokom ciklusa učenja dobijene su vrednosti r^2 između eksperimentalno određenih parametara i parametara proisteklih iz ANN-a, te su za analizirane parametre TPC, TFC, TMA, IC₅₀, MF, WoP, WoA, IT, IF, L*, a* i b* vrednosti r^2 iznosile redom: 0,992; 0,986; 0,957; 0,982; 0,993; 0,991; 0,973; 0,660; 0,986; 0,676; 0,605 i 0,934.

U tabeli 25 prikazani su elementi matrice W_1 i vektora B_1 (prikazani u koloni „nulti član“, eng. bias), dok su u tabeli 26 predstavljeni elementi matrice W_2 i vektora B_2 (dat u koloni „nulti član“) za skriveni sloj.

Tabela 25. Elementi matrice W_1 i vektora B_1 (prikazani u koloni „nulti član“)

	LT-Š2	Saharoza	LMA	„nulti član“
1	-0,235	0,899	-0,636	0,933
2	-0,425	0,370	-0,773	0,348
3	0,698	0,167	0,161	1,021
4	1,046	-1,700	2,235	-0,325
5	-0,875	2,712	-1,484	0,524
6	-0,343	0,170	0,268	-0,097
7	-1,309	-0,439	0,685	0,479
8	1,647	0,180	0,147	0,354
9	-0,780	-0,545	-0,239	-0,325

LT-Š2 - liofiliziran trop šljive 2; LMA - amidirani niskoesterifikovani pektin.

Tabela 26. Elementi matrice W_2 i vektora B_2 (prikazani u koloni „nulti član“)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	„nulti član“
TPC	-0,352	0,168	-0,474	0,530	0,082	-0,361	0,495	-0,302	-0,682	1,051
TFC	0,290	-0,240	-0,321	0,571	-0,193	-0,402	0,578	-0,343	0,951	0,770
TMA	-0,320	-0,387	0,264	-0,689	-0,512	0,388	-0,662	0,210	0,441	1,026
IC₅₀	-0,030	0,074	0,467	0,064	0,225	0,002	0,105	0,106	0,110	0,652
MF	-0,401	0,015	-0,397	-0,120	-0,387	0,437	-0,089	-0,054	0,395	0,341
WoP	0,014	-0,096	0,552	-0,484	-0,185	-0,573	-0,494	0,012	-0,051	0,391
WoA	-0,203	-0,307	0,317	0,234	0,026	0,044	0,218	-0,613	-0,653	0,821
IT	0,254	-0,194	-0,314	-0,323	-0,660	0,475	-0,397	-0,272	0,063	0,099
IF	0,082	-0,117	-0,108	-0,151	0,372	-0,018	-0,110	0,553	0,029	0,277
L*	-0,018	0,665	0,036	0,495	0,657	0,077	-0,183	0,400	0,481	1,083
a*	0,294	-0,630	-0,910	0,533	0,159	0,294	0,339	-0,004	0,331	0,416
b*	-0,544	-0,359	0,089	-0,697	-0,061	-0,024	-0,176	0,126	-0,438	0,551

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin (mg EK/100 g s.m.) i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinozid (mg ECR/100 g s.m.); IC₅₀ - koncentracija ekstrakta koja je neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala (mg/ml); MF - maksimalna sila (N) (eng. Maximal Force); WoP - rad penetracije (N s) (eng. Work of Penetration); WoA - rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion); IT - vreme u gradijentnom preseku (s) (eng. Intersection Time) i IF - sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force, IF); L*, a*, b* - parametri boje

Testiran je kvalitet poklapanja modela sa eksperimentalnim vrednostima i sprovedena je rezidualna analiza ANN modela, što je predstavljeno u tabeli 27. Koeficijent determinacije (r^2) treba da je što viši, dok vrednosti ostalih statističkih testova (redukovani χ^2 kvadrat test, eng. Reduced Chi-Square, χ^2 ; srednje greške biasa, eng. Mean Bias Error, MBE; koren srednje vrednosti kvadratne greške, eng. Root Mean Squared Error, RMSE; srednje vrednosti procentualne greške, eng. Mean Percentage Error, MPE) što niži (Arsenović i sar., 2015). Visoka vrednost r^2 koja gravitira ka 1 ukazuje da je postignuto dobro poklapanje dobijenih podataka sa podacima prikupljenim na osnovu predloženog ANN modela (Madamba, 2002).

Koeficijenti determinacije su za većinu izaznih promenljivih imale visoke vrednosti bliže 1 (izuzetak su IT i L* sa $r^2 \approx 0,5$) (tabela 27). Visoka vrednost koeficijenata determinacije (0,888) (tabela 22) ukazuje na činjenicu da se razvijeni ANN model može uspešno primeniti u industrijskim uslovima za predviđanje određenih fizičko-hemijskih karakteristika funkcionalnog proizvoda od šljive sa dodatkom praha od liofiliziranog tropa šljive. Dakle, može se odabrati bilo koji set ulaznih parametara iz opsega zadatih u ovom eksperimentu (liofiliziran trop šljive LT-Š2, 2-10%; saharoza, 10-15%; LMA 0-0,2%) i na osnovu ANN rezultata se mogu predvideti vrednosti izlaznih promenljivih (TPC, TFC, TMA, IC₅₀, MF, WoP, WoA, IT, IF, L*, a* i b*).

Tabela 27. Testovi za ispitivanje adekvatnosti modela i rezidualna analiza razvojenog ANN modela

	Adekvatnost modela					Rezidualna analiza				
	χ^2	RMSE	MBE	MPE	r^2	Skew	Kurt	AV	SD	Var
TPC	180,902	6,015	-0,063	2,213	0,981	-0,123	-0,298	-0,063	6,226	38,760
TFC	210,123	6,483	-1,333	4,315	0,870	-1,388	2,231	-1,333	6,567	43,122
TMA	7,770	1,247	0,212	5,344	0,691	-0,758	2,625	0,212	1,271	1,617
IC₅₀	0,198	0,199	0,065	2,778	0,901	2,219	5,841	0,065	0,195	0,038
MF	3127,572	25,010	-3,960	14,757	0,886	-0,308	1,265	-3,960	25,562	653,392
WoP	161435,713	179,686	5,789	18,229	0,891	-0,444	0,821	5,789	185,896	34557,459
WoA	4478,123	29,927	4,116	-15,694	0,920	0,037	-0,928	4,116	30,683	941,450
IT	0,326	0,255	0,086	14,856	0,528	1,272	2,576	0,086	0,249	0,062
IF	784,275	12,524	-0,615	17,255	0,922	-0,510	1,314	-0,615	12,948	167,654
L*	0,322	0,254	0,021	1,097	0,566	0,027	0,057	0,021	0,262	0,069
a*	0,141	0,168	-0,058	0,915	0,695	-1,241	2,362	-0,058	0,164	0,027
b*	0,043	0,092	-0,021	2,862	0,776	0,460	0,496	-0,021	0,093	0,009

χ^2 - redukovani kvadrat test (eng. Reduced Chi-Square); RMSE - koren srednje vrednosti kvadratne greške (eng. Root Mean Squared Error); MBE - srednje greške biasa (eng. Mean Bias Error); MPE - srednje vrednosti procentualne greške (eng. Mean Percentage Error, MPE); r^2 - koeficijent determinacije; Skew (Skewness) - odstupanje rezidualnih vrednosti od normalne raspodele; Kurt (Kurtoisis) - odstupanje rezidualnih vrednosti od „nazubljenosti“ normalne raspodele; AV (Average) - srednja vrednost; SD - standardna devijacija; Var - varijansa. TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin (mg EK/100 g s.m.) i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinozid (mg ECR/100 g s.m.); IC₅₀ - koncentracija ekstrakta koja je neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala (mg/ml); MF - maksimalna sila (N) (eng. Maximal Force); WoP - rad penetracije (N s) (eng. Work of Penetration); WoA - rad adhezije (N s) (eng. Work of Adhesion); IT - vreme u gradijentnom preseku (s) (eng. Intersection Time) i IF - sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force, IF); L*, a*, b* - parametri boje.

4.9. Karakterizacija razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda od šljive

Probna proizvodnja optimalnog i razvijenog funkcionalnog proizvoda sa dodatkom liofiliziranog tropa od šljive sprovedeno je u vakuum ukuvaču u pilot postrojenju. Pri tome je korišćena receptura dobijena za optimalan funkcionalni proizvod FP6 u laboratorijskim uslovima, a količine sastojaka su srazmerno povećane polazeći od 10 kg inicijalne smeše. Primenjen je liofiliziran trop šljive 3 (LT-Š3), koji je prethodno homogenizovan sa nepasiranim kašom NK-Š2 i vodom, a proces kuvanja je zaustavljen kada je vrednost SMR dospila 40°Brix. Paralelno je pripremljen kontrolni proizvod u vakuum ukuvaču (bez liofilizata) (opisano u 3.4.4). Rezultati nutritivnog sastava i energetska vrednost razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive sa dodatkom praha od liofiliziranog tropa LT-Š3 i kontrolnog proizvoda od šljive (bez liofilizata) proizvedenih u vakuum ukuvaču, predstavljeni su u tabeli 28.

Tabela 28. Nutritivni sastav i energetska vrednost razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda od šljive

Pokazatelj	Razvijeni funkcionalni proizvod	Kontrolni proizvod
SM (%)	42,51	46,55
SMR (°Brix)	40,48	44,16
Pepeo (%)	0,610	0,615
pH	3,51	3,50
Organske kiseline (g/kg)		
limunska	0,39	/
L-jabučna	3,74	/
D-jabučna	0,19	/
ukupna jabučna	3,93	/
ćilibarna	3,46	/
ukupne kiseline	7,78	/
Ukupni ugljeni hidrati (g/100 g)	34,03	42,20
Od toga ukupni šećeri (g/100 g)	33,15	41,11
(g/100 g s.m.)	77,98	88,31
Šećeri (g/100 g)		
fruktoza	4,29	/
glukoza	8,34	/
saharoza	19,40	/
Proteini (g/100 g)	0,99	0,875
Masti (g/100 g)	0,185	0,155
Ukupna prehrambena vlakna (g/100 g s.m.)	6,69 ^a	2,69 ^b
Energetska vrednost (kJ/kcal na 100 g)	655,78/155,14	759,75/179,13

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost (n=3). Vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju (p<0,05) (t-test).

Kontrolni proizvod imao je veći sadržaj ukupnih ugljenih hidrata, odnosno ukupnih šećera u poređenju sa razvijenim funkcionalnim proizvodom (tabela 28), gde je došlo do koncentrisanja šećera pri ukuvavanju proizvoda, s obzirom da je bilo potrebno otpariti veću zapreminu vode iz smeše u ukuvaču da bi se postigla željena SMR. Posmatrajući odnos individualnih šećera, dominantan šećer u razvijenom funkcionalnom proizvodu je saharoza (19,40 g/100 g), praćena glukozom (8,34 g/100 g) i fruktozom (4,29 g/100 g). Sadržaj ukupnih kiselina (0,778%) razvijenog proizvoda sa liofilizatom tropa šljive u ovoj disertaciji bio je viši nego ukupna kiselost džemova od šljive sa pireom od pokožice šljive (0,45-0,50%) u radu Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020). Povećanje koncentracije pirea od pokožice šljive u radu navedene grupe autora pratilo je smanjene vrednosti pH, što su objasnili niskom pH vrednošću pirea od pokožice. Vrednosti pH u tabeli 28 nalazile su se u opsegu vrednosti tradicionalno

pripremljenih džemova od šljive bez šećera (pH: 3,39-4,05) koje su prethodno publikovali Culetu i sar. (2014), dok je ukupna kiselost razvijenog proizvoda bila nešto niža nego kod pomenute grupe autora (0,84-2,32%). Sa druge strane, vrednosti ukupne suve materije (49,01-63,7%) i rastvorljive suve materije (42,57-68,13%) tradicionalno proizvedenih džemova od šljive Culetu i sar. (2014) bile su više nego u slučaju razvijenog funkcionalnog proizvoda (tabela 28).

Organske kiseline u razvijenom funkcionalnom proizvodu u ovom radu koncentrisale su se pri kuhanju voćne smeše, pri čemu je L-jabučna kiselina bila dominantna (3,74 g/kg), praćena sadržajem cílibarne, limunske i D-jabučne kiseline po opadajućem redosledu (3,46, 0,39 i 0,19 g/kg, respektivno). Limunska kiselina nije detektovana u liofilizatu LT-Š3 (tabela 12), te je količina te organske kiseline u razvijenom inovativnom proizvodu poticala od nepasirane kaše od celog ploda šljive i dodate limunske kiseline u formi aditiva pri pripremi proizvoda.

Prema Pravilniku o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane (Sl. glasnik RS br. 51/2018 i 103/2018) razvijeni funkcionalni proizvod se može deklarisati kao proizvod bogat vlakanim, s obzirom da sadrži preko 6% vlakana, odnosno više od 6 g/100 g proizvoda. Kontrolni uzorak bez liofilizata sadržao je 2,5 puta manje vlakana, a razlika je bila na statistički značajnom nivou ($p<0,05$) (tabela 28). Kontrola nije sadržala prah od liofiliziranog tropa koji doprinosi povećanju koncentracije vlakana u funkcionalnom proizvodu, što je uticalo na krajnji rezultat izmerenog nutrijenta.

Energetska vrednost razvijenog funkcionalnog proizvoda je oko 15% niža u poređenju sa kontrolnim proizvodom. Funkcionalni proizvod ima 35% redukovani energetska vrednost u odnosu na pekmeze od šljiva koje su u nekim od fazama disertacije korišćeni ($\approx 1000 \text{ kJ/100 g}$), što daje prednost novorazvijenom proizvodu od šljive. Takođe, rastvorljiva suva materija ispod 45% odgovara džemu sa sniženom energetskom vrednošću prema Shinwari i Rao (2018). S obzirom da funkcionalni proizvod ima više od 30% redukovani sadržaj šećera (kao i rastvorljivu suvu materiju i energetska vrednost) u odnosu na standaradne proizvode, u tekstu deklaracije se može dodati izjava „smanjena količina šećera“ vodeći se propisima Pravilnika o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane (Sl. glasnik RS br. 51/2018 i 103/2018).

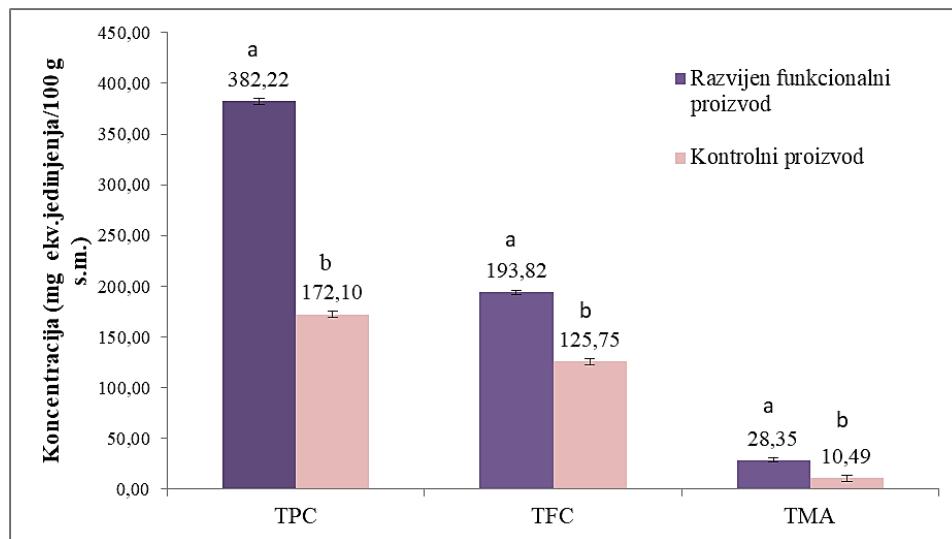
Mikrobiološki parametri praćeni su kod oba uzorka, te je potvrđeno da su funkcionalni i kontrolni proizvod od šljive zdravstveno bezbedni sa aspekta ukupnog broja kvasaca i plesni ($<100 \text{ cfu/g}$) i *Enterobacteriaceae* ($<10 \text{ cfu/g}$), odnosno da zadovoljavaju kriterijume Vodiča za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu (2011). Aktivnost vode (a_w) je bila niža od 0,90 kod oba uzorka (0,887 i 0,883 za funkcionalni i kontrolni proizvod, redom) što ih čini nepogodnim medijumom za razvoj bakterija, ali pogodnim za razvoj plesni i oslobađanje mikotoksina pri odgovarajućim uslovima. Rizik od kontaminacije plesnima je veći s obzirom da a_w uzorka upada u opseg minimalne a_w pri kojoj može doći do razvoja tih mikroorganizama (0,76 do 0,90) (Taoukis i Richardson, 2020). Vrednosti a_w tradicionalno proizvedenih džemova od šljive sa prostora Rumunje bile su nešto niže (0,820-0,876) u poređenju sa proizvodima u ovom istraživanju (Culetu i sar., 2014).

4.9.1. Fenolna jedinjenja i antioksidativna aktivnost razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda

U optimalnom razvijenom funkcionalnom proizvodu pripremljenim sa 10% liofiliziranog tropa šljive (LT-Š3) i kontrolnom proizvodu pripremljenom bez funkcionalnog dodatka praćene su koncentracije fenolnih jedinjena i njegovih klasa (TPC - ukupnih fenola, TFC - ukupnih flavonoida i TMA - ukupnih monomernih antocijana) (slika 32).

Dodatak funkcionalnog sastojka u nepasiranu kašu šljive (NK-Š2) doveo je do statistički značajnih povećanja ukupnih fenola, flavonoida i monomernih antocijana (slika 32). Drugim rečima, integrisanje liofiliziranog tropa šljive dovelo je do povećanja vrednosti TPC, TFC i TMA za približno 120, 50 i 170% (respektivno) u odnosu na izmerene vrednosti u kontrolnom proizvodu. Do istih rezultata u pogledu povećanja TPC došla je grupa autora iz Irana (Mohammadi-Moghaddam i sar., 2020) pri proizvodnji džema od šljive (70,8 -71,4 °Brix) sa dodatkom pirea od pokožice crne šljive (40-60%) koja nastaje kao sporedni proizvod pri sušenju šljiva.

Funkcionalni proizvod od šljive imao je 382,22 mg EGK/100 g s.m., flavonoidi su činili 50% fenolnih jedinjenja (193,82 mg EK/100 g s.m.), dok je frakcija antocijana činila oko 15% flavonoida (mg ECR/100 g s.m.). Priprema proizvoda u vakuum ukuvaču ($t=50^{\circ}\text{C}$) dovela je do ekstrakcije i koncentrisanja fenolnih komponenti poreklom iz liofiliziranog tropa šljive.



Slika 32. Fenolna jedinjenja u razvijenom funkcionalnom proizvodu sa prahom od liofiliziranog tropa šljive (LT-Š3) i kontrolnom proizvodu (pripremljenom bez liofiliziranog tropa) proizvedenim u vakuum ukuvaču

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost ($n=3$) \pm sd u mg ekivalentnog jedinjenja/100 g suve materije (s.m.).

Vrednosti iznad stabića označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (t-test).

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena izražen na galnu kiselinu (mg EGK/100 g s.m.), TFC - sadržaj ukupnih flavonoida izražen na katehin (mg EK/100 g s.m.) i TMA - sadržaj monomernih antocijana izražen na cijanidin 3-rutinozid (mg ECR/100 g s.m.).

Džemovi sadrže fenole koje karakterišu različite kinetike degradacije i ranije je pomenuto da su najzapaženiji gubici upravo u klasi antocijana (Turturică i sar., 2016). Negativan uticaj temperature na TPC tokom prerade je neizostavan, a gubitak fenola zavisi od vrste voća, sorte i sastava džema (Shinwari i Rao, 2018). Pri procesu kuvanja odigravaju se različite hemijske

reakcije između fenola i drugih molekula (reakcije kondenzacije/polimerizacije i dr.), enzimski i degradacioni procesi koji mogu da promene sadržaje i međusobne odnose tih komponenti, te je teško predvideti konačan profil fenola u proizvodu. Međutim, s obzirom da je poznat sadržaj fenola, flavonoida i antocijana u sirovinama (liofilitatu LT-Š3 i nepasiranoj kaši šljive NK-Š2), procenjen je teorijski sadržaj tih komponenti u funkcionalnom proizvodu. Tokom prozvodnje funkcionalnog proizvoda od šljive, došlo je do redukcije TPC i TMA za 5,49 i 83,90% (respektivno gledano), dok je TFC porastao 37,04% u odnosu na realne vrednosti tih parametara (izraženo na 100 g). Džem sa dodatkom pirea od pokožice crne šljive u istraživanjima Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) imao je od 13-44% više vrednosti TPC (izraženo na s.m.) u odnosu na funkcionalni proizvod, što se može objasniti činjenicom da pomenuta grupa autora nije pasterizovala proizvode nakon proizvodnje, a primenjena je druga sorta šljive.

Pored samog procesa, formulacija proizvoda može se odraziti na sadržaje fenolnih jedinjenja. Shinwari i Rao (2018) su u svom preglednom radu ukazali da je retencija TPC u džemovima od bobičastog voća najveća u slučaju primene amidovanog niskoesterifikovanog pektina (LMA), potom niskoesterifikovanog (LM) i visokoesterifikovanog pektina, a efekat je izraženiji pri višim koncentracijama pektina. U džemu od kupine sa 1% pektina izmeren je veći sadržaj TPC nego u džemovima sa 0,7 i 0,3% (Poiana i sar., 2013). TPC se povećavao i kod džemova od šljive sa porastom koncentracije pektina (0,1-0,4%), ali ne na statistički značajnom nivou (Mohammadi-Moghaddam i sar., 2020). S obzirom da su pektini iz liofiliziranog tropa doprineli povećanju koncentracije u finalnom proizvodu, moguće je da je pektin pozitivno uticao na sadržaj fenola, flavonoida i antocijana u razvijenom funkcionalnom proizvodu u odnosu na kontrolni uzorak.

Sadržaj TPC u razvijenom proizvodu (izraženo na 100 g proizvoda) u okviru ove disertacije bio je viši 11,5-13,3% od sadržaja TPC džemova od šljive (65-68 °Brix) koje su prethodno ispitivali Kim i Padilla-Zakour (2004), što može biti posledica primene niže koncentracije šećera u slučaju funkcionalnog proizvoda (42,51 °Brix). U standarnom džemu od jagode TPC je niži 23-24% nego u slučaju džema redukovane energetske vrednosti, gde je 30% saharoze supstituisano fruktozom i aspartatom (Kopjar i sar., 2009). Ścibisz i Mitek (2009) su zaključili da je u džemu od borovnice koji je napravljen sa većom koncentracijom šećera u odnosu na niskokalorični i džem sa sniženom energetskom vrednošću, tek 3% veća TPC vrednost.

U idealnim uslovima, kada se ne bi narušila struktura termolabilnih antocijana poreklom iz sirovina, koncentracija TMA u razvijenom funkcionalnom proizvodu bila bi oko tri puta viša nego što je prikazano na slici 32. Procenjeno je da je gubitak TMA tokom proizvodnje bio gotovo 84%, kako je gore pomenuto. S obzirom na izrazitu termolabilnost antocijana, kuvanje u vakuum ukuvaču na 50°C vodilo je degradiranju tih komponenti. Dokazano je da se sadržaj antocijana u pireu od šljive redukuje tokom vremena (0-20 min) na svim ispitanim temperaturama (50 - 90°C), kako su u svom istraživanju predstavili Ahmed i sar. (2004).

Dejstvo temperature na antocijane može se objasniti hidrolizom glikozidne veze u molekulu antocijana, pri čemu se formiraju halkoni, koji u oksidativnoj reakciji degradacije stvaraju smeđe pigmenete (Shinwari i Rao, 2018). Takođe, važna je i vrsta šećera koja je vezana za aglikonsku formu antocijana, odnosno arabinozidi su nestabliniji od glukozida i galaktozida, a do razgradnje antocijana dolazi usled kisele hidrolize pod dejstvom povišene temperature tokom kuvanja džema i tokom pasterizacije (Shinwari i Rao, 2018).

Veliki gubici u sadržaju antocijana zabeleženi su i kod džemova od drugih sorti voća. Tokom kuvanja (90-103°C, 20-23 min) i pasterizacije (80°C, 10 min) džema od kupine sa

sniženom energetskom vrednošću zabeleženi su gubici TMA od 69-82% u odnosu na sveže voće (Poiana i sar., 2013). Proizvodnja džema od malina pod vakuumom (na $t=78^{\circ}\text{C}/15\text{ min}$) i nakon pasterizacije (92° C), dovele je do gubitka antocijana od 17-41% u zavisnosti od sorte, a gubici su bili najveći u slučaju cijanidin 3-glukozida (25-40%) (García-Viguera i sar., 1998). Rababah i sar. (2011) su izmerili redukciju TMA od 60-97% u džemovima od jagode, trešnje, kajsije, smokve i pomorandže pri kuhanju na $t=80-105\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Stabilnost antocijana može biti povećana u prisustvu većih količina šećera, ali je njegov uticaj na antocijane obrnut kod džemova sa sniženom energetskom vrednošću, gde pri nižim koncentracijama šećera dolazi do nastanka furfurala (proizvoda Millard-ovih reakcija), koji pospešuju njihovu razgradnju (Shinwari i Rao, 2018). Kada se posmatra uticaj šećera, retencija antocijana u odnosu na sirovine u oba proizvoda je stoga otežana, s obzirom da sadrže niže koncentracije šećera od standarnog proizvoda. Vreme kuhanja je takođe imalo uticaj na antocijane, s obzirom da se kontrolni proizvod kuva duže u odnosu na funkcionalni proizvod (1h 45min i 1h; respektivno). Kraće vreme kuhanja džema od kupine snižene energetske vrednosti značajno se odrazilo na retenciju TMA (81%) u odnosu na standardni džem (20%) (De Moura i sar., 2012).

Uprkos gubicima tokom prerade, pozitivan uticaj funkcionalnog sastojka na sadržaj antocijana je neosporan, što potvrđuje skoro tri puta viša TMA funkcionalnog proizvoda u relaciji sa kontrolnim, kao i 30% veća TMA vrednost (izraženo na 100 g proizvoda) u odnosu na džem od šljiva sorte Methley u radu Kim i Padilla-Zakour (2004). Veće koncentracije sve tri pektinske frakcije u liofilizatu LT-Š3 u odnosu na NK-Š2 izražena u g/100 g sirovine (tabela 12) verovatno su imale pozitivan uticaj na TMA funkcionalnog proizvoda. Povećanje koncentracije pektina sa 0,3 do 1% u džemovima od aronije i kupine, pratilo je povećanje TMA od 13-17% (Poiana i sar., 2013; Poina i sar. 2012). Poiana i sar. (2013) su objasnili da se stabilnost antocijana povećava zbog elektrostatičkih veza između pozitivnog flavilijum katjona antocijana i negativno nanelektrisanih disosovanih karboksilnih grupa u pektinu. Ukoliko ima prisutnih amidnih grupa u lancima (niskoesterifikovanih) pektina, ostvaruju se dodatne vodonične veze sa hidroksilnim grupama antocijana, koje mogu da spreče uticaj vode na flavilijum katjon ili reakcije kondenzacije antocijana sa procijanidinima (što bi smanjilo TMA) (Poiana i sar., 2013). Kopjar i sar. (2009) dokazali su da džem od jagode koji sadrži LMA pektin ima 16 i 20% veće TMA u odnosu na džem sa LM i HM, redom. Sa druge strane, Holzwarth i sar. (2013) nisu pronašli statistički značajan uticaj stepena esterifikacije pektina iz različitih izvora (jabuka, citrus, cvekla) na TMA u džemu od jagoda, verovatno zbog visoke koncentracije prisutnog šećera.

Individualne fenolne komponente

Profil individualnih fenolnih komponenti oba uzorka prikazan je na slici 33. Pokazalo se da je koncentracija svih jedinjenja (sem neohlorogenske, kafene i p-kumarinske kiseline) viša u razvijenom funkcionalnom proizvodu u odnosu na kontrolni, pri čemu su sume kafene i p-kumarinske kiseline u odnosu na ostala jedinjenja zanemarljive u oba uzorka (1,52 i 2,24 mg/100 g s.m. u funkcionalnom i kontrolnom proizvodu, redom). Najzatupljenija komponenta u funkcionalnom proizvodu bio je flavonol rutin (35,38 mg/100 g s.m.), potom po opadajućem redosledu neohlorogenska kiselina (22,92 mg/100 g s.m.), flavonol kvercetin (8,47 mg/100 g s.m.), flavan 3-ol katehin (8,33 mg/100 g s.m.), hlorogenska kiselina (6,45 mg/100 g s.m.) i antocijani cijanidin 3-rutinozid (6,2 mg/100 g s.m.) i cijanidin 3-glukozid (3,36 mg/100 g s.m.).

Razlike između srednjih vrednosti koncentracija fenolnih jedinjenja funkcionalnog i kontrolnog proizvoda bile su statistički značajne za sve individualne fenole ($p<0,05$), osim za katehin, kafenu kiselinu i cijanidin 3-glikozid, kod kojih nije bilo razlika na statistički značajnom nivou (slika 33).

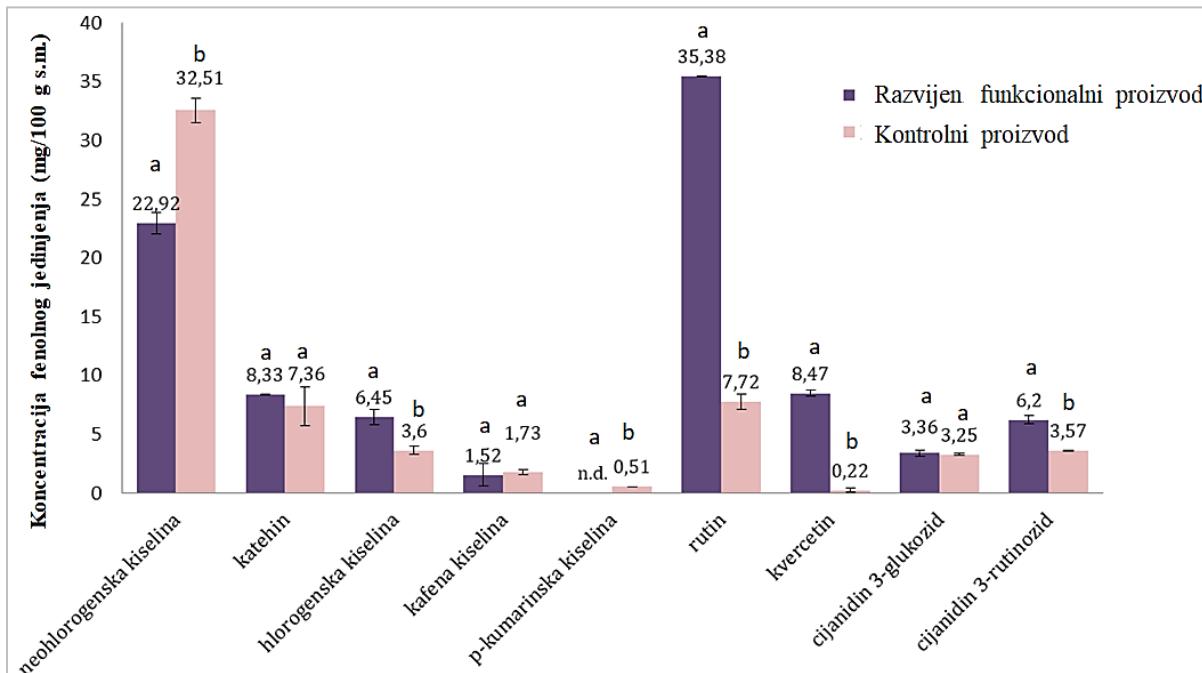
Flavonoli rutin i kvercetin bili su prisutnu u višestruko višim količinama u proizvodu sa liofilizatom, odnosno rutina je gotovo pet puta više, a kvercetina skoro i da nema u proizvodu bez liofiliziranog tropa (slika 33). To je posledica visoke koncentracije rutina i kvercetina u prahu od tropa šljive (oko 10 i 20 puta više u liofilizatu tropa nego u nepasiranoj kaši šljiva, posmatrano na suvu materiju) (tabela 16), što važi i za svežu šljivu (Kristl i sar., 2011; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a).

U klasi fenolnih kiselina u šljivi, dominantne su hlorogenska i neohlorogenska kiselina, što se odrazilo i na visok sadržaj u proizvodima (slika 33). Koncentracija hlorogenske kiseline bila je viša u liofilizatu (u odnosu na nepasiranu kašu šljiva) (tabela 16), što je za posledicu imalo gotovo dvostruko veću koncentraciju hlorogenske kiseline u funkcionalnom proizvodu u odnosu na kontrolu (slika 33). Neohlorogenske kiseline bilo je više u nepasiranoj kaši šljiva NK-Š2 (84,68 mg/100 g s.m.) u poređenju sa liofilizatom tropa šljive LT-Š3 (51,63 mg/100 g s.m.), te se pokazalo da se sa ukuvavanjem voća (bez liofiliziranog tropa) koncentrisala neoholorogenska kiselina u proizvodu, s obzirom da je bilo potrebno otpariti više vode u poređenju sa funkcionalnim proizvodom. Uprkos dodatku liofiliziranog tropa u funkcionalni proizvod, koncentracija neohlorogenske kiseline u proizvodu bila je niža za 30%. Kako je neoholorogenska kiselina bila dominantnija u odnosu na svoj izomer (hlorogensku kielinu) u sirovinama (tabela 16), pokazala se kao najzastupljenija kiselina u oba uzorka (22,92 i 32,51 mg/100 g s.m. u funkcionalnom i kontrolom uzorku, respektivno), dok je u slučaju kontrole dominantno fenolno jedinjenje (slika 33). Neohlorogenska kiselina dominira u šljivama prema velikom broju autora (Tomić i sar., 2019; Chang i sar., 2016; Sójka i sar., 2015; Kristl i sar., 2011; Slimestad i sar., 2009; Usenik i sar., 2008; Chun i sar., 2003; Kim i sar., 2003a; Tomás-Barberán i sar., 2001; Raynal i sar., 1989), te tako i u nepasiranoj kaši od šljive koja je u sastavu kontrolnog proizvoda. Ferulna kiselina nije detektovana u funkcionalnom proizvodu, što je verovatno posledica njene niske koncentracije u liofilizatu šljive (LT-Š3), dok je u drugoj voćnoj sirovini (NK-Š2) nije bilo (tabela 16). Liofiliziran trop je sadržao nisku koncentraciju *p*-kumarinkse kiseline, ali se u funkcionalnom proizvodu nije detektovala, dok je u kontroli bila prisutna u zanemarljivo malim količinama u odnosu na ostala jedinjenja (0,51 mg/100 g s.m.). Koncentracija kafene kiseline bila je niska u oba uzorka (1,52 i 1,53 mg/100 g s.m. u funkcionalnom i kontrolom proizvodu, redom), a razlika nije bila statistički značajna.

Koncentracije katehina i cijanidin 3-glukozida bile su približne u obe prerađevine (blago povišene u funkcionalnom uzorku) i razlika nije bila statistički značajna, dok je cijanidin 3-rutinozid bio prisutan u skoro dvostrukoj količini u funkcionalnom proizvodu (slika 33). Cijanidin 3-rutinozid ispratio je trend najzastupljenijeg antocijana u proizvodima, što je u skladu sa rezultatima i u svežem plodu šljive (Tomić i sar., 2019; Slimestad i sar., 2009; Usenik i sar., 2008; Raynal i sar., 1989).

Antocijani su najosetljiva klasa fenolnih jedinja u voću sklona razgradnji usled dejstva temperature i vremena (Kim i Padilla-Zakour, 2004; Howard i sar., 2010; Poiana i sar., 2012; Shinwari i Rao, 2018), te je kuvanje u vakuum ukuvaču ipak dovelo do značajnih gubitaka individualnih antocijana u oba proizvoda, kako je ranije objašnjeno. U liofiliziranom prahu tropa šljive, rutin (flavonol) je bio prisutan u nešto nižoj koncentraciji (172,69 mg/100 g s.m.) u odnosu na antocijane cijanidin 3-glukozid i 3-rutinozid (194,96 i 236,30 mg/100 g s.m.,

respektivno posmatrano), ali je uprkos gubicima pri kuvanju retencija rutina u funkcionalnom proizvodu značajnija u odnosu na antocijane čija je degradacija bila izrazita, što je posledica visoke termosenzibilnosti antocijana u odnosu na rutin. Slična zapažanja u pogledu očuvanja flavonola u odnosu ostale ispitivane fenolne komponente tokom proizvodnje džema od borovnice sa dodatkom šećera i bez šećera, imali su Howard i sar. (2010).



Slika 33. Koncentracije individualnih fenolnih jedinjenja u razvijenom funkcionalnom proizvodu sa prahom od liofiliziranog tropa LT-Š3 i kontrolnom proizvodu (pripremljen bez liofiliziranog tropa) proizvedenih u vakuum ukuvaču.

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=3$) \pm sd i izraženi su u mg/100 g s.m. Vrednosti iznad stubića (za posmatrano fenolno jedinjenje) označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (t-test). n.d. - nije detektovano.

Antioksidativna aktivnost

Antioksidativna aktivnost razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrole ispitana je kroz primenu DPPH testa, gde je testirana sposobnost metanolnih ekstrakata uzoraka da inhibiraju dejstvo slobodnih DPPH• radikala.

Vrednost IC₅₀ proizvoda obogaćenog liofilizatom šljive i kontrolnog proizvoda bez funkcionalnog sastojka u svom sastavu, bile su $3,17 \pm 0,12$ i $5,38 \pm 0,23$ mg/ml. Razlike između rezultata bile su statistički značajne ($p<0,05$). Dodatak liofilizata uticao je na povećanje antioksidativne aktivnosti (manja IC₅₀), što je u saglasnosti sa većim vrednostima TPC, TFC i TMA, koji su nosioci antioksidativnog potencijala u šljivi (Kim i sar., 2003a) (slika 32). Pri sumiranju koncentracija individualnih fenolnih komponenti, pokazalo se da je zbir veći u funkcionalnom proizvodu u poređenju sa kontrolnim (92,63 i 60,47 mg/100 g s.m., respektivno), zbog čega je funkcionalni proizvod sa liofilizatom antioksidativno aktivniji. Takođe, udeo ukupnih chlorogenskih kiselina i flavonola u relaciji sa sumiranim koncentracijama individualnih fenolnih jedinjenja u funkcionalnom i kontrolnom proizvodu čini oko 80 i 70% (redom) (slika

33). Prema Chun i sar. (2003), jedinjenja koja maksimalno doprinose antioksidativnoj aktivnosti u šljivama su antocijani, kvercetini i hlorogenske kiseline (opadajući redosled), s tim što glikozidni oblici imaju umanjeno dejstvo. Zapažanja su slična i u okviru ove doktorske disertacije s obzirom da je statistički značajna ($p<0,05$) korelacija IC_{50} sa individualnim fenolnim jedinjenjima najsnažnija u slučaju kveketina, rutina, cijanidin 3-rutinozida i hlorogenskih kiselina (tabela 29). Kod uzorka FP1-FP15 snažniju korelaciju sa IC_{50} imali su TPC i TFC u odnosu na TMA (tabela 19). Suprotno navedenom, razvijeni funkcionalni proizvod pokazao je jednak snažnu korelaciju TMA sa IC_{50} , što je prikazano u tabeli 29, a cijanidin 3-rutinozid je bio daleko većoj korelaciji sa antioksidativnom aktivnošću u odnosu na glukozid. Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) dokazali su da primena pirea od pokožice crne šljive za proizvodnju džema utiče pozitivno na povećanje antioksidativne aktivnosti.

Tabela 29. Korelacioni koeficijenti između IC_{50} i TPC, TFC, TMA i individualnih fenolnih jedinjenja u funkcionalnom i kontrolnom proizvodu

	IC_{50}
TPC	-0,996*
TFC	-0,947*
TMA	-0,988*
neohlorogenska kiselina	0,968
katehin	-0,531
hlorogenska kiselina	-0,953*
kafena kiselina	0,240
p-kumarinska kiselina	0,700
rutin	-0,985*
kvercetin	-0,986*
cijanidin 3-glukozid	-0,363
cijanidin 3-rutinozid	-0,972*

*Korelacije su značajne na $p<0,05$.

TPC - sadržaj ukupnih fenolnih jedinjena; TFC - sadržaj ukupnih flavonoida; TMA - sadržaj monomernih antocijana; IC_{50} - koncentracija ekstrakta neophodna za neutralizaciju 50% slobodnih DPPH• radikala

Važno je napomenuti da uprkos gubicima određenih klasa fenola, ne dolazi uvek do narušavanja antioksidativnog potencijala i nekada može i da se poboljšava, što može biti posledica nastanka produkata Maillard-ovih reakcija koji poseduju antioksidativa svojstva (Shinwari i Rao, 2018). Povišene vrednosti antioksidativne aktivnosti u odnosu na voće od kojih su proizvedeni mogu biti posledica nastanka polimernih antocijana tokom kuvanja, kao u slučaju džemova od bobičastog voća, gde se antioksidativna vrednost povećala 10-56% (Šavikin i sar., 2009).

4.9.2. Boja i tekstura razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda

Pokazatelji boje i teksture razvijenog funkcionalnog i kontrolnog proizvoda pripremljenih u vakuum ukuvaču predstavljeni su u tabelama 30 i 31, redom.

Tabela 30. Instrumentalno određeni parametri boje razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda od šljive pripremljenih u vakuum ukuvaču

Parametar boje	Razvijen funkcionalni proizvod	Kontrolni proizvod
L*	16,07 ± 0,98 ^a	19,32 ± 0,31 ^b
a*	13,04 ± 0,68 ^a	13,54 ± 0,38 ^a
b*	0,15 ± 0,11 ^a	4,34 ± 0,26 ^b
C*	13,04 ± 0,68 ^a	14,22 ± 0,44 ^b
h*	0,65 ± 0,47 ^a	17,77 ± 0,54 ^b

Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost (n=5) ± sd.

Vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (t-test).

Funkcionalni proizvod je tamniji od kontrolnog s obzirom da ima nižu L* vrednost (vrednost bliža 0 odgovara tamnjem uzorku) (tabela 30, slika 34). Parametar b* funkcionalnog proizvoda je niži od vrednosti za kontrolu (0,15 i 4,34, respektivno), što znači da u kontrolnom proizvodu ima više žućkastih tonova. Parametar a* je skoro identičan u oba uzorka, što ih opisuje kao proizvode sa istim intenzitetom crvenkaste boje, a razlika nije statistički značajna (tabela 30). S obzirom da su kod oba uzorka prisutne niže koncentracije šećera u kiseloj sredini, moguće je da je došlo do nastanka furfurala koji dalje iniciraju razgradnju antocijana (Shinwari i Rao, 2018), nosilaca crvene boje šljiva. Ahmed i sar. (2004) pokazali su da pri dejstvu povišene temperature na pire od šljive degradaciju antocijana prati gubitak crvene boje i ukupne vizuelne boje. Uprkos činjenici da funkcionalni proizvod ima viši sadržaj antocijana (slika 33), taj trend se nije reflektovao na a*, dok se viši sadržaj antocijana možda odrazio na parametar h*, koji reprezentuje ugao nijanse. Diferencijacija između parametara boje (pored L*, b* i C*) je najizraženija u slučaju h* parametra, odnosno ugla nijanse s obzirom da funkcionalni proizvod ima daleko nižu vrednost (0,65) od kontrole (17,77). Drugim rečima, kako je ugao nijanse veći kod kontrolnog proizvoda i bliži je +b* osi, to znači da je u kontroli prisutna primesa žute boje. U slučaju funkcionalnog proizvoda, ugao nijanse je manji i bliži +a*, koja opisuje crvenu nijansu. Vrednost zasićenosti boje (C*) blago je viša kod kontrole, ali je razlika statistički značajna ($p<0,05$) (tabela 30).

U L*a*b* prostoru boja, razlika u boji između uzoraka može se iskazati kroz ukupnu promenu boje ($\Delta E = 5,33$). ΔE između 3 i 6 ukazuje na činjenicu da se razlika u boji dobro vidi (Pestorić, 2016). Kako je prikazano na slici 34, evidentne su razlike u boji između uzoraka, što znači da je primena liofiliziranog tropa imala značajan uticaj na boju koja je bitan pokazatelj kvaliteta proizvoda. Uspešnost primene liofiliziranog tropa na boju razvijenog funkcionalnog proizvoda u odnosu na druge proizvode analiziran je primenom potrošačkog panela u narednoj fazi.



Slika 34. Razvijen funkcionalni proizvod (desno) i kontrolni proizvod bez funkcionalnog sastojka (levo) pripremljeni u vakuum ukuvaču

Teksturna svojstva razvijenog proizvoda obogaćenog funkcionalno vrednim prahom od tropa šljive i kontrolnog proizvoda pripremljenog bez funkcionalnog sastojka, data su u tabeli 31. Ispitano je ponašanje oba uzorka pri penetraciji sonde, gde je iz krive „sila-vreme“ ekstrahovano prvih pet parametara. Pored toga, određena je i mazivost proizvoda pomoću testa koji podrazumeva primenu konusnog pribora. Dobijeni rezultatati za MF, WoP, WoA (apsolutna vrednost), IT i IF funkcionalnog proizvoda su višestruko veći od posmatranih parametara kod kontrolnog uzorka, a razlike su statistički značajne ($p<0,05$). Drugim rečima, veća je čvrstoća funkcionalnog proizvoda i adhezivnost, uzorak pruža veći otpor sondi pri kretanju do momenta kada se nagib krive menja, odnosno struktura sistema se menja (razrušava) u odnosu na početnu (što opisuju IF i IT). Kriva pokazuje da uprkos promeni nagiba, sonda i dalje trpi otpor pri kretanju do maksimalne dubine, ali je otpor manji.

Informacije koje proizilaze iz analize mazivosti pokazuju isti trend u poređenju sa pokazateljima koji proizilaze iz prvog testa za profilisanje teskture. Čvrstoća ispitana ovim testom (F) i rad koji je potreban da dođe do narušavanja slojeva (smicanjem) (WoP) pri upotrebi konusnih mernih elemenata su viši na statistički značajnom nivou ($p<0,05$) u slučaju funkcionalnog proizvoda u poređenju sa kontrolnim (tabela 31, slika 35).

Kao posledica kompaktnog inkorporiranja čestica liofiliziranog tropa u sistem funkcionalnog proizvoda, dolazi do povećanja čvrstoće sistema, što opisuju i Cappa i sar. (2015) u svom radu. Pri upotrebi pokožice grožđa za proizvodnju bombona, došlo je do formiranja čvršćeg gel sistema u odnosu na referentni uzorak (40 do 80%). U razvijenom proizvodu od šljive povećanje prvih pet parametara prikazanih u tabeli 31 je višestruko, dok su se pokazatelji koji definišu mazivost povećali oko 30% u odnosu na kontrolu. Ovo može biti posledica hidratacije rastvorljive frakcije vlakana iz sirovina, što je ključno za povećanje čvrstoće voćnih džemova (Javanmard i Edan, 2010). Rastvorljiva frakcija čini preko 50% ukupnih vlakana u nepasiranoj kaši od šljive NK-Š2 (tabela 12). Udeo rastvorljivih vlakana u odnosu na ukupna vlakna u pokožici šljive je manji u poređenju sa mesom ploda šljive (Kosmala i sar., 2013), ali je koncentracija veća, jer se primenjuje u liofiliziranom (sušenom) stanju. Dakle, rastvorljiva

frakcija vlakana se povećava u voćnom matriksu pri primeni liofiliziranog tropa šljive u ovom eksperimentu. Culeti i sar. (2014) zaključili su da koncentrisanje pokožice šljive pri proizvodnji tradicionalnih džemova od šljive bez dodatka šećera vodi povećanju čvrstoće sistema.

Tabela 31. Instrumetalno određena teksturna svojstva razvijenog funkcionalnog proizvoda i kontrolnog proizvoda pripremljenih u vakuum ukuvaču.

Teksturni pokazatelj	Razvijen funkcionalni proizvod	Kontrolni proizvod
MF (N)	$3,58 \pm 0,26^a$	$0,74 \pm 0,03^b$
WoP (N)	$25,65 \pm 1,13^a$	$5,21 \pm 0,37^b$
WoA (N)	$-4,12 \pm 0,67^a$	$-1,09 \pm 0,05^b$
IT (s)	$1,34 \pm 0,27^a$	$0,69 \pm 0,13^b$
IF (N)	$2,01 \pm 0,14^a$	$0,33 \pm 0,03^b$
Mazivost		
F (N)	$14,64 \pm 0,41^a$	$11,52 \pm 0,29^b$
WoS (N s)	$15,67 \pm 0,48^a$	$11,81 \pm 0,34^b$

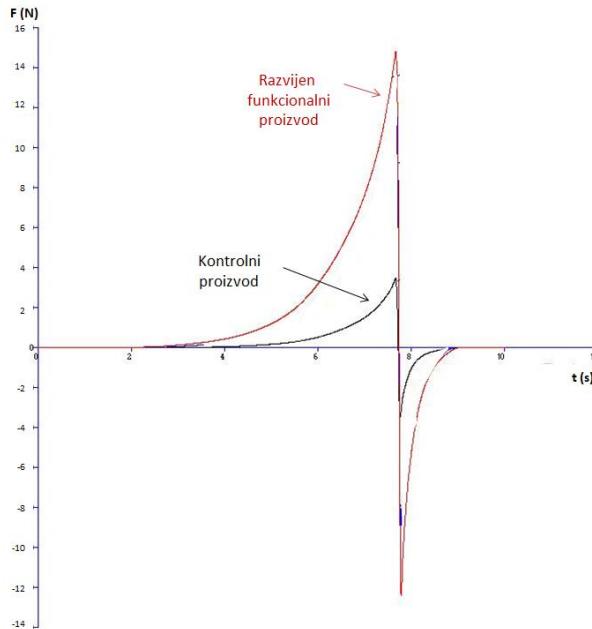
Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost ($n=3$) \pm sd. Vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p<0,05$) (t-test).

MF (N) - maksimalna sila (eng. Maximal Force), WoP (N s) - rad penetracije (eng. Work of Penetration), WoA (N s) - rad adhezije (Work of Adhesion), IT (s) - vreme u gradijentnom preseku (eng. Intersection Time), IF (N) - sila u gradijentnom preseku (eng. Intersection Force), F (N) - čvrstoća (eng. Firmness), WoS (N s) - rad smicanja (eng. Work of Shear)

U liofilizatu LT-Š3 koncentracija pektina je viša nego u nepasiranoj kaši šljiva NK-Š2 (izraženo na 100 g) koji su primeljeni za proizvodnju razvijenog funkcionalnog proizvoda (0,68 i 0,14 g/100 g, respektivno), što znači da je u funkcionalnom proizvodu bilo više pektina na raspolaganju za formiranje teksture gela nego što je to slučaj kod kontrole, gde je jedini izvor pektina nepasirana kaša šljiva. Teorijski, pektin iz liofiliziranog tropa LT-Š3 se koncentriše do 0,81 g/100 g u gotovom proizvodu, dok bi iz NK-Š2 dostigao koncentraciju od 0,17 g/100 g (što je sumarno gotovo 1%) u funkcionalnom proizvodu, za razliku od kontrolnog uzorka gde je svega 0,23 g/100 g (teorijski) prisutno u matriksu kada se kuva do zadate SMR. Pektin iz liofiliziranog tropa je dovoljan za formiranje mreže u strukturi funkcionalnog proizvoda, jer je minimalna količina pektina koji bi se dodavao kao aditiv za proizvodnju džema ili sličnog proizvoda oko 1% (Shinwari i Rao, 2018). Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) su pri ispitivanju konzistencije džemova od šljive pripremljenih od pirea pokožice šljive zaključili da sa porastom koncentracije pektina raste konzistencija sistema, usled povećanja čvrstoće sistema. Takođe, u njihovim ispitivanjima porast koncentracije pektina imao je isti efekat na indeks viskoziteta.

Integriranjem liofiliziranog tropa LT-Š3 u strukturu razvijenog proizvoda, time i drugih makromolekula vlakana (TDF= 36,49 g/100 g) dodatno se ojačava sistem koji primarno gradi pektin, što je saglasno sa zaključcima drugih grupa autora (Abid i sar., 2018; Igual i sar., 2014), koji su ispitivali konzistenciju voćnih džemova i uticaj dodatka koji sadrže vlakna (vlakna bambusa, kora nara). Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) uvideli su da povećanje koncentracije pektina i interakcija između vlakana i ugljenih hidrata iz pirea pokožice šljive dovode do boljeg povezivanja komponenata u formulaciji, što vodi povećanju kohezivnosti, ali

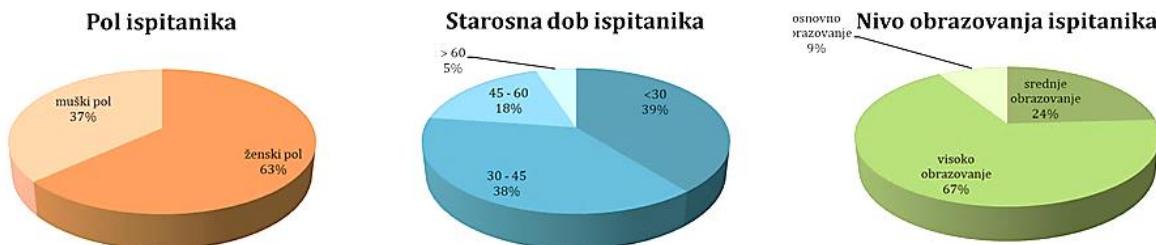
su istakli da upotrebljen nivo pokožice šljive u džemovima ne utiče statistički značajno na teksturne parametre (čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta).



Slika 35. Izgled krive “sila-vreme” pri određivanju mazivosti razvijenog funkcionalnog i kontrolnog proizvoda

4.10. Analiza rezultata dopadljivosti razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive

Za ispitivanje finalnog razvijenog funkcionalnog proizvoda pripremljenog u vakuum ukuvaču i dva pekmeza od šljive (standardnog i niskokaloričnog) primjenjen je II potrošački panel, koji se razlikovao po sastavu od I potrošačkog panela primjenjenog u inicijalnoj fazi eksperimenta. S obzirom na različit sastav članova II panela (ukupno 78 ispitanika), praćeni su socio-demografski podaci ispitanika (slika 36), afinitet prema konzumiranju cigareta i stavovi potrošača o ovom tipu namirnica primenom Likertove skale sa 7 tačaka (slika 37). Panel II je bio ravnomernije sastavljen u pogledu pola ispitanika, s obzirom da je imao veći udeo muškaraca (37%) nego panel I (21%) (slika 24). Populacija koja je činila II panel potrošača bila je mlađa u odnosu na panel I, s obzirom da je sumarno gledano 77% populacije panela II bilo mlađe od 45 godina (slika 36), dok su učesnici panela I u ovim kategorijama činili 58% (dominantna su bili ispitanici od 45-60 godina). U pogledu nivoa obrazovanja, sastav panela II je bio šarolikiji kada se uporedi sa panelom I, te je povećan broj ispitanika sa srednjim (24%) i osnovnim obrazovanjem (9%) (slika 36). Potrošači su se izjasnili i po pitanju afiniteta prema konzumaciji cigareta, pri čemu je skoro identičan udeo pušača i nepušača činio panel II (14 i 86%, redom), kao u slučaju panela I.



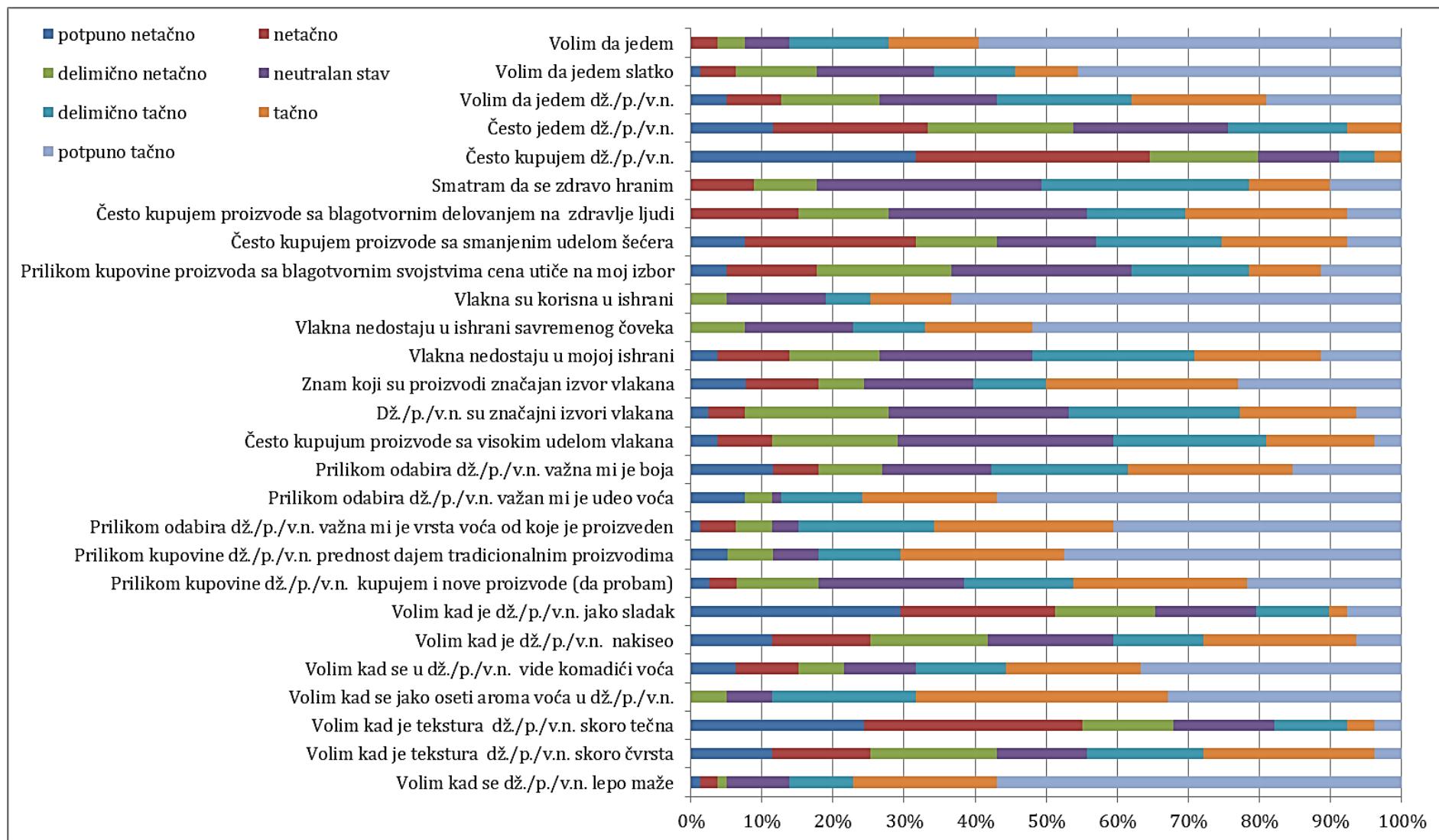
Slika 36. Demografski podaci učesnika drugog potrošačkog panela

Boja džema, pekmeza i voćnih namaza bila je važna i za članove panela broj II (56%), a slična su zapažanja i u pogledu preferencija mazive teksture proizvoda (86,08%) i neprihvatljivosti tečne konzistencije proizvoda (67,09%). Čvrst proizvod ovog tipa je podjednako primamljiv i neprimamljiv za potrošače (44,30 i 43,04%, redom). Veliki broj potrošača se izjasnio da voli da se u takvim namirnicama vide komadići voća (68%). Udeo voća u džemu, pekmezu i namazu od voća je izuzetno važan faktor i za ovu grupu ispitanika pri odabiru proizvoda (87,34% potrošača), kao i vrsta voća od koje je proizvod dobijen (87,34%). Uprkos činjenici da potrošači pri kupovni ovog tipa hrane prednost daju tradicionalnim proizvodima (81,01%), veliki udeo je zainteresovan i za kupovinu novih proizvoda koje bi probali (60,76%).

Neki od stavova potrošača panela II bili su drugačiji u odnosu na potrošače I panela. Naime, upola manje potrošača se izjasnilo da voli jako slatke proizvode iz ove grupe namirnica (20,25%), što nije u skladu sa preferiranjem slatke hrane (65,82). Ipak, udeo šećera u hrani ne utiče na razlike u diferenciranju broja odgovora ispitanice populacije potrošača (slika 37).

Stavovi potrošača u pogledu kiselosti su manje polarizovani na Likertovoj skali u oba panela, jer je nakiseo džem, pekmez ili namaz podjednako dopadljiv i nedopadljiv za ispitanike i II potrošačkog panela (40,51 i 41,77%, redom).

Potrošači su bili upoznati sa činjenicom da su vlakna povoljna za zdravlje (81% ispitanika), te da nedostaju u ishrani savremenog čoveka (77,22%) i njihovoj dnevnoj ishrani (51,90%). Udeo od 44% ispitanika izjasnio se da kupuje proizvode sa blagotvornim dejstvom na zdravlje i mišljenja je da su voćne prerađevine tipa džema izvor vlakana (46,84%), međutim manje od 10% ispitanika izjasnilo se da kupuje takve namirnice, uprkos činjenici da vole da ih jedu (56,96%) ili ih ne jedu često (53,16%).



Slika 37. Stavovi potrošača finalnog potrošačkog testa kroz primenu Likert skale. Dž./p./v.n. - džem/pekmez/voćni namaz; ispitanici pripadaju II potrošačkom panelu

4.10.1. Testovi ukupne dopadljivosti proizvoda i dopadljivosti pojedinačnih senzorskih atributa

Prilikom analize ukupne dopadljivosti (tabela 32), dopadljivosti pojedinačnih senzorskih svojstava (tabela 32) i ispitivanja odstupanja od optimalnog nivoa slatkoće i kiselosti proizvoda (slika 39), ukupan broj ispitanika bio je 78. Drugi testovi koji su se odnosili na ispitivanje peskovitosti/zrnavosti u teksturi proizvoda sumirali su različiti broj ispitanika u zavisnosti od postavljenog pitanja članovima II potrošačkog panela (*Prilog 2*).

Tabela 32. Rezultati potrošačke ocene razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive i dva komercijalna pekmeza od šljive (niskokalorični i standardni) primenom potrošačkog panela (II)

Dopadljivost svojstva ocenjena na skali od 9 kategorija	Niskokalorični pekmez	Razvijen funkcionalni proizvod	Standardni pekmez
Ukupna dopadljivost	7,23 ± 1,52 ^a	4,43 ± 2,27 ^b	6,58 ± 2,00 ^a
Dopadljivost boje	7,38 ± 1,72 ^a	5,83 ± 2,30 ^b	7,50 ± 1,79 ^a
Dopadljivost mirisa	6,32 ± 2,35 ^a	6,08 ± 2,16 ^a	6,85 ± 1,95 ^a
Dopadljivost ukusa	7,41 ± 1,68 ^a	4,36 ± 2,37 ^b	7,04 ± 1,93 ^a
Dopadljivost teksture	7,18 ± 1,81 ^a	4,58 ± 1,94 ^b	6,99 ± 1,92 ^a

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost ± s.d. Vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju (p<0,05) (Tukey-Kramerov test).

Na osnovu rezultata ukupne dopadljivosti, kao i dopadljivosti pojedinačnih senzorskih svojstava prikazanih u tabeli 32, vidi se da se funkcionalni proizvod statistički značajno razlikuje od oba pekmeza u slučaju svih praćenih parametara (osim mirisa), dok između standardnog i niskokaloričnog pekmeza nema statistički značajnih razlika u predstavljenim rezultatima. Dopadljivost mirisa funkcionalnog proizvoda bila je na visokom nivou na hedonskoj skali i bez statistički značajnih razlika u odnosu na analizirane pekmeze. Culetu i sar. (2014) došli su do istih zaključaka po pitanju mirisa kada su analizirali osam tradicionalno pripremljenih pekmeza od šljiva, odnosno uzorci se nisu statistički značajno razlikovali. Pomenuti autori istakli su da je najveću ukupnu dopadljivost (7,07 na hedonskoj skali sa 9 kategorija) imao sertifikovani tradicionalni rumunski džem od šljive koji je proizведен u domaćinstvu, pri kuhanju na direktoj vatri. Suprotno navedenom, potrošači su u ovom istraživanju kao najpreferiraniji proizvod u pogledu ukupne dopadljivosti istakli niskokalorični pekmez (tabela 32), što je dovoljan pozatelj da se navike potrošača u Srbiji menjaju u povoljnem smeru sa aspekta primene niskokaloričnih proizvoda. Grupa autora iz Irana došla je do zaključka da povećanje kontracije pirea od pokožice crne šljive za proizvodnju džema umanjuje ukupnu dopadljivost proizvoda, s obzirom da povećanje količine pirea u strukturi džema dovodi do potamnjivanja boje i povećanja čvrstoće sistema (Mohammadi-Moghaddam i sar., 2020). Pomenuti autori ispitivali su i uticaj pektina na ukupnu dopadljivost u kombinaciji sa dodatkom pirea od pokožice, te su došli do zaključka da je za paneliste najdopadljiviji džem pripremljen bez pektina i sa najnižom koncentracijom pirea od pokožice crne šljive (40%). Forma liofiliziranog tropa dodata u funkcionalni proizvod možda narušava ukupnu dopadljivost, kao u slučaju Abid i sar. (2018), koji su uvideli da je džem od

nara pripremljen sa pektinom ekstrahovanim iz kore nara (0,2%) prihvativiji za paneliste u poređenju sa džemovima pripremljenim sa prahom od osušene ili liofilizirane kore nara.

Pozicioniranje razvijenog funkcionalnog proizvoda u pogledu boje (5,83) je povoljnije kada se uporedi sa rezultatima sprovedenim nad polaznim proizvodom od šljive PP2 (4,38) ispitanim u inicijalnoj fazi (tabela 10), odnosno boja proizvoda je poboljšana tokom procesa razvoja. Primena liofiliziranog tropa imala je pozitivan uticaj na dopadljivost boje i dovela do kreiranja tamnjeg proizvoda, zagasito crvene boje u poređenju sa polaznim PP2 (jarkija crvena boja). Boja džemova sa dodatkom osušene ili liofilizirane kore nara bila je tamnija od onih proizvedenih sa ekstrahovanim pektinima i vlaknima iz kore nara, s obzirom da je sušenje kore nara dovelo do neenzimskog potamnjivanja i stvaranja smeđih pigmenata koji su uticali na boju džemova (Abid i sar., 2018). Ista grupa autora uvidela je da je metod sušenja kore nara imao uticaj na prihvativost boje, te su istakli da svetlijia boja džema sa liofiliziranom korom bolje ocenjena od džema sa konvektivno osušenom korom nara. Vrsta voća od kog je džem proizведен utiče na očekivanja potrošača u vezi sa bojom, te je u slučaju pekmeza ili džema od šljiva očekivana tamnija boja. Od osam tradicionalno proizvedenih pekmeza od tamocrvene do ljubičaste šljive, pekmez proizведен od bele šljive je najlošije ocenjen pri senzorskoj evaluaciji boje proizvoda (Culet i sar., 2014). Primena liofiliziranog tropa u ovoj doktorskoj disertaciji dovela je do razvoja proizvoda od šljive prihvativije boje, dok je u radu Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) primena pirea od pokožice crne šljive negativno uticala na dopadljivost boje. Džemovi koji su analizirani u njihovom istraživanju imali su manje dopadljivu boju sa povećanjem koncentracije pirea od pokožice šljive sa 40 na 60%, a najviša ocena dopadljivosti boje džema postignuta je sa 40% pirea od pokožice i 0,2% pektina.

Dopadljivost teksture niskokaloričnog i standardnog pekmeza je na visokom nivou i približna oceni 7, dok je tekstura funkcionalnog proizvoda manje dopadljiva (tabela 32). Prihvativost teksture razvijenog funkcionalnog proizvoda u skladu je sa ocenama senzorskog atributa koji opisuje konzistenciju osam tradicionalnih džemova od šljiva (adhezivnost) (koji su pozicionirani na središnjem delu skale) ispitivanih u radu Culet i sar. (2014). S obzirom da je gorenavedena grupa autora izučavala isti tip proizvoda od šljive, razlike u praćenom teksturnom parametru između džemova (ocenjene senzorskim testovima) nisu bile statistički značajne. Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) zaključili su da dodatak pirea od pokožice šljive ne utiče statistički značajno (za razliku od dodatka pektina) na dopadljivost čvrstoće džema evaluirane kroz senzorska ispitivanja. Čvrstoća džema pripremljenog sa 50% pirea od pokožice i 0,4% pektina i džema sa 40% pirea i 0,1% pektina ocenjena je najbolje i najlošije na hedonskoj skali (respektivno).

Dopadljivost teksture finalnog razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive (4,58) u relaciji sa polaznim funkcionalnim proizvodom PP2 (4,71) nije se poboljšala, što je verovatno posledica primene sprašenog liofilizata koji je doveo do pojave peskovitosti/zrnavosti u teksturi razvijenog proizvoda. Dopadljivost teksture nalazila se na sredini hedonske skale sa 9 kategorija. Većina potrošača (73/78) osetila je peskovitost u konzistenciji funkcionalnog proizvoda, a zanemarljivo mali broj potrošača (3/78) i u niskokaloričnom proizvodu, dok u standarnom pekmezu peskovitost nije detektovana (slika 38a). Peskovitost funkcionalnog proizvoda ocenjena je kao negativno svojstvo kod 67% potrošača, što se posledično reflektovalo na odgovore potrošača u slučaju kupovine takvih proizvoda. Veliki udeo potrošača (68%) je odgovorio da bi peskovitost/zrnavost teskture uticala na odluku o kupovini ovog tipa namirnice, dok se kod 1/3 ispitanih to ne bi odrazilo na konačnu odluku.

Dopadljivost peskovitosti kod proizvoda (kod kojih je uočena) pokazala je povoljnije pozicioniranje standardnog i niskokaloričnog proizvoda u odnosu na funkcionalnim proizvod, a razlika je statistički značajna između pojedinačnih pekmeza i funkcionalnog proizvoda, dok između uzoraka pekmeza ne postoji (tabela 33). Broj ispitanika koji je uočio peskovitost kod niskokaloričnog i standardnog pekmeza u ovom testu povećao se (15/78 i 14/78, respektivno) u poređenju sa brojem ispitanika na slici 38a. Gotovo svi učesnici panela u ovom potrošačkom testu (74/78) osetili su peskovitost/zrnavost na svojim nepcima pri konzumiraju funkcionalnog proizvoda.

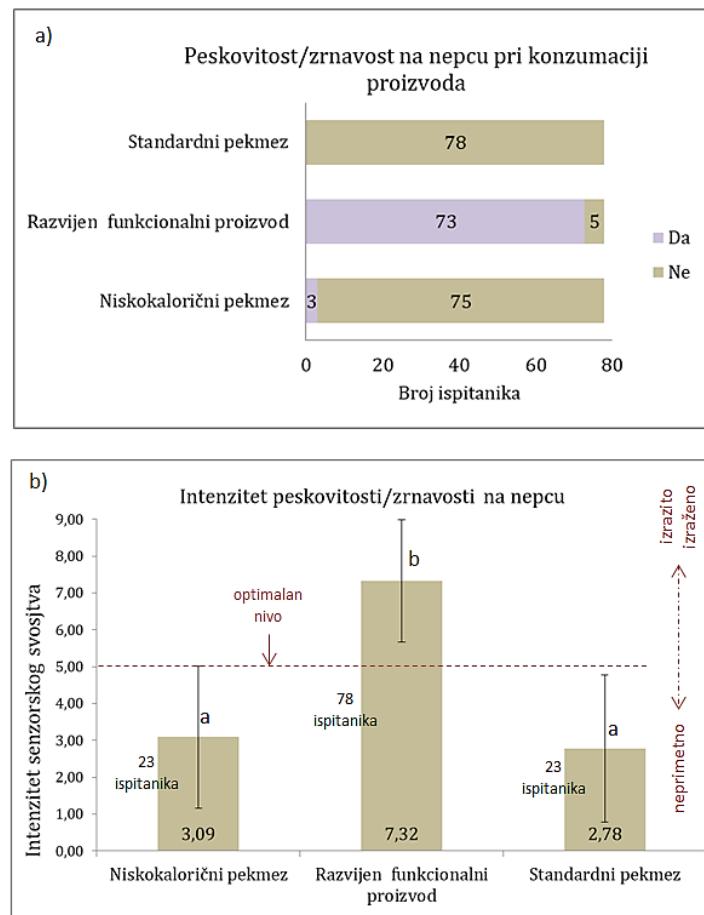
Tabela 33. Rezultati potrošačke ocene peskovitosti/zrnavosti proizvoda razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive i dva komercijalna pekmeza od šljive (niskokalorični i standardni) pomoću potrošačkog panela (II)

Dopadljivost svojstva na skali od 9 kategorija	Niskokalorični pekmez	Razvijen funkcionalni proizvod	Standardni pekmez
Broj ispitanika	15	74	14
Peskovitost/zrnavost u teksturi proizvoda	$5,93 \pm 1,83^a$	$3,55 \pm 2,07^b$	$6,00 \pm 1,66^a$

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm s.d. Vrednosti u istom redu označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$) (Tukey-Kramerov test)

Kako je ilustrovano na slici 38b, peskovitost standardnog i niskokaloričnog pekmeza nalaze se na donjem delu JAR skale, odnosno to svojstvo je više neprimetno (bez statistički značajne razlike) u slučaju ta dva proizvoda. Potrošači su ocenili da je peskovitost izrazito izražena u funkcionalnom proizvodu (gornji deo grafika), s obzirom da su srednja vrednost i standardna devijacija iznad optimalnog nivoa peskovitosti (označeno crvenom isprekidanom linijom). Razlika u odstupanju peskovitosti od optimalnog nivoa kod razvijenog funkcionalnog proizvoda u poređenju sa standarnim i niskokaloričnim pekmezom bila je statistički značajna (slika 38b).

Pri sprovođenju analize pada srednje vrednosti ukupne dopadljivosti (eng. mean drop analysis) u odnosu na peskovitost funkcionalnog proizvoda, 9 kategorija (odgovora) na JAR skali spojene su u tri kategorije, odnosno: „neprimetna“ peskovitost (ocene 1,2,i 3), „taman kako treba“ (eng. just about right, JAR) peskovitost (ocene 4, 5 i 6) i „izražena“ peskovitost (7, 8 i 9). Na novoj skali od 3 kategorije uočeno je da je 90% potrošača osetilo izraženu peskovitost (slika 40d). Podaci su dalje iskorišćeni za analizu pada srednje vrednosti, što je ilustrovano na slikama 40e i 40f. Na slici 40e može se uočiti da je „izražena peskovitost“ smeštena u krajnji desni deo grafika, te da je između 80 i 100% potrošača tako okarakterisalo proizvod. S obzirom da je srednja vrednost ukupne dopadljivosti u kategoriji „izražena peskovitost“ iznosila 4,632, dok je u „taman kako treba“ kategoriji iznosila 5, došlo je do pada srednje vrednosti koji nije bio na statistički značajnom nivou (zelenim označeno, slika 40f). Međutim, slike 40d i 40e jasno ukazuju na činjenicu da izražena peskovitost može voditi isključenju (eng. penalty) funkcionalnog proizvoda pri izboru i kupovini ovakve hrane.



Slika 38. Ispitivanje senzacije potrošača po pitanju: a) uočene peskovitosti/zrnavosti u proizvodima i b) odstupanja intenziteta peskovitosti od optimalnog nivoa za ispitanika.

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm s.d. Vrednosti iznad stubića označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$) (Tukey-Kramerov test)

Sumirajući sve testove kojima se ispituje peskovitost, dodatak liofiliziranog tropa u formi praha u funkcionalni proizvod značajno degradira utisak o teksturi proizvoda kod potrošača, što se verovatno može korigovati smanjenjem količine praha koji se dodaje u proizvod. Suprotno, tekstura džema sa dodatkom praha od liofilizirane kore nare bila je bolje ocenjena na hedonskoj skali od teksture džemova od nara pripremljenim sa ektrahovanim pektinima i ili vlakana iz te sirovine (Abid i sar., 2018). Mohammadi-Moghaddam i sar. (2020) ukazali su da je povećanje koncentracije pirea od pokožice crne šljive uticalo na redukovanje dopadljivosti mazivosti džemova, te da je džem sa najmanjom koncentracijom pirea od 40% najdopadljiviji za paneliste u pogledu ovog teksturnog svojstva. Pri ispitivanju želea od jabuke pripremljenog sa nekomercijalnim izvorima vlakana (psilijum i pšenica) primećen je nepovoljan „brašnjiv“ osećaj na nепcima koje ostavlju ovi sastojci, ali se redukovanjem koncentracije vlakana psilijuma i kombinovanjem sa vlknima iz bambusa, pšenice ili jabuke mogu dobiti želi bez pojave sinerezisa i zadovoljavajućih teksturnih karakteristika (Figueroa i Genovese, 2019).

Peskovitost/zrnavost nepovoljno je pozicioniralo teskturu razvijenog funkcionalnog proizvoda prema ocenama potrošača u ovom istraživanju. Međutim, kada je potrošačima predviđeno da je peskovitost proizvoda posledica dodatka viskovrednog funkcionalnog sastojka

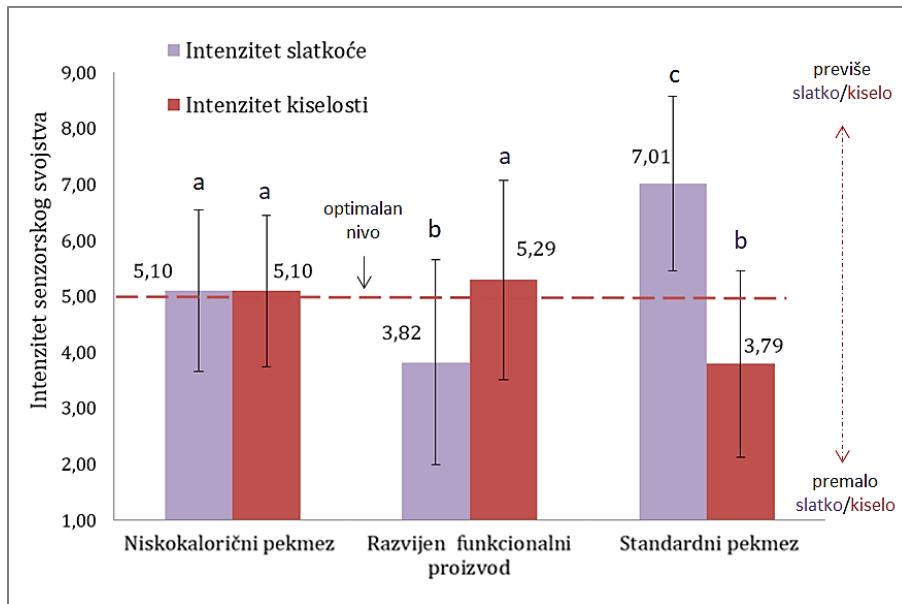
bogatog blagotvornim fenolnim jedinjenjima i prehrambenim vlaknima, funkcionalni proizvod bi prema analizi odgovora potrošačkog panela našao put do svojih novih konzumenata. Drugim rečima, kada su potrošači informisani o razlozima pojave peskovitosti u proizvodu, čak 70% njih (54/78) bi promenilo svoju odluku o kupovini novokreiranog proizvoda, te se odlučilo za kupovinu istog, dok za ostatak članova panela informisanje ne bi promenilo konačnu odluku.

4.10.2. Test prihvatljivosti glavnih činilaca ukusa (slatkoća i kiselost)

Proces korigovanja ukusa polaznog funkcionalnog (PP2) do razvijenog funkcionalnog proizvoda od šljive doveo je do promena u rezultatima ocena kiselosti i slatkoće kao glavnih činilaca ukusa, mada se na hedonskoj skali po dopadljivost ukusa funkcionalni proizvod nalazi na nižem nivou od dva ispitivana proizvoda (razlika je statistički značajna) i odgovor od 4,36 (bez s.d.) odgovarao bi izjavama na skali između „pomalo mi se ne dopada“ i „niti me se dopada, niti mi se ne dopada“ (tabela 32), što znači da je prihvatljivog ukusa. Dopadljivost ukusa polaznog proizvoda nije ocenjena primenom hedonske skale, te se ne može videti uticaj na ovo svojstvo pri razvoju finalnog proizvoda. Međutim, na osnovu primene JAR skale može se pratiti promena u intenzitetima slatkoće i kiselosti kao glavnim činiocima ukusa. Rezultat za polazni proizvod PP2 ukazuju da je nivo slatkoće i kiselosti daleko niži i viši (-2,98 i 2,07 na skali od -5 do +5, respektivno) iznad optimalnog (tabela 11), što opisuje proizvod PP2 kao nedovoljno sladak i prekiseo. Korigovanje ukusa dovelo je do dostizanja nivoa optimalne kiselosti funkcionalnog proizvoda, što je islustrованo na slici 39. Kako je prikazano, intenzitet kiselosti niskokaloričnog pekmeza je gotovo na optimalnom nivou u slučaju niskokaloričnog proizvoda i blago iznad optimalnog nivoa u slučaju funkcionalnog proizvoda (blago iznad isprekidane crvene linije koja odgovara optimalnom intenzitetu). Razlika između rezultata u intenzitetu kiselosti niskokaloričnog pekmeza i funkcionalnog proizvoda nije statistički značajna, dok se oba značajno razlikuju od standardnog pekmeza koji je kiseliji.

Kada se posmatra intenzitet slatkog ukusa razvijenog funkcionalnog proizvoda, rezultat ukazuje na činjenicu da je uzorak manje sladak od optimalnog nivoa (stubić je ispod isprekidane crvene linije). Međutim, nivo slatkoće se približio optimalnom nivou pri razvoju proizvoda, s obzirom da vrednost od 3,82 na ovom tipu JAR skale približno odgovara vrednosti od -1 na tipu JAR skale koja je prethodno primenjena za ispitivanje slatkoće PP2 polaznog proizvoda. Nivo slatkoće PP2 od gotovo -3 ukazuje da je slatkoća razvijenog funkcionalnog proizvoda povećana skoro tri puta u odnosu na polazni, prema oceni potrošača II panela. Mada je došlo do poboljšanja slatkoće kao važnog činioca ukusa, proizvod je i dalje manje sladak od optimalnog, ali je bliži optimalnom intenzitetu u poređenju sa standardnim proizvodom (slika 39). Razlike u ocenama intenziteta slatkoće kod svih uzoraka bile su statistički značajne.

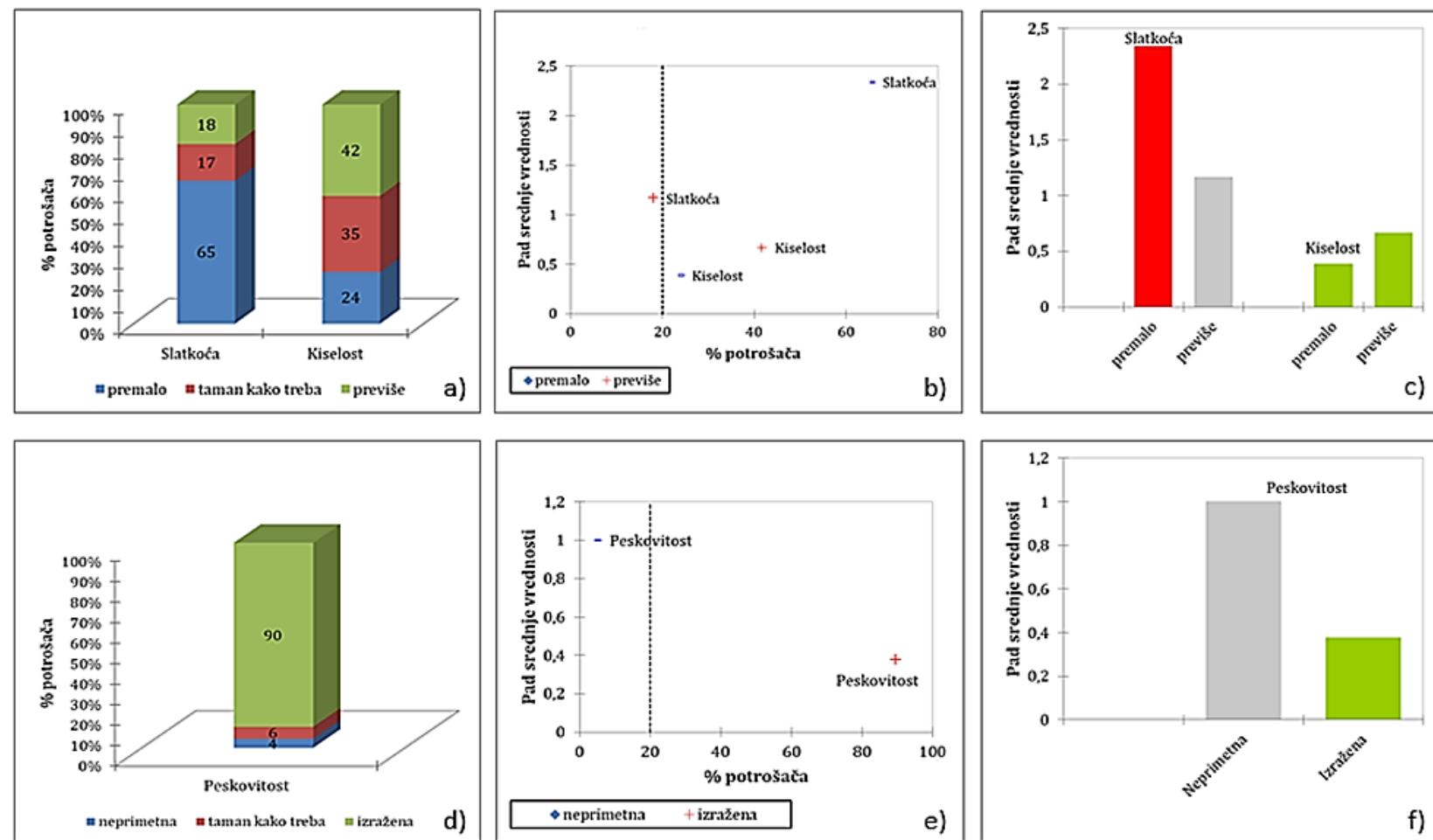
Istraživanje koje su sproveli Abid i sar. (2018) pokazalo je da dodatak osušene pokožice nara u prevelikim količinama (8,85% vlakana) narušava ukupnu prihvatljivost džemova od nara s obzirom da tanini iz pokožice nara daju gorčinu proizvodu. Drugi džemovi sa pokožicom nara (sa nižim sadržajem vlakana) takođe su negativno uticali na dopadljivost slatkoće. U ovom istraživanju, funkcionalni proizvod od šljive sadrži preko 6% vlakana, te na intenzitet slatkoće potencijalno utiču prisutni tanini pored organskih kiselina koje su koncentrisane u liofiliziranom tropu šljive koji čini pokožica.



Slika 39. Rezultati odstupanja intenziteta slatkoće i kiselosti razvijenog funkcionalnog i dva komercijalna proizvoda od šljive od nivoa koji je za ispitanika optimalan.

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm s.d. Vrednosti iznad stubića u istoj boji (slatkoča/kiselost) označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ($p < 0,05$) (Tukey-Kramerov test)

U ovom radu sprovedena je analiza pada srednje vrednosti ukupne dopadljivosti funkcionalnog proizvoda u odnosu na činioce ukusa, što je prikazano na slikama 40a, b i c. Kada se objedine kategorije potrošača sa JAR skale sa 9 tačaka, na skalu sa 3 kategorije slatkoće i kiselosti („premala“ slatkoča/kiselost, „taman kako treba“ slatkoča/kiselost i „previše“ percepirana slatkoča/kiselost), dobija se uvid u procenat potrošača koje pripadaju novim grupama (slika 40a). Analiza pada srednje vrednosti prikazana je na slikama 40b i 40c, gde se može uočiti da su premala i previše percepirana kiselost smeštene u donjem delu grafika (iznose redom 0,388 i 0,667). *Mean drop* metod pokazao je da kiselost funkcionalnog proizvoda nije uticao statistički značajno na pad srednje vrednosti ukupne dopadljivosti proizvoda (označeno zelenom bojom) (slika 40c). Sa druge strane, može se uočiti da je „premala slatkoča“ pozicionirana u gornjem desnom uglu grafika 40b, te da dolazi do najvećeg pada srednje vrednosti (2,337) za najveći udeo potrošača (65,28%). Pad ukupne dopadljivosti usled premale slatkoće je na statistički značajan nivou ($p < 0,05$) (označeno crvenom bojom) (slika 40c), što može dovesti do isključenja (eng. penalty) funkcionalnog proizvoda od strane potrošača. Prevelika slatkoča je smeštena u delu grafika koji je ispod granične vrednosti od 20% potrošača (eng. thresholds) određene pre sprovođenja metode, što znači da se podaci ne mogu statistički obraditi (označeno sivom bojom) (slika 40c).



Slika 40. Analiza pada srednje vrednosti ukupne dopadljivosti razvijenog funkcionalnog proizvoda u odnosu na pojedinačne senzorske atributе: kiselost i slatkoća (a, b i c) i peskovitost (d, e, f). Procenat potrošača (sveden sa JAR skale sa devet - na tri kategorije) (a i d) Pad srednje vrednosti - % potrošača u zadatim kategorijama (b i e); Statistički značajan pad srednje vrednosti ($p<0,05$) (c i f): statistički značajno (označeno crvenim), bez statsitički značajne razlike (označeno zelenim), podaci su ispod granične vrednosti za veličinu (procenat) populacije (eng. treshold) (označeno sivom bojom)

5. ZAKLJUČCI

U okviru ove doktorske disertacije razvijena je receptura funkcionalnog proizvoda od šljive, obogaćenog prehrambenim vlaknima i bioaktivnim fenolnim jedinjenjima, prihvativljivih senzorskih osobina, smanjenog sadržaja šećera i energetske vrednosti. Ključni sastojak u dizajniranju funkcionalnog proizvoda je trop šljive (pokožica ploda), sporedni proizvod iz prerade šljive.

Trop šljive 1 (T-Š1), upotrebljen za pripremu **polaznog funkcionalnog proizvoda**, imao je dva puta veći sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana, tri puta veći sadržaj fenolnih jedinjena (TPC) i flavonoida (TFC) i pet puta veći sadržaj monomernih antocijana (TMA) u poređenju sa blanširanom nepasirano kašom šljive 1 (NK-Š1) dobijenom iz celog ploda.

Fizičko-hemijska i senzorska ispitivanja polaznog funkcionalnog proizvoda od šljive sa dodatkom tropsa T-Š1 (PP2), domaće marmelade (PP1) i džema od šljive (PP3) i tri komercijalna proizvoda (KP1-KP3) dovela su do sledećih zaključaka:

- Polazni funkcionalni proizvod (PP2) imao je najveći sadržaj antocijana, dok se po sadržaju fenola i flavonoida nalazio na trećem mestu.
- Komercijalni pekmez od šljiva KP3 (pripremljen na tradicionalan način) izdvojio se kao najdopadljiviji, zajedno sa pekmezom KP1, dok je polazni proizvod PP2 bio najmanje dopadljiv.
- Najmanje odstupanje od optimalnog nivoa slatkoće pokazali su proizvodi KP3 i KP2, dok je najmanje odstupanje od optimalnog intenziteta kiselosti zabeleženo kod KP2 i PP1. Proizvod PP2 izdvajao se po značajnom odstupanju od optimalnog nivoa oba svojstva koja definišu ukus ovog tipa hrane, odnosno bio je najmanje sladak i najviše kiseo. Dobijen rezultat je posledica upola manjeg sadržaja šećera i najveće koncentracije limunske kiseline u proizvodu PP2 u odnosu na proizvod sa optimalnom slašću. Stoga je pri razvoju i poboljšanju ukusa novog proizvoda bilo potrebno smanjiti dodatak limunske kiseline i povećati dodatak saharoze.
- Instrumentalno izmereni parametri teksture KP1, KP2 i KP3, bili su bliski, ali je najviša dopadljivost teksture zapažena kod pekmeza KP3 i KP2. Tradicionalno pripremljen pekmez KP3 istakao se po najboljim ocenama sa aspekta teksture, ali i boje, nasuprot proizvodima PP2 i KP2. Parametri a* i b* pokazuju razlike u boji, s plavim tonovima i tamnocrvenom bojom KP3 i žutim tonovima i jarko crvenom bojom PP2 proizvoda. Pri kreiranju novog proizvoda treba težiti postizanju teksturnih osobina i boje proizvoda KP3.

Hemijskom karakterizacijom **sirovina** za funkcionalni proizvod sa dodatkom **liofiliziranog tropsa šljive** se može konstatovati sledeće:

- Liofilizacija je dovela do koncentrisanja prehrambenih vlakana u tropu šljive, uključujući i pektinske materije. Sadržaj ukupnih prehrambenih vlakana u liofilizatima LT-Š2 i LT-Š3 (30,89 i 38,98 g/100 g s.m., redom) bio je veći u poređenju sa kašom NK-Š2 (15,14 g/100 g s.m.). Distribucija nerastvorljivih i rastvorljivih vlakana u NK-Š2 bila je podjednaka, dok je u LT-Š2 dominirala nerastvorljiva frakcija u poređenju sa rastvorljivom (redom 20,31 i 11,20 g/100 g s.m.). Koncentracija pektina bila je veća u NK-Š2 (1,07 g/100 g s.m.) u odnosu na liofilizate (0,61-0,73 g/100 g s.m.). Liofilizati su imali statistički značajno veće koncentracije svih pomenutih polimera u odnosu na kašu kada se posmatra u obliku u kom su sirovine primenjene u preradi (g/100 g).

- Sadržaj ukupnih fenola u liofilizatu LT-Š3 (1096 mg EGK/100 g s.m.) bio je dva i tri puta veći u poređenju sa kašom šljive NK-Š2 i liofilizatom LT-Š2. Liofilizat LT-Š3 imao je deset puta veći sadržaj TMA (580,56 mg ECR/100 g s.m.) u odnosu na LT-Š2 i NK-Š2. Sa druge strane, u liofilizatima je uočen obrnut trend u slučaju sadržaja TFC (LT-Š2>LT-Š3). Zabeležene razlike u sadržajima fenolnih komponenti u liofilizatima su verovatno posledica različite prirode uzorka šljive u zavisnosti od sezone uzorkovanja, kao i termolabilnosti antocijana, odnosno dužeg vremena sušenja LT-Š2 u odnosu na LT-Š3.
- Najzastupljenija fenolna jedinjenja u liofiliziranom tropu LT-Š3 su antocijani (cijanidin 3-rutinozid i cijanidin 3-glukozid), praćeni flavonolom rutinom i hlorogenskim kiselinama (neohlorogenska>hlorogenska).

Tokom **optimizacije recepture** varirani su udeli liofiliziranog tropa LT-Š2 (2-10%), saharoze (10-20%) i LMA pektina (0-0,2%), a rezultati ispitivanja funkcionalnih proizvoda FP1-FP15 doveli su do sledećih zaključaka:

- Najveći udeo liofilizata doveo je do nižih pH vrednosti jer su organske kiseline doprinele povećanju kiselosti. Vrednosti pH bile su u skladu sa preporukama za dijetetski džem (3,4 do 3,61), osim za FP2 (3,35).
- Povećanje udela liofilizata uticalo je na povećanje sadržaja TPC, TFC i TMA, zbog koncentrisanja fenolnih jedinjenja tokom pripreme i otparavanja vode. Najveći sadržaji TPC i TFC uočeni su pri primeni najniže koncentracije šećera (10%) i srednje koncentracije tropa (6%). Sadržaj TMA nije pokazao isti trend, što se može pripisati termolabilnoj prirodi antocijana. Antioksidativna aktivnost FP1 - FP15 je u snažnoj korelaciji sa TPC i TFC, i umerenoj sa TMA.
- Ispitani parametri boje (L^* , a^* , b^* , C^* i h^*) svih proizvoda (FP1-FP15) bili su približnih vrednosti, a crvena boja proizvoda (a^*) bila je primarno određena sadržajem TMA. Ujednačeni parametri mogu se tumačiti kao posledica primene niskih koncentracija šećera u zakišljenoj sredini kod svih uzoraka, gde dolazi do formiranja furfurala koji iniciraju degradiranje antocijana, ključnih nosilaca boje šljive i njenih prerađevina.
- Najveći udeo šećera doveo je do smanjenja čvrstoće i adhezivnosti formulacija, u poređenju sa najmanjim udelom šećera. Suprotno navedenom, čvrstoća i adhezivnost uzoraka se povećala sa najvećim sadržajem pektina, kao i najvećim sadržajem liofiliziranog tropa.
- Optimalna formulacija proizvoda ($SS = 0,842$) je dobijena sa 10% liofiliziranog tropa, 15% saharoze i 0% LMA. Time je omogućena potpuna eliminacija LMA iz pripreme proizvoda.

Iz rezultata analize fizičko – hemijskih osobina razvijenog funkcionalnog proizvoda sa liofiliziranim tropom LT-Š3 proizašli su sledeći zaključci:

- SMR je iznosila 40,48 °Brix, sadržaj ukupnih šećera bio je 34,03 g/100 g, sa saharozom kao dominantnim šećerom (19,40 g/100 g), koju su pratili glukoza i fruktoza (8,34 i 4,29 g/100 g, redom). Ukupni šećeri u funkcionalnom proizvodu bili su niži u poređenju sa kontrolnim, bez tropa (redom 77,98 i 88,31 g/100 g s.m.).
- pH vrednost razvijenog proizvoda se povećala (3,51) u odnosu na polazni proizvod i bila je u skladu sa dijetetskim proizvodima. Ovo je verovatno posledica redukcije limunske kiseline pri poboljšanju i razvoju proizvoda, sa 1,74 na 0,39 g/kg (polazni i razvijeni proizvod, redom).
- Dodatak liofiliziranog tropa doprineo je skoro trostruko većem sadržaju ukupnih prehrabnenih vlakana (6,69 g/100 g; 15,74 g/100 g s.m.) pri poređenju sa kontrolnim uzorkom (2,69 g/100 g; 5,78 g/100 g s.m.), što razvijeni proizvod svrstava među *namirnice bogate vlaknima (>6%)*

- Smanjena energetska vrednost, uz snižen sadržaj šećera (za 30%) i sniženu SMR razvijenog proizvoda u odnosu na standardne, omogućila je da se u deklaraciju ovog proizvoda uključi izjava *smanjena količina šećera*.
- Dodatak liofiliziranog tropa šljive poboljšao je fenolni profil razvijenog funkcionalnog proizvoda u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu. Drugim rečima, primena liofilizata povećala je sadržaj TPC, TFC i TMA (120, 50 i 170%, redom) u funkcionalnom proizvodu u odnosu na kontrolni, kao i sadržaj individualnih fenolnih jedinjenja (osim neohlorogenske, kafene i p-kumarinske kiseline) (izraženo na s.m.).
- Najzatupljenija komponenta razvijenog proizvoda bila je rutin, praćena neohlorogenskom kiselinom, kvercetinom, katehinom, hlorogenskom kiselinom, cijanidin 3-rutinozidom i cijanidin 3-glukozidom (35,38; 22,92; 8,47; 8,33; 6,45; 6,2; 3,36 mg/100 g s.m, redom). Ovakav rezultat pratiла je i povećana antioksidativna aktivnost u odnosu na kontrolu. Vrednost IC₅₀ bila je u snažnoj korelaciji sa hlorogenskom i neohlorogenskom kiselinom, rutinom, kvercetinom i cijanidin 3-rutinozidom.
- **Boja funkcionalnog proizvoda** bila je tamnija od kontrolnog, sa manje žutih tonova (b* iznosi 0,15 i 4,34, redom). Razlika u boji ($\Delta E=5,33$) između razvijenog i kontrolnog proizvoda bila je dobro vidljiva ($3<\Delta E<6$).
- **Čvrstoća, adhezivnost i otpornost** funkcionalnog proizvoda bili su veći u odnosu na kontrolni, najverovatnije usled kompaktnijeg rasporeda čestica liofiliziranog tropa u uzorku, većeg sadržaja vlakana i teorijski veće raspoloživosti pektina.
- **Proizvod je bio mikrobiološki bezbedan**, sa aspekta broja kvasaca i plesni (<100 cfu/1g) i enterobakterija (<10 cfu/1g).

Senzorska ocena razvijenog funkcionalnog proizvoda doveđa je do sledećih zaključaka:

- Ukupna dopadljivost iznosila je 4,43 (na skali od 9 kategorija), odnosno proizvod je bio prihvatljiv za potrošače. Dopadljivost mirisa je visoko ocenjena (6,08). Proizvod je imao dopadljivu teksturu i ukus (redom 4,58 i 4,36).
- Boja razvijenog proizvoda je poboljšana i bolje ocenjena u odnosu na polazni (5,83 i 4,38), jer je bila bliža tamnijoj i zagasitijoj crvenoj boji koju potrošači više preferiraju.
- Intenzitet kiselosti je na optimalnom nivou za potrošače na JAR skali (5,29), dok je intenzitet slatkoće nešto niži od optimuma (3,82). Analiza pada srednje vrednosti ukupne dopadljivosti pokazala je da premala slatkoća može uticati na eliminisanje proizvoda iz potrošačke korpe.
- Potrošači su izrazili negativno mišljenje o prisustvu peskovitosti u teksturi, ali je informisanje o uzroku peskovitosti (funkcionalni dodatak) kod 70% potrošača povećalo interesovanje za funkcionalnim proizvodom.

Rezultati izloženi u ovom radu pokazali su da je moguće upotrebiti sporedni proizvod iz prerade šljive u proizvodnji senzorski dopadljivog funkcionalnog proizvoda od šljive kog karakteriše uravnotežen odnos nutrijenata, snižena energetska vrednost i visoki udeli fenolnih jedinjenja i prehrambenih vlakana. Upotreba liofiliziranog tropa šljive eliminisala je primenu hidrokoloida iz postupka pripreme. Okosnicu razvoja recepture predstavljala je senzorska analiza budući da su rezultati potrošačkih testova usmerili optimizaciju recepture u pogledu teksture, boje i ukusa novog proizvoda. Integriranjem tropa šljive u novu formulaciju iskorišćen je čitav jestivi deo ploda šljive, što je važno sa ekonomskog aspekta. Liofilizacija je skup proces, te se u budućnosti može razmotriti primena drugih postupaka sušenja. Proizvod se može dodatno poboljšati smanjenjem količine liofilizata, kako bi se smanjila peskovitost u teksturi. Ostvareni

su zadati ciljevi teze, a u saradnji sa firmom MILINAS PRO definisano je tehničko rešenje "Funkcionalni namaz od šljive" koje se od 2021. godine i primenjuje. U okviru ove doktorske disertacije razvijen je model veštacke neuronske mreže (ANN) koji može biti uspešno primenjen u industrijskim uslovima za predviđanje određenih fizičko-hemijskih parametara (TPC, TFC, TMA, IC50, MF, WoP, WoA, IT, IF, L*, a* i b*) funkcionalnih proizvoda od šljive sa dodatkom liofiliziranog tropa šljive.

6. LITERATURA

- AACC Method 32-07.01 Determination of Soluble, Insoluble and Total Dietary Fiber in Foods and Food Products (Final Approval 10-16-91), Megazyme.
- Abid, M., Yaich, H., Hidouri, H., Attia, H., Ayadi, M.A. (2018). Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam. *Food Chemistry*, 239, 1047-1054.
- Abid, M., Cheikhrouhoum S., Renard, C.M.G.C., Bureau, S., Cuvelier, G., Attia, H., Ayadi, M.A. (2017). Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. *Food Chemistry*, 215, 318-325.
- Ahmed, J., Shihhare, U. S., Raghavan, G. S. V. (2004). Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. *European Food Research and Technology*, 218, 525-528.
- Alamgir, A. N. M. (2017). Classification of drugs, nutraceuticals, functional food, and cosmeceuticals; proteins, peptides, and enzymes as drugs. In: Alamgir, A. N. M. (Eds.), Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts (pp.125-175). Progress in Drug Research (Vol. 73).
- Amirov, A., Gerget, O., Devjatyh, D., Gazaliev, A. (2014). Medical Data Processing System based on Neural Network and Genetic Algorithm. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 131, 149-155.
- Andersen, O.M., Jordheim, M. (2005). The anthocyanins. In: Andersen, O.M., Markham, K.R. (Eds.), Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications (pp. 471-552). CRC Press.
- AOAC Method 991.43 Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods (First Action 1991), Megazyme.
- Arsenović, M., Pezo, L., Stanković, S., Radojević, Z. (2015). Factor space differentiation of brick clays according to mineral content: Prediction of final brick product quality. *Applied Clay Science*, 115, 108-114.
- Bajić, A., Pezo, L. L., Stupar, A., Filipčev, B., Cvetković, B. R., Horecki, A. T., Mastilović, J. (2020). Application of lyophilized plum pomace as a functional ingredient in a plum spread: Optimizing texture, colour and phenol antioxidants by ANN modelling. *LWT - IFood Science and Technology*, 130, 109588.
- Banaś, A., Korus, A., Korus, J. (2018). Texture, Color, and Sensory Features of Low-Sugar Gooseberry Jams Enriched with Plant Ingredients with Prohealth Properties. *Journal of Food Quality*, 2018, 16-18.
- Baron, A., Turk, M., Le Quéré, J.-M. (2016). From fruit to fruit juice and fermented products. In: Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., & Brulé, G. (Eds.), Handbook of Food Science and Technology 3: Food Biochemistry and Technology (pp. 231-273). ISTE Ltd.: London, UK.
- Barać, G., Mastilović, J., Kevrešan, Ž., Milić, B., Kovač, R., Milović, M., Kalajdžić, J., Bajić, A., Magazin, N., Keserović, Z. (2022). Effects of Plant Growth Regulators on Plum

(*Prunus domestica* L.) Grown on Two Rootstocks at Harvest and at the Postharvest Period. *Horticulturae*, 8, 1-17.

- Basanta, M. F., Rizzo, S. A., Szerman, N., Vaudagna, S. R., Descalzo, A. M., Gerschenson, L. N., Pérez, C. D., Rojas, A. M. (2018). Plum (*Prunus salicina*) peel and pulp microparticles as natural antioxidant additives in breast chicken patties. *Food Research International*, 106, 1086-1094.
- Basu, S., Shihhare, U. S. (2010). Rheological, textural, micro-structural and sensory properties of mango jam. *Journal of Food Engineering*, 100, 357-365.
- Belović, M. (2016). Iskorišćenje sporednog produkta prerađe paradajza kao sirovine za prehrambene proizvode sa dodatom vrednošću. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1-136.
- Belović, M., Torbica, A., Pajić-Lijaković, I., Mastilović, J. (2017). Development of low calorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace. *Food Chemistry*, 237, 1226-1233.
- Benković, M., Tušek, A. J., Belščak-Cvitanović, A., Lenart, A., Domian, E., Komes, D., Bauman, I. (2015). Artificial neural network modelling of changes in physical and chemical properties of cocoa powder mixtures during agglomeration. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 140-148.
- Bigliardi, B., Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 31, 118-129.
- Bobrich, A., Fanning, K. J., Rychlik, M., Russell, D., Topp, B., Netzel, M. (2014). Phytochemicals in Japanese plums: Impact of maturity and bioaccessibility. *Food Research International*, 65, 20-26.
- Bosscher, D., Van Loo, J., Franck, A. (2006). Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal*, 16, 1092-1097.
- Brlek, 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.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, L.R. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22, 749-760.
- Cappa, C., Lavelli, V., Mariotti, M. (2015). Fruit candies enriched with grape skin powders: Physicochemical properties. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 569-575.
- Carvalho, N. B., Minim, V. P. R., Silva, R. de C. dos S. N., Della Lucia, S. M., Minim, L. A. (2013). Artificial Neural Networks (ANN): Prediction of sensory measurements from instrumental data. *Food Science and Technology*, 33, 722-729.
- Cevallos-Casals, B. A., Byrne, D., Okie, W. R., Cisneros-Zevallos, L. (2006). Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, 96, 273-280.
- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118-139.
- Chang, S. K., Alasalvar, C., Shahidi, F. (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 21, 113-132.

- Chang, T. -S, Siddiq, M., Sinha, N. K., Cash, J. N. (1994). Plum Juice Quality Affected by Enzyme Treatment and Fining. *Journal of Food Science*, 59, 1065-1069.
- Chun, O.K., Kim, D.O., Moon, H.Y., Kang, H.G., Lee, C.Y. (2003). Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7240-7245.
- Cinquanta, L., Di Matteo, M., Esti, M. (2002). Physical pre-treatment of plums (*Prunus domestica*). Part 2. Effect on the quality characteristics of different prune cultivars. *Food Chemistry*, 79, 233-238.
- Coit, D. W., Jackson, B. T., Smith, A. E. (1998). Static neural network process models: Considerations and case studies. *International Journal of Production Research*, 36, 2953-2967.
- Costa, A. G. V., Garcia-Diaz, D. F., Jimenez, P., Silva, P. I. (2013). Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. *Journal of Functional Foods*, 5, 539-549.
- Cozzolino, D., Power, A., Chapman, J. (2019). Interpreting and Reporting Principal Component Analysis in Food Science Analysis and Beyond. *Food Analytical Methods*, 12, 2469-2473.
- Culetu, A., Manolache, F. A., Duta, D. E. (2014). Exploratory study of physicochemical, textural and sensory characteristics of sugar-free traditional plum jams. *Journal of Texture Studies*, 45, 138-147.
- Čakarević, J. C., Vidović, S. S., Vladić, J. Z., Jokić, S. D., Pavlović, N. S., Popović, Lj. M. (2019). Plum oil cake protein isolate: A potential source of bioactive peptides. *Food and Feed Research*, 46, 171-178.
- Ćetković, G., Savatović, S., Čanadanović-Brunet, J., Đilas, S., Vulić, J., Mandić, A., Četojević-Simić (2012). Valorisation of phenolic composition, antioxidant and cell growth activities of tomato waste. *Food Chemistry*, 133, 938-945.
- Ćirić, D., Vujičić, B., Bardić, Ž. (1975). Priručnik za kontrolu kvaliteta sirovina i proizvoda od voća i povrća. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Dai, J., Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
- De Moura, S. C. S. R., da Tavares, P. E. R., Germer, S. P. M., Nisida, A. L. A. C., Alves, A. B., Kanaan, A. S. (2012). Degradation Kinetics of Anthocyanin of Traditional and Low-Sugar Blackberry Jam. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2488-2496.
- Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D. (2009). Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 354-363.
- Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Guillén, F., Valverde, J. M., Valero, D., Serrano, M. (2011). Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 2. Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. *Postharvest Biology and Technology*, 61, 110-116.
- Dikeman, C. L., Bauer, L. L., Fahey, G. C. (2004). Carbohydrate Composition of Selected Plum/Prune Preparations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 853-859.

- Dikeman, C. L., Fahey, G. C. (2006). Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 649-663.
- Dillard, C. J., Bruce German, J. (2000). Phytochemicals: Nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1744-1756.
- Dóka, O., Ficzek, G., Bicanic, D., Spruijt, R., Luterotti, S., Tóth, M., Bujinsters, J.G., Végvári, G. (2011). Direct photothermal techniques for rapid quantification of total anthocyanin content in sour cherry cultivars. *Talanta*, 84, 341-346.
- Donovan, J. L., Meyer, A. S., Waterhouse, A. L. (1998). Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1247-1252.
- Downing, D. L. (1996). Preserves (jams), jellies and related products. In: Downing, D. L. (Eds.), A complete course in canning and related processes (13th ed.) (pp. 385-426). Wood Publishing.
- Eim, V. S., Simal, S., Rosselló, C., Femenia, A., Bon, J. (2013). Optimisation of the addition of carrot dietary fibre to a dry fermented sausage (sobrassada) using artificial neural networks. *Meat Science*, 94, 341-348.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124, 411-421.
- Essiccatoi, I. (2003). From plums to prunes: Influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3675-3681.
- Fastyn, M., Markowski, J., Mieszcakowska-Frac, M., Płocharski, W. (2010). Możliwości zwiększenia konsumpcji soków owocowych poprzez wprowadzenie nowych asortymentów - mętne soki śliwkowe. *Scientific-technical magazine for fermentation and fruit and vegetable industry*, 4, 10-12 (in Polish with English abstract).
- Fatimi, A., Ralet, M. C., Crepeau, M. J., Rashidi, S., Thibault, J. F. (2007). Dietary fibre content and cell wall polysaccharides in prunes. *Sciences des aliments*, 27, 423-429.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Omid, M., Kalbasi-Ashtari, A. (2013). Prediction of the physicochemical properties of spray-dried black mulberry (*Morus nigra*) juice using artificial neural networks. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 585-590.
- Fernandes, I., Faria, A., Calhau, C., de Freitas, V., Mateus, N. (2014). Bioavailability of anthocyanins and derivatives. *Journal of Functional Foods*, 7, 54-66.
- Figueroa, L. E., Genovese, D. B. (2019). Fruit jellies enriched with dietary fibre: Development and characterization of a novel functional food product. *LWT-Food Sciences and Technology*, 111, 423-428.
- FAO (2003). Methods of food analysis. Food energy-methods of analysis and conversion factors. FAO Food and Nutrition Paper, 77. FAO, Rome.
- Garcia-Amezquita, L. E., Tejada-Ortigoza, V., Campanella, O. H., Welti-Chanes, J. (2018). influence of drying method on the composition, physicochemical properties, and prebiotic potential of dietary fibre concentrates from fruit peels. *Journal of Food Quality*, 2018.

- García-Viguera, C., Zafrilla, P., Artés, F., Romero, F., Abellán, P., Tomás-Barberán, F. A. (1998). Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 565-573.
- Garrido, J. I., Lozano, J. E., Genovese, D. B. (2015). Effect of formulation variables on rheology, texture, colour, and acceptability of apple jelly: Modelling and optimization. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 325-332.
- Gawkowska, D., Cybulska, J., Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. *Polymers*, 10, 762.
- Gibson, G. R., Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4976-4982.
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2005). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad, R. E., Acree, T. E., Decker, E .A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D., Sporns, P. (Eds.), *Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components* (pp. 19-31). John Wiley & Sons, New York, NY.
- Guiné, R. P. F. (2019). The use of artificial neural networks (ANN) in food process engineering. *ETP International Journal of Food Engineering*, 5, 15-21.
- Gumul, D., Berski, W., Zięba, T. (2023). The Influence of Fruit Pomaces on Nutritional, Pro-Health Value and Quality of Extruded Gluten-Free Snacks. *Applied Sciences*, 13, 4818.
- Harborne, J. B. (1986). Biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. In: Cody, V., Middleton, E., Harborne, J. B. (Eds.), *Plant flavonoids in biology and medicine*, Alan R Liss., New York.
- Hasler, C.M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges-a position paper from the american council on science and health. *The Journal of Nutrition*, 132, 3772-3781.
- Holzwarth, M., Korhummel, S., Siekmann, T., Carle, R., Kammerer, D. R. (2013). Influence of different pectins, process and storage conditions on anthocyanin and colour retention in strawberry jams and spreads. *LWT - Food Science and Technology*, 52, 131-138.
- Hooshmand, S., Arjmandi, B. H. (2009). Viewpoint: Dried plum, an emerging functional food that may effectively improve bone health. *Ageing Research Reviews*, 8, 122-127.
- Howard, L.R., Castrodale, C., Brownmiller, C., Mauromoustakos, A. (2010). Jam processing and storage effects on blueberry polyphenolics and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4022-4029.
- Igual, M., Contreras, C., Martínez-Navarrete, N. (2014). Colour and rheological properties of non-conventional grapefruit jams: Instrumental and sensory measurement. *LWT - Food Science and Technology*, 56, 200-206.
- Inglesias, M.T., Lozano, J.E. (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, 62, 215-223.
- Iwatani, S., Yamamoto, N. (2019). Functional food products in Japan: A review. *Food Science and Human Wellness*, 8, 96-101.

- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., Hosseini, S.S. (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1315-1322.
- Jamsazzadeh Kermani, Z., Shpigelman, A., Tran Thuy Pham, H., van Loey, A., Hendrickx, M.E. (2015). Functional properties of citric acid extracted mango peel pectin as related to its chemical structure. *Food Hydrocolloids*, 44, 424-434.
- Javanmard, M., Endan, J. (2010). A survey on rheological properties of fruit jams. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 1, 31-37.
- Jayasankar, S., Dowling, C., Selvaraj, D. K. (2016). Plums and Related Fruits. In: Caballero, B., Finglas, P., Tondrá, F. (Eds.), Encyclopedia of Food and Health (1st ed.) (pp. 401-405). Academic Press, Oxford, UK.
- Jellinek, G. (1964). Introduction to and critical review of modern methods of sensory analysis (odour, taste and flavour evaluation) with special emphasis on descriptive sensory analysis (flavour profile method). *Journal of Nutrition and Dietetics*, 1, 219-260.
- Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Vuksan, V., Vidgen, E., Parker, T., Faulkner, D., Mehling, C. C., Garsetti, M., Testolin, G., Cunnane, S. C., Ryan, M. A., Corey, P. N. (2002). Soluble fiber intake at a dose approved by the us food and drug administration for a claim of health benefits: Serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 834-839.
- Johnson, J., Vickers, Z. (1987). Avoiding the centering bias or range effect when determining an optimum level of sweetness in lemonade. *Journal of Sensory Studies*, 2, 283-292.
- Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2015). Colour retention, anthocyanin stability and antioxidant capacity in black carrot (*Daucus carota*) jams and marmalades: Effect of processing, storage conditions and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 13(October 2014), 1-10.
- Kaur, S., Das, M. (2011). Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20, 861-875.
- Kaya, M., Sousa, A. G., Crépeau, M. J., Sørensen, S. O., Ralet, M. C. (2014). Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*, 114, 1319-1326.
- Kim, D. O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H.-Y., Lee, C. Y. (2003a). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., Lee, C. Y. (2003b). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.
- Kim, D.O., Padilla-Zakour, O.I. (2004). Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum and raspberry. *Journal of Food Science*, 69, 395-400.
- Kollo, T., von Rosen, D., 2005. Advanced multivariate statistics with matrices. Springer, Dordrecht, Netherlnd.

- Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y., Shibata, H. (1997). Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1335, 335-342.
- Kopjar, M., Piližota, V., Tiban, N. N., Šubarić, D. (2009). Strawberry Jams: Influence of different pectins on colour and textural properties. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 20-28.
- Kosmala, M., Kołodziejczyk, K., Markowski, J., Mieszczańska, M., Ginies, C., Renard, C. M. G. C. (2010). Co-products of black-currant and apple juice production: Hydration properties and polysaccharide composition. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 173-180.
- Kosmala, M., Milala, J., Kolodziejczyk, K., Markowski, J., Zbrzezniak, M., Renard, C.M.G.C. (2013). Dietary fiber and cell wall polysaccharides from plum (*Prunus domestica* L.) fruit, juice and pomace: Comparison of composition and functional properties for three plum varieties. *Food Research International*, 54, 1787-1794.
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., Pehu, E. (2006). Agriculture and rural development discussion paper 30 health enhancing foods opportunities for strengthening the sector in developing countries. Agriculture and Rural Development. World Bank Group, Washington D.C.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griet, A.E., Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113, 71-88.
- Kristl, J., Slekovec, M., Tojko, S., Unuk, T. (2011). Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Food Chemistry*, 125, 29-34.
- Krulj, J., Brlek, T., Pezo, L., Brkljača, J., Popović, S., Zeković, Z., Bodroža Solarov, M. (2016). Extraction methods of Amaranthus sp. grain oil isolation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 3552-3558.
- Lawless, H. T., Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food, Principles and Practices (2nd ed.). Springer New York, NY.
- Lawless, H. T., Popper, R., & Kroll, B. J. (2010). A comparison of the labeled magnitude (LAM) scale, an 11-point category scale and the traditional 9-point hedonic scale. *Food Quality and Preference*, 21, 4-12.
- Lee, H. S., Hong, V. (1992). Review: Chromatographic analysis of anthocyanins. *Journal of Chromatography*, 624, 221-234.
- Levaj, B., Vahčić, N., Dragović-Uzelac, V., Svetličić, S., Sabljak, V., Herceg, K., Stanić, D., Marinčić, Dž., Elez, I., Bursać-Kovačević, D., Lončarić, S. (2012). Influence of processing on yield and quality of cloudy plum juices. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 7, 34-38.
- Lippert, F., Blanke, M. M. (2004). Effect of mechanical harvest and timing of 1-MCP application on respiration and fruit quality of European plums *Prunus domestica* L. *Postharvest Biology and Technology*, 34, 305-311.

- Lukač Bulatović, M., Rajić, Z., Ljubanović Ralević, I. (2012). Economic features of processed fruit production in Serbia. *Economics of Agriculture*, 59, 715-725.
- 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.
- Majerska, J., Michalska, A., Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 207-219.
- Manganaris, G. A., Vicente, A. R., Crisosto, C. H. (2008). Effect of pre-harvest and post-harvest conditions and treatments on plum fruit quality. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Sciences, Nutrition and Natural Resources*, 3, 1-10.
- Matković, M. (2015). Possibilities of plum cultivation in the Republic of Serbia. *Economics of Agriculture*, 62, 1045-1060.
- McPherson-Kay, R. (1987). Fiber, stool bulk, and bile acid output: Implications for colon cancer risk. *Preventive Medicine*, 16, 540-544.
- Medina-Meza, I. G., Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Assisted extraction of bioactive compounds from plum and grape peels by ultrasonics and pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 166, 268-275.
- Meiselman, H. L. (2013). The future in sensory/consumer research: Evolving to a better science. *Food Quality and Preference*, 27, 208-214.
- Menrad, K., K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181-188.
- Michalska, A., Wojdyło, A., Majerska, J., Lech, K., Brzezowska, J. (2019). Qualitative and quantitative evaluation of heat-induced changes in polyphenols and antioxidant capacity in *Prunus domestica* L. by-products. *Molecules*, 24, 3008.
- Milala, J., Kosmala, M., Sójka, M., Kolodziejczyk, K., Zbrzeniak, M., Markowski, J. (2013). Plum pomaces as a potential source of dietary fibre: composition and antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 1012-1017.
- Milosevic, T., Milosevic, N., & Mratinic, E. (2010). Morphogenic variability of some autochthonous plum cultivars in Western Serbia. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53, 1293-1297.
- Minas, I. S., Forcada, C. F., Dangl, G. S., Gradziel, T. M., Dandekar, A. M., Crisosto, C. H. (2015). Discovery of non-climacteric and suppressed climacteric bud sport mutations originating from a climacteric Japanese plum cultivar (*Prunus salicina* lindl.). *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-16.
- Mišan, A. Č., Mimica-Dukić, N. M., Mandić, A. I., Sakač, M. B., Milovanović, I. L., & Sedej, I. J. (2011). Development of a Rapid Resolution HPLC method for the separation and determination of 17 phenolic compounds in crude plant extracts. *Central European Journal of Chemistry*, 9, 133-142.
- Mitić, N.M. (2011). Kinetika degradacije fenolnih jedinjenja hidroksil radikalima. Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Niš, 1-308.

- Mohammadi-Moghaddam, T., Firoozzare, A., Daryadar, S., Rahmani, Z. (2020). Black plum peel jam: physicochemical properties, sensory attributes, and antioxidant capacity. *International Journal of Food Properties*, 23, 1737-1747.
- Moskowitz, H. R. (1980). Psychometric evaluation of food preferences. *Foodservice Research International*, 1, 149-167.
- Mubarak, A., Swinny, E. E., Ching, S. Y. L., Jacob, S. R., Lacey, K., Hodgson, J. M., Croft, K. D., Considine, M. J. (2012). Polyphenol composition of plum selections in relation to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10256-10262.
- Murković, M. (2016). Phenolic compounds: occurrence, classes, and analysis. In: Caballero, B., Finglas, P.M., Toldra, F. (Eds.), Encyclopedia of food and health, (pp. 346-351). Reference module in food science.
- Niketić-Aleksić, G. (1988). Tehnologija voća i povrća. IRO „Naučna knjiga“ Beograd. Beograd, Srbija.
- Nile, S. H., Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30, 134-144.
- Nunes, C., Guyot, S., Marnet, N., Barros, A. S., Saraiva, J. A., Renard, C. M. G. C., Coimbra, M. A. (2008a). Characterization of plum procyanidins by thiolytic depolymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5188-5196.
- Nunes, C., Saraiva, J. A., Coimbra, M. A. (2008b). Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (*Prunus domestica* L.) and influence of cell wall enzymes. *Food Chemistry*, 111, 538-548.
- Ogašanović, D., Milenković, S., Mitrović, O., Kandić, M., Zlatković, B., Babić, L. (2007). Serbian dried fruit research. *European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1, 111-116.
- Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H.F., Moates, G.K., Wellner, N., Mazzetto, S.E., Waldron, K.W., Azeredo, H.M.C. (2016). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chemistry*, 198, 113-118.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *Journal of Nutrition*, 131, 66-71.
- Ozturk, B., Kucuker, E., Karaman, S., Ozkan, Y. (2012). The effects of cold storage and aminoethoxyvinylglycine (AVG) on bioactive compounds of plum fruit (*Prunus salicina* Lindell cv. 'Black Amber'). *Postharvest Biology and Technology*, 72, 35-41.
- Pavlić, B., Kaplan, M., Bera, O., Oktem Olgun, E., Canli, O., Milosavljević, N., Antić, B., Zeković, Z. (2019). Microwave-assisted extraction of peppermint polyphenols-Artificial neural networks approach. *Food and Bioproducts Processing*, 118, 258-269.
- Peinado, I., Rosa, E., Heredia, A., Andrés, A. (2015). Use of isomaltulose to formulate healthy spreadable strawberry products. Application of response surface methodology. *Food Bioscience*, 9, 47-59.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz- Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods,

- oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41, 274-285.
- Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L. (2011). Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: The current state of the art. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12713-12724.
- Pestorić, M. (2007). Definisanje i valorizacija eksternog profila industrijski proizvedene tjestenine. Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Pestorić, M. (2011). Razvoj i vrednovanje senzorskih i instrumentalnih metoda za ocjenu teksturnih svojstava tjestenine. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1-185.
- Pestorić, M. (2016). Određivanje i definisanje boje prehrambenih proizvoda. Monografska publikacija, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Novi Sad, 1-129.
- Petkovsek, M. M., Stampar, F., Veberic, R. (2007). Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114, 37-44.
- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. (2017). Microbial spoilage of foods: Fundamentals. In: Bevacqua, A., Corbo, M.R., Singaglia, M (Eds.), *The microbiological quality of food: Foodborne spoilers*. (pp. 1-21). Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition, UK.
- Piga, A., Del Caro, A., Corda, G. (2003). From plums to prunes: Influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3675-3681.
- Poiana, M., Munteanu, M., Bordean, D., Gligor, R., Alexa, E. (2013). Assessing the effects of different pectins addition on color quality and antioxidant properties of blackberry jam. *Chemistry Central Journal*, 7, 1.
- Poiana, M.-A., Alexa, E., Mateescu, C. (2012). Tracking antioxidant properties and color changes in low-sugar bilberry jam as effect of processing, storage and pectin concentration. *Chemistry Central Journal*, 6, 1-16.
- Pravilnik o kvalitetu voćnih džemova, želea, marmelade, pekmeza i zasladdenog kesten pirea (Sl. glasnik RS br. 101/2015).
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća (Sl.list SFRJ, 29/83).
- Pravilnik o prehrambenim i zdravstvenim izjavama koje se navode na deklaraciji hrane (Sl. glasnik RS br. 51/2018 i 103/2018, Prilog 1).
- Pravilniku o deklarisanju, označavanju i reklamiranju hrane (Sl. glasnik RS br. 19/2017-10, 16/2018-33, 17/2020-35, 118/2020-22, 17/2022-14, 23/2022-70. 30/2022-33)
- Pravilnik o voćnim sokovima i određenim srodnim proizvodima namenjenim za ljudsku upotrebu (Sl. glasnik RS br. 103/2018-4, 94/2019-153, 2/2020-205, 84/2020)
- Pravilnik o prehrambenim aditivima (Sl. glasnik RS, 53/2018)
- Prior, R. L. (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 570-578.

- Puerta-Gomez, A. F., Cisneros-Zevallos, L. (2011). Postharvest studies beyond fresh market eating quality: Phytochemical antioxidant changes in peach and plum fruit during ripening and advanced senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 220-224.
- Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M. N., Ereifej, K., Al-u'datt, M. (2011). Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 1096-1102.
- Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., Hosseini, S.S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 709-716.
- Raynal, J., Mountouzet, M., Souquet, J.-M. (1989). Intervention of phenolic compounds in plum technology. 1. Changes during drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1046-1050.
- Renard, D., Van De Velde, F., Visschers, R. W. (2006). The gap between food gel structure, texture and perception. *Food Hydrocolloids*, 20, 423-431.
- Renna, M., Pace, B., Cefola, M., Santamaria, P., Serio, F., Gonnella, M. (2013). Comparison of two jam making methods to preserve the quality of colored carrots. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 547-554.
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., Thibault, J.-F. (2000). Hydratation properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT-Food Science and Technology*, 33, 72-79.
- Rosell, C. M., Santos, E., Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: A comparative approach. *Food Research International*, 42, 176-184.
- Rothman, L. (2007). The use of just-about-right (JAR) scales in food product development and reformulation. In: MacFie., H. (Ed.) (2007), Consumer-Led Food Product Development (pp. 408-433). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
- Rupasinghe, H. P. V., Jayasankar, S., Lay, W. (2006). Variation in total phenolics and antioxidant capacity among European plum genotypes. *Scientia Horticulturae*, 108, 243-246.
- Rzeppa, S., Bittner, K., Döll, S., Dänicke, S., Humpf, H.-U. (2012). Urinary excretion and metabolism of procyanidins in pigs. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56, 653-665.
- Saha, D., Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 587-595.
- Sahamishirazi, S., Moehring, J., Claupein, W., Graeff-Hoenninger, S. (2017). Quality assessment of 178 cultivars of plum regarding phenolic, anthocyanin and sugar content. *Food Chemistry*, 214, 694-701.
- Sandler, R.S. (1996). Epidemiology and risk factors for colorectal cancer. *Gastroenterology Clinics of North America*, 25, 717-735.
- Santeramo, F. G., Carlucci, D., De Devitiis, B., Seccia, A., Stasi, A., Visceccchia, R., Nardone, G. (2018). Emerging trends in European food, diets and food industry. *Food Research International*, 104, 39-47.

- Santos, E., Andrade, R., Gouveia, E. (2017). Utilization of the pectin and pulp of the passion fruit from Caatinga as probiotic food carriers. *Food Bioscience*, 20, 56-61.
- Santos, J. D. G., Espeleta, A. F., Branco, A., de Assis, S. A. (2013). Aqueous extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, 92, 1997-2000.
- Schutz, H. G., Cardello, A. V. (2001). A labeled affective magnitude (LAM) scale for assessing food liking/disliking. *Journal of Sensory Studies*, 16, 117-159.
- Ścibisz, I., Mitek, M. (2009). Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59, 45-52.
- Saha, D., Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 587-595.
- Shai, I., Schwarzfuchs, D., Henkin, Y., Shahar, D.R., Witkow, S., Greenberg, I., Golan, R., Fraser, D., Bolotin, A., Vardi, H., Tangi-Rozental, O., Zuk-Ramot, R., Sarusi, B., Brickner, D., Schwartz, Z., Sheiner, E., Marko, R., Katorza, E., Thiery, J., Fiedler, G.M., Blüher, M., Stumvoll, M., Stampfer, MJ. (2008). Weight loss with a low-carbohydrate, mediterranean or low-fat diet, *The New England Journal of Medicine*, 359, 229-241.
- Shinwari, K. J., Rao, P. S. (2018). Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 181-193.
- Siddiq, M. (2006). Plums and prunes. In: Hui, Y.H., Barta, J., Pilar Cano, M., Gusek, T. W., Sidhu, J. S., Sinha, N.K. (Eds.) (pp. 553), Handbook fruits and fruit processing. Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA.
- Singh, S. P., Singh, Z., Swinny, E. E. (2012). Climatic level during ripening influences lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell), *Postharvest biology and technology*, 65, 22-32.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 (1974), 152-178.
- Slimestad, R., Vangdal, E., Brede, C. (2009). Analysis of phenolic compounds in six norwegian plum cultivars (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 11370-11375.
- Sójka, M., Kolodziejczyk, K., Milala, J., Abadias, M., Viñas, I., Guyot, S., & Baron, A. (2015). Composition and properties of the polyphenolic extract obtained from industrial plum pomace. *Journal of Functional Foods*, 12, 168-178.
- Sonawane, A., Pathak, S. S., Pradhan, R. C. (2020). Optimization of a process for the enzymatic extraction of nutrient enriched bael fruit juice using artificial neural network (ANN) and response surface methodology (RSM). *International Journal of Fruit Science*, 20, 1845-1861.
- SRPS EN ISO 21528-2:2017. Mikrobiologija lanca hrane - Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja Enterobacteriaceae - Deo 2: Tehnika brojanja kolonija.
- SRPS ISO 21527-2:2011. Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje broja kvasaca i plesni - Deo 2: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima sa aktivnošću vode manjom od 0,95 ili jednakom 0,95

- Spence, J. T. (2006). Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 4-6.
- Stacewicz-Sapuntzakis, M. (2013). Dried plums and their products: composition and health effects - an update review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53, 1277-1302.
- Stacewicz-Sapuntzakis, M., Bowen, P. E., Hussain, E. A., Damayanti-Wood, B. I., Farnsworth, N. R. (2001). Chemical composition and potential health effects of prunes: a functional food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41, 251-86.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30, 3268-3295.
- Stamatovska, V., Karakasova, Lj., Babanovska-Milenkovska, F., Nakov, G., Blazavska, T., Durmishi, N. (2017). Production and characterization of production and characterization of plum jams. *Journal of Hygenic Engineering and Design*, 19, 67-77.
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 198-203.
- StatSoft, Inc. (2010). STATISTICA (data analysis software system), version 10.0. Available from: <http://www.statsoft.com/>
- Stone, H., Sidel, J. L. (2004). Sensory evaluation practice (3rd ed.). Elsevier Academic Press, San Diego, C.
- Sun, J., Chu, Y.-F., Wu, X., Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7449-54.
- Swamy, G.J., Muthukumarappan, K. (2017). Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chemistry*, 220, 108-114.
- Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13, 215-225.
- Šarić, B. (2016). Iskorišćenje tropa borovnice i maline u formulaciji bezglutenskog keksa sa dodatom vrednošću. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1-153.
- Šavikin, K., Zdunić G., Janković, T., Tasić, S., Menković, N., Stević, T., Dordević B. (2009). Phenolic content and radical scavenging capacity of berries and related jams from certificated area in Serbia. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 212-217.
- Škrobot, D. (2016). Senzorski, nutritivni i funkcionalni profil integralne testenine sa dodatkom heljdinog brašna. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1-215.
- Taoukis, P. S., Richardson, M. (2020). Principles of intermediate-moisture foods and related technology. In: Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana Jr., A. J., Schmidt, S. J., Labuza, T. (Eds.), *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications* (2nd ed.) (pp. 385-424). Blackwell Publishing Professional Iowa, USA.
- Tepić, A. (2012). Bojene materije voća i povrća. Tehnološki fakultet Novi Sad, Novi Sad.
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Cremin, P., Waterhouse, A. L., Hess-Pierce, B., Kader, A. A. (2001). HPLC - DAD - ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748-4760.

- Tomić, J., Štampar, F., Glišić, I., Jakopič, J. (2019). Phytochemical assessment of plum (*Prunus domestica L.*) cultivars selected in Serbia. *Food Chemistry*, 299, 125113.
- Topping, D. L., Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 81, 1031-1064.
- Touati, N., Tarazona-Díaz, M. P., Aguayo, E., Louailleche, H. (2014). Effect of storage time and temperature on the physicochemical and sensory characteristics of commercial apricot jam. *Food Chemistry*, 145, 23-27.
- Tse, P. W. T., Leung, S. S. F., Chan, T., Sien, A., Chan, A. K. H. (2000). Dietary fibre intake and constipation in children with severe developmental disabilities. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 36, 236-239.
- Tumbas-Šaponjac, V., Ćetković, G., Čanadanović-Brunet, J., Pajin, B., Đilas, S., Petrović, J., Lončarević, I., Stajčić, S., & Vučić, S. (2016). Sour cherry pomace extract encapsulation in whey and soy proteins: Incorporation in cookies. *Food Chemistry*, 207, 27-33.
- Turturică, M., Stănciuc, N., Bahrim, G., Râpeanu, G. (2016). Effect of thermal treatment on phenolic compounds from plum (*prunus domestica*) extracts - A kinetic study. *Journal of Food Engineering*, 171, 200-207.
- Usenik , V., Stampar, F., Kastelec, D. (2013). Phytochemicals in fruits of two *Prunus domestica* L. plum cultivars during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 681-692.
- Usenik, V., Fabčič, J., Štampar, F. (2008). Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium L.*). *Food Chemistry*, 107, 185-192.
- Usenik, V., Štampar, F., Veberič, R. (2009). Anthocyanins and frit color in plums (*Prunus domestica L.*) during ripening. *Food Chemistry*, 114, 529-534.
- Vakula, A. (2020). Fizičke, hemijske i biološke osobine osušenog koštčavog voća proizvedenog različitim tehnikama sušenja. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 1-154.
- van Gorsel, H., Chingying, L., Kader, A. A., Kerbel, E. L., & Smits, M. (1992). Compositional characterization of prune juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 784-789.
- Verschuren, P. M. (2002). Functional foods: Scientific and global perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88, 126-130.
- Vickers, Z. (1988). Sensory specific satiety in lemonade using a just right scale for sweetness. *Journal of Sensory Studies*, 3, 1-8.
- Villanueva, N. D. M., Da Silva, M. A. A. P. (2009). Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. *Food Quality and Preference*, 20, 1-12.
- Vodič za primenu mikrobioloških kriterijuma za hranu (2011). Prvo izdanje, Poglavlje IV (strana 53), Ministrstvo poljoprivrede, trgovine, šumarstva i vodoprivrede, Republika Srbija.
- Vračar, Lj. (2001) Priručnik za kontrolu kvaliteta svežeg i prerađenog voća, povrća i pečurki i osvežavajućih bezalkoholnih pića, Tehnološki fakultet, Novi Sad.

- Will, F., Dietrich, H. (2006). Optimised processing technique for colour- and cloud-stable plum juices and stability of bioactive substances. *European Food Research and Technology*, 223, 419-425.
- Willems, J. L., Khamis, M. M., Mohammed Saeid, W., Purves, R. W., Katselis, G., Low, N. H., El-Aneed, A. (2016). Analysis of a series of chlorogenic acid isomers using differential ion mobility and tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 933, 164-174.
- Wills, R. B. H., Scriven, F. M., Greenfield, H. (1983). Nutrient composition of stone fruit (*Prunus* spp.) cultivars: Apricot, cherry, nectarine, peach and plum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 1383-1389.
- Worch, T., Lê, S., Punter, P. (2010). How reliable are the consumers? Comparison of sensory profiles from consumers and experts. *Food Quality and Preference*, 21, 309-318.
- Yang, Y. Y., Ma, S., Wang, X. X., Zheng, X. L. (2017). Modification and application of dietary fiber in foods. *Journal of Chemistry*, 2017.
- Zbrzeżniak, M., Nordlund, E., Mieszczańska-Frac, M., Płocharski, W., Konopacka, D. (2015). Quality of cloudy plum juice produced from fresh fruit of *Prunus Domestica* L. - The effect of cultivar and enzyme treatment. *Journal of Horticultural Research*, 23, 83-94.

FAOSTAT, 2022.

https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity Pristupljeno 27.11.2022.

<https://www.herbstreith-fox.com> Pristupljeno 5.5.2018.

<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/786736/nutrients> Pristupljeno 17.9.2020.

<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-proizvodnje-dzema-marmelade-i-zelea> Pristrupljeno 10.5.2017.

7. PRILOG

Prilog 1

POTROŠAČKI TEST

Poštovani potrošači, hvala Vam što ste prihvatili učešće u ovom istraživanju.

U okviru istraživanja koje je pred Vama, kroz anketu i senzorsko ispitivanje šest proizvoda od šljive tipa džem/pekmez/voćni namaz, koji se razlikuju po senzorskim stvojstvima, poreklu, primjenjenim sirovinama i tehnologiji proizvodnje (od kojih su tri komercijalno dostupna na tržištu, a tri su proizvedena u pilot postrojenju Naučnog instituta za prehrambene tehnologije), želimo da dobijemo podatke o dopadljivosti proizvoda u zavisnosti od Vaših preferencija, navika i stavova kada je u pitanju ova grupa proizvoda.

Dobijeni rezultati poslužiće u kreiranju novog funkcionalnog proizvoda od šljive.

Anketa je anonimna. Prikupljeni rezultati će se koristiti isključivo za potrebe istraživanja.
Procena trajanja: 15-20 minuta.

Učešćem u anketi i senzorskom ocenjivanju dajete svoju punu saglasnost da se Vaši odgovori mogu koristiti u pomenute svrhe.

POTROŠAČKI TEST - ANKETNI LIST

Molimo Vas da popunite ANKETU:

Vaš pol	Muško		Žensko	
	<30	30-45	45-60	>60
Vaše godine				
Vaše obrazovanje	Osnovno	Srednje	Visoko	
Da li ste pušač	DA		NE	

	Potpuno NETAČNO	Potpuno TAČNO					
	1	2	3	4	5	6	7
Volim da jedem							
Volim da jedem slatko							
Volim da jedem džem/pekmez/voćni namaz							
Često jedem džem/pekmez/voćni namaz							
Često kupujem džem/pekmez/voćni namaz							
Smatram da se zdravo hranim							
Često kupujem proizvode sa funkcionalnim svojstvima							
Često kupujem proizvode sa smanjenim udelom šećera							
Vlakna su korisna u ishrani							
Vlakna nedostaju u ishrani savremenog čoveka							
Vlakna nedostaju u mojoj ishrani							
Znam koji su proizvodi značajan izvor vlakana							
Džem/pekmez/voćni namaz su značajni izvori vlakana							
Često kupujem proizvode sa visokim udelom vlakana							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važna mi je boja							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važan mi je ideo voća							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važna mi je vrsta voća od koje je proizveden							
Prilikom kupovine džema/pekmeza/voćnog namaza prednost dajem tradicionalnim proizvodima							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz jako sladak							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz nakiseo							
Volim kad se u džemu/pekmezu/voćnom namazu vide komadići voća							
Volim kad se jako oseti aroma voća u džemu/pekmezu/voćnom namazu							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz skoro tečan							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz skoro čvrst							
Volim kad se džem/pekmez/voćni namaz lepo maže							
Misljam da je moje zdravstveno stanje odlično							
Smatram da sam u dobroj formi							
Zadovoljan sam svojim izgledom							

POTROŠAČKI TEST - OCENJIVAČKI LIST

Proizvodi od šljive tipa džem/pekmez/voćni namaz

Uputstvo: Molimo Vas da pratite uputstva i da pre izvođenja testa pažljivo pročitate pitanje i odgovorite na osnovu ličnog utiska o doživljenim senzorskim svojstvima uzorka. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da:

- Pažljivo poređajte uzorke ispred sebe, prateći redosled, kao što je označeno prema smernicama testa;
- Pri ocenjivanju proizvoda pravite pauzu između uzoraka, popijte malo vode i odmorite svoja čula;
- Pratite redosled zadatih testova.

Potrošački test I - 1

Ispred Vas, na tacni u PRVOM redu do Vas, nalaze se 2 uzorka želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Pažljivo unesite šifre uzoraka (trocifrene brojeve) sa posuda u odgovarajuća polja u tabeli ispod;
- Probajte uzorke i ocenite koji uzorak Vam se više dopada, stavljanjem oznake „X“ u prostoru ispod prethodno upisanih trocifrenih šifri uzoraka;
- Pri izvođenju ovog testa MORATE se opredeliti za jedan od ponuđenih uzoraka iako se možda ne razlikuju značajno prema Vašoj oceni.

Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica u prvom redu do Vas)		
Više mi se dopada uzorak (staviti oznaku „X“)		

Potrošački test I - 2

Ispred Vas, na tacni u DRUGOM redu do Vas, nalaze se 2 uzorka želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima i vidno se razlikuju po boji. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Pažljivo unesite šifre uzoraka (trocifrene brojeve) sa posuda u odgovarajuća polja u tabeli ispod, u zavisnosti od boje uzorka;
- Probajte uzorke i odgovorite na pitanje da li Vam se svetiji uzorak više dopada u odnosu na tamniji;
- Pri izvođenju ovog testa MORATE se opredeliti za jedan od odgovora, iako Vam se možda dopadaju jednako;
- Napišite zbog čega Vam se uzorak dopada/ne dopada više.

	Svetlij u zorak	Tamniji uzorak
Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica u drugom redu do Vas)		
Da li Vam se svetlij u zorak više dopada u odnosu na tamniji?		
	DA	NE
Zbog čega Vam se ovaj uzorak dopada/ne dopada više?		

Potrošački test I - 3

Ispred Vas, na tacni u TREĆEM redu do Vas, nalaze se 2 uzorka želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Pažljivo unesite šifre uzorka (trocifrene brojeve) sa posuda u polja u tabeli ispod;
- Probajte uzorke i iznesite Vaš stav u pogledu dopadljivosti uzorka stavljanjem oznake „X“ u prostoru ispod ponuđenih odgovora.

Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica u trećem redu do Vas)			Ni jedan	Oba
Više mi se dopada uzorak (staviti oznaku „X“)				

Potrošački test I - 4

Ispred Vas, na tacni nalazi se ukupno 6 želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Ponovo probajte sve uzorke i složite/poređajte ih sa leva na desno po opadajućem redosledu dopadljivosti, počev od uzorka koji Vam je sveukupno najdopadljiviji;
- U tabelu ispod upišite oznaku (trocifreni broj sa posudice) uzorka koji Vam se najviše dopada pod rang 1, sledeći pod rang 2 itd.

Rang	1	2	3	4	5	6
Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica)						

Potrošački test I - 5

Ispred Vas, na tacni nalazi se ukupno 6 želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Pažljivo unesite šifre uzoraka (trocifrene brojeve) sa posuda u tabelu;
- Označite polje oznakom „X“ u koloni ispod prethodno upisane šifre uzorka koja odgovara stepenu dopadljivosti BOJE proizvoda na osnovu Vaše senzacije, odnosno označite stepen dopadljivosti boje koja predstavlja meru u kojoj bi Vas boja uzorka privukla da kupite proizvod. Molimo Vas da odgovorite na sledeće pitanje:

U kojoj meri bi Vas boja privukla da kupite proizvod?
(za svaki od uzoraka obeležite oznakom „X“ odgovarajuće polje)

Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica)						
Izuzetno bi me privukla						
Veoma bi me privukla						
Umereno bi me privukla						
Pomalo bi me privukla						
Niti bi me privukla, niti bi me odbila						
Pomalo bi me odbila						
Umereno bi me odbila						
Veoma bi me odbila						
Izuzetno bi me odbila						

Potrošački test I - 6

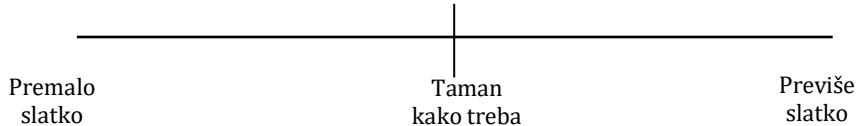
Ispred Vas, na tacni nalazi se ukupno 6 želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

■ Na skalama označite poziciju ponuđenih uzoraka tako što ćete na procenjenoj poziciji svakog od 6 uzoraka povući vertikalnu liniju od oko 1 cm i iznad napisati oznaku (trocifrni broj sa posudice) uzorka;

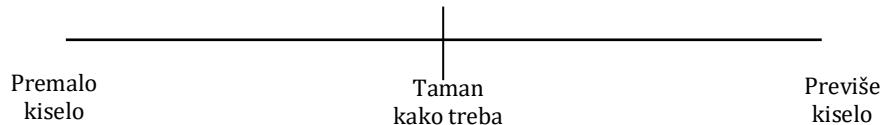
■ Na prvoj skali označite poziciju slatkoće u odnosu na optimalni nivo slatkoće po Vašem ukusu;

■ Na drugoj skali označite poziciju kiselosti u odnosu na optimalni nivo kiselosti po Vašem ukusu.

Označite poziciju koje odgovara intenzitetu **SLATKOĆE** u odnosu na ono što je za Vas optimalno:



Označite poziciju koje odgovara intenzitetu **KISELOSTI** u odnosu na ono što je za Vas optimalno:



Potrošački test I - 7

Ispred Vas na tacni nalazi se ukupno 6 želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/džem. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da pratite sledeća uputstva:

- Pažljivo unesite šifre uzoraka (trocifrene brojeve) sa posuda u tabelu;
- Označite polje oznakom „X“ u koloni ispod prethodno upisane šifre uzorka koja odgovara stepenu dopadljivosti TEKSTURE/KOZISTENCIJE proizvoda na osnovu Vaše senzacije pri konzumiranju proizvoda. Molimo Vas da odgovorite na sledeće pitanje:

U kojoj meri Vam se dopada konzistencija proizvoda?
(za svaki od uzoraka obeležite oznakom „X“ odgovarajuće polje)

Oznaka uzorka (upisati trocifreni broj sa posudica)						
Izuzetno mi se dopada						
Veoma mi se dopada						
Umereno mi se dopada						
Pomalo mi se dopada						
Niti mi se dopada, niti mi se ne dopada						
Pomalo mi se ne dopada						
Umereno mi se ne dopada						
Veoma mi se ne dopada						
Izuzetno mi se ne dopada						

Prilog 2

POTROŠAČKI TEST

Poštovani potrošači, hvala Vam što ste prihvatili učešće u ovom istraživanju.

U okviru istraživanja koje je pred Vama, kroz anketu i senzorsko ispitivanje novokreiranog voćnog proizvoda od šljive koji su razvili istraživači na Naučnom institutu za prehrambene tehnologije želimo da dobijemo podatke o dopadljivosti kreiranog proizvoda u zavisnosti od Vaših preferencija, navika i stavova kada je u pitanju ova grupa proizvoda.

Anketa je anonimna. Prikupljeni rezultati će se koristiti isključivo za potrebe istraživanja.
Procena trajanja: 10 minuta.

Učešćem u anketi i senzorskom ocenjivanju dajete svoju punu saglasnost da se Vaši odgovori mogu koristiti u pomenute svrhe.

POTROŠAČKI TEST - ANKETNI LIST

Molimo Vas da popunite ANKETU:

Vaš pol	Muško		Žensko	
Vaše godine	<30	30-45	45-60	>60
Vaše obrazovanje	Osnovno	Srednje	Visoko	
Da li ste pušač	DA		NE	

	Potpuno NETAČNO	Potpuno TAČNO					
	1	2	3	4	5	6	7
Volim da jedem							
Volim da jedem slatko							
Volim da jedem džem/pekmez/voćni namaz							
Često jedem džem/pekmez/voćni namaz							
Često kupujem džem/pekmez/voćni namaz							
Smatram da se zdravo hranim							
Često kupujem proizvode sa blagotvornim delovanjem na zdravlje ljudi							
Često kupujem proizvode sa smanjenim udelom šećera							
Prilikom kupovine proizvoda sa blagotvornim svojstvima cena utiče na moj izbor							
Vlakna su korisna u ishrani							
Vlakna nedostaju u ishrani savremenog čoveka							
Vlakna nedostaju u mojoj ishrani							
Znam koji su proizvodi značajan izvor vlakana							
Džem/pekmez/voćni namaz su značajni izvori vlakana							
Često kupujem proizvode sa visokim udelom vlakana							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važna mi je boja							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važan mi je ideo voća							
Prilikom odabira džema/pekmeza/voćnog namaza važna mi je vrsta voća od koje je proizveden							
Prilikom kupovine džema/pekmeza/voćnog namaza prednost dajem tradicionalnim proizvodima							
Prilikom kupovine džema/pekmeza/voćnog namaza kupujem i nove proizvode (da probam)							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz jako sladak							
Volim kad je džem/pekmez/voćni namaz nakiseo							
Volim kad se u džemu/pekmezu/voćnom namazu vide komadići voća							
Volim kad se jako oseti aroma voća u džemu/pekmezu/voćnom namazu							
Volim kad je tekstura džema/pekmeza/voćnog namaz skoro tečna							
Volim kad je tekstura džema/pekmeza/voćnog namaz skoro čvrst							
Volim kad se džem/pekmez/voćni namaz lepo maže							

POTROŠAČKI TEST - OCENJIVAČKI LIST

Proizvodi od šljive tipa pekmez/voćni namaz

Uputstvo: Molimo Vas da pratite uputstva i da pre izvodenja testa pažljivo pročitate pitanje i odgovorite na osnovu ličnog utiska o doživljenim senzorskim svojstvima uzorka. U pakovanju se nalazi 3 uzorka želiranih proizvoda od šljiva tipa pekmez/voćni namaz. Uzorci su označeni trocifrenim brojevima. Molimo Vas da:

- Pažljivo poređajte uzorce ispred sebe prateći redosled kao što je označeno u prvoj koloni tabele;
- Probajte uzorce, jedan po jedan;
- Molimo Vas da ne otvarate istovremeno sve posude kako miris ne bi „izvetreо“ do momenta ocenjivanja tog svojstva;
- Pri ocenjivanju proizvoda, pravite pauzu između uzoraka, popijte malo vode i odmorite svoja čula;
- Označite polje ispod tvrdnje (ili između tvrdnji) sa kojom se najviše slažete.

1. Sagledavajući sve osobine/svojstva sva tri proizvoda, koliko Vam se dopada svaki od njih?

oznaka uzorka	Izuzetno mi se NE dopada	Niti mi se dopada niti ne dopada								Izuzetno mi se dopada
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Molimo Vas da ocenite i **POJEDINAČNA SVOJSTVA** proizvoda.

BOJA PROIZVODA

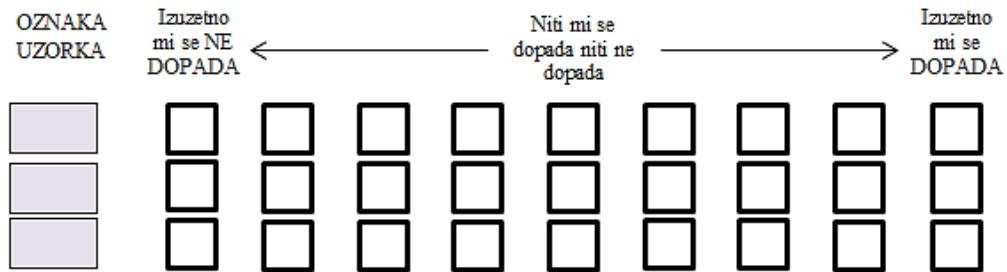
2. Koliko Vam se dopada dopada **BOJA** proizvoda?

oznaka uzorka	Izuzetno mi se NE dopada	Niti mi se dopada niti ne dopada								Izuzetno mi se dopada
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

MIRIS PROIZVODA

- Otvorite posudu sa uzorkom i pomirišite uzorak, zatim zatvorite poklopac i odgovorite na pitanje koje se odnosi na taj uzorak;
- Nakon toga pređite na sledeći uzorak;

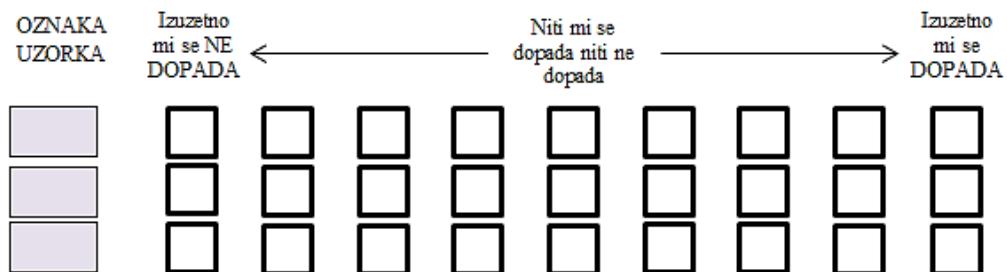
3. Koliko Vam se dopada dopada **MIRIS** proizvoda?



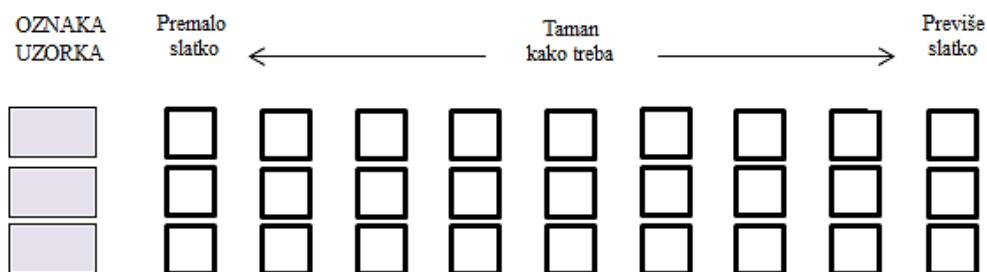
UKUS PROIZVODA

- Ponovo probajte uzorke, jedan po jedan;

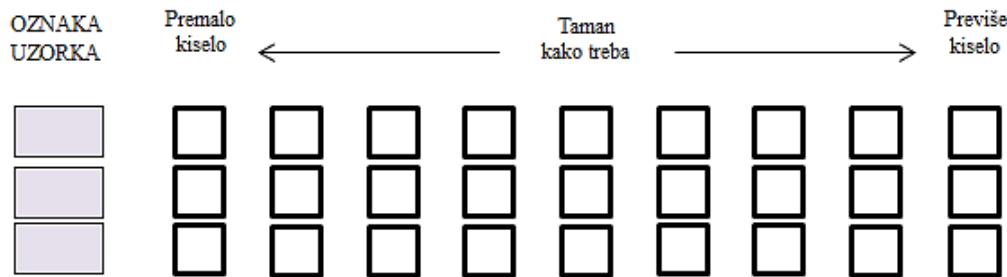
4. Koliko Vam se dopada **UKUS** proizvoda?



4a. Označite polje koje odgovara intenzitetu **SLATKOĆE** u odnosu na ono što je za Vas optimalno:



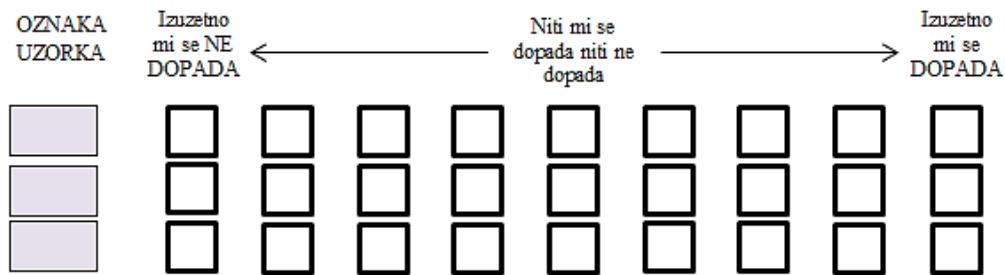
4b. Označite polje koje odgovara intenzitetu **KISELOSTI** u odnosu na ono što je za Vas optimalno:



TEKSTURA/KONZISTENCIJA PROIZVODA

Pod teksturom se podrazumeva osećaj koji se stvara u ustima prilikom konzumiranja hrane, a potiče od strukture same namirnice. Tekstura proizvoda tipa džem/pekmez/voćni namaz mogu podrazumevati svojstva kao što su homogenost, prisustvo komadića voća, čvrstinu, lepljivost za zube, izdvajanje vode, lakoću kojom se maže na hleb i dr.

5. Koliko Vam se dopada **TEKSTURA/KONZISTENCIJA** proizvoda?

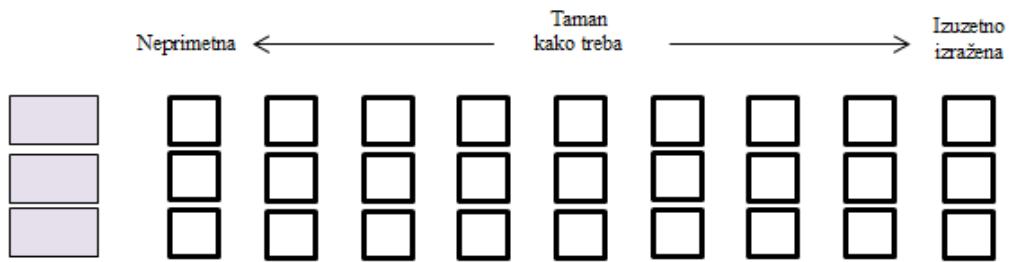


6. Da li osećate peskovitost na nepcu i jeziku pri konzumiraju proizvoda (označiti za uzorke kod kojih ste osetili ovo svojstvo)?

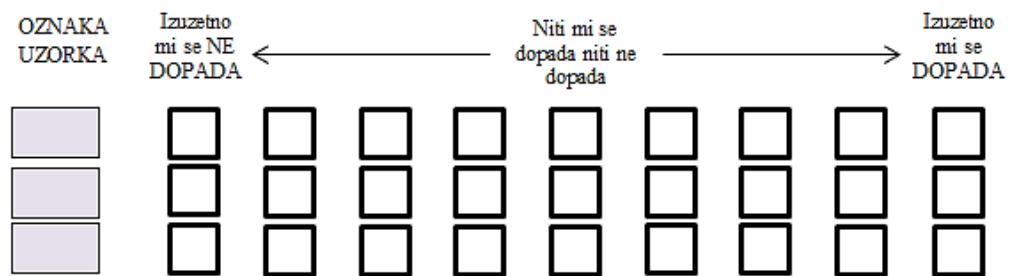
Oznaka uzorka	Da	Ne

Ukoliko je Vaš odgovor „da“, Molimo Vas odgovorite i na sledeća dva pitanja (6a i 6b).

6a. Označite polje koje odgovara intenzitetu **PESKOVITOSTI** za uzorak u odnosu na ono što je za Vas optimalno (označiti za uzorke kod kojih ste osetili ovo svojstvo):



6b. Koliko Vam se dopada **PESKOVITOST** proizvoda (označiti za uzorke kod kojih ste osetili ovo svojstvo)?



7. Da li osećaj peskovitosti za Vas predstavlja negativno svojstvo proizvoda?

Da	Ne

7. Da li bi ovo svojstvo uticalo na Vašu odluku da kupite proizvod?

Da	Ne

8. Peskovitost može poticati od dodate osušenog tropa (pokožice) šljive. Proizvod 862 je bogat vlaknima (preko 6g/100 g proizvoda) i sadrži fenolne antioksidanse sa blagotvornim dejstvom na ljudsko zdravlje dokazanim kroz mnogobrojne studije. Da li bi ovo saznanje doprinelo da se odlučite da kupite proizvod uprkos postojanju takvog tekturnog svojstva?

Da	Ne

Prilog 3**Tabela 34.** Minimalna broj potrošača potreban da se utvrdi značajnost preferencije u forsiranom parnom testu (two-tailed test)(prilagođeno iz Lawless i Heymann, 2010)

N	X	N	X	N	X
20	15	60	39	100	61
21	16	61	39	105	64
22	17	62	40	110	66
23	17	63	40	115	69
24	18	64	41	120	72
25	18	65	41	125	74
26	19	66	42	130	77
27	20	67	43	135	80
28	20	68	43	140	83
29	21	69	44	145	85
30	21	70	44	150	88
31	22	71	45	155	91
32	23	72	45	160	93
33	23	73	46	165	96
34	24	74	46	170	99
35	24	75	47	175	101
36	25	76	48	180	104
37	25	77	48	185	107
38	26	78	49	190	110
39	27	79	49	195	112
40	27	80	50	200	115
41	28	81	50	225	128
42	28	82	51	250	142
43	29	83	51	275	155
44	29	84	52	300	168
45	30	85	53	325	181
46	31	86	53	350	194
47	31	87	54	375	207
48	32	88	54	400	221
49	32	89	55	425	234
50	33	90	55	450	247
51	34	91	56	475	260
52	34	92	56	500	273
53	35	93	57	550	299
54	35	94	57	600	325
55	36	95	58	650	351
56	36	96	59	700	377
57	37	97	59	800	429
58	37	98	60	900	480
59	38	99	60	1000	532

N - ukupan broj potrošača; X - graničan (minimalan) broj potrošača

Tabela 35. Minimalna broj potrošača potreban da se utvrди značajnost preferencije u forsiranom parnom testu u odnosu na zadati proizvod (one-tailed test) (prilagođeno iz Lawless i Heymann, 2010)

N	X	
	p = 0,05	p = 0,01
7	7	7
8	7	8
9	8	9
10	9	10
11	9	10
12	10	11
13	10	12
14	11	12
15	12	13
16	12	14
17	13	14
18	13	15
19	14	15
20	15	16
21	15	17
22	16	17
23	16	18
24	17	19
25	18	19
26	18	20
27	19	20
28	19	21
29	20	22
30	20	22
31	21	23
32	22	24
33	22	24
34	23	25
35	23	25
36	24	26
37	24	26
38	25	27
39	26	28
40	26	28
41	27	29
42	27	29
43	28	30
44	28	31
45	29	31
46	30	32
47	30	32
48	31	33
49	31	34
50	32	34
60	37	40
70	43	46
80	48	51
90	54	57
100	59	63

N - ukupan broj potrošača; X - graničan (minimalan) broj potrošača na zadatom stepenu sigurnosti

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања Развој и оптимизација функционалног производа од шљиве утемељеног на преференцијама потрошача
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
a) Универзитет у Новом Саду, Научни институт за прехрамбене технологије у Новом Саду б) Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом финасирало је Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (МПНТР), кроз пројекат „Створимо богатство из богатства Србије“ (евиденциони пројеката: ИИИ 46001) и кроз финансирање научноистраживачког рада Научног института за прехрамбене технологије (евиденциони број уговора No. 451-03-68/2020-14/200222).
1. Опис података 1.1 Врста студије <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> Докторска дисертација 1.2 Врсте података а) квантитативни б) квалитативни 1.3. Начин прикупљања података а) анкете, упитници, тестови б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи в) генотипови: навести врсту г) административни подаци: навести врсту д) узорци ткива: навести врсту: плод шљиве и егзокарп (покожица) плода шљиве ђ) снимци, фотографије: навести врсту: фотографије уређаја, испитиваних узорака у току рада е) текст, навести врсту: научна литература ж) мапа, навести врсту _____ з) остало: описати: експериментални резултати 1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

a) Excel фајл, датотека .xlsx, .xls _____

b) SPSS фајл, датотека _____

c) PDF фајл, датотека _____

d) Текст фајл, датотека .docx _____

e) JPG фајл, датотека .jpg _____

f) Остало, датотека: статистички софтвер Statistica 10.0; XLSTAT 2023 trail version

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли: **велики број**

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.): **велики број**

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је **између неколико минута и неколико дана**

б) варијабле које се више пута мере односе се **на све експерименталне анализе (текстурне особине, параметре боје, садржај укупних фенола, флавоноида, мономерних антоцијана, антиоксидативну активност итд.)**

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерирање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип: **физичке, хемијске, микробиолошке, сензорске анализе (применом потрошачких тестова)**

б) корелационо истраживање, навести тип: **вештачке неуронске мреже (eng. Artificial Neural Networks, ANN), анализа главних компоненти (eng. Principal Component Analysis, PCA)**

ц) анализа текста, навести тип: **тумачење добијених експерименталних резултата, извођење закључака и поређење са литературним подацима**

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

- **Анализатор текстуре, TA.Xtplus Texture Analyser**

- Колориметар, MINOLTA Chrome Meter CR-400
- Спектрофотометар, UV-Vis (UV-1800)
- HPLC-ELSD Agilent 1200 series систем
- HPLC-DAD Agilent 1200 series систем
- Лабораторијски лиофилизатор, Martin Christ Freeze Dryer, Alpha 2-4 Ldplus
- Индустриски лиофилизатор, модел FD 100
- вакуум укувач производа Compconsult, Ниш, Србија

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података?
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података контролисан применом добре лабораторијске праксе.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса у матрицу извршена је упоређивањем добијених података са литературним подацима.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у НарДуС - Националном репозиторијуму дисертација у Србији и у репозиторијуму Информационог система научне делатности Универзитета у Новом Саду.

3.1.2. URL адреса <https://nardus.mprn.gov.rs/>, <https://www.uns.ac.rs/index.php/univerzitet/javnost-rada/javni-uvid-doktorske>

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембаргра који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? _____

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да **Не**

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да **Не**

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да **Не**

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да **Не**

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да **Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани**
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само у скелу кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Александра Бајић, aleksandra.bajic@fins.uns.ac.rs

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Александра Бајић, aleksandra.bajic@fins.uns.ac.rs

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Александра Бајић, aleksandra.bajic@fins.uns.ac.rs