



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
ПРЕХРАМБЕНО ИНЖЕЊЕРСТВО

АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор:
др Радомир Малбаша, ванр. проф.

Кандидат:
Јасмина Витас, дипл. инж.

Нови Сад, 2013. године

Резултати приказани у овој докторској дисертацији су добијени у оквиру истраживања на пројекту ИИИ 46009 које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Желим да се захвалим свом ментору, проф. др Радомиру Малбаши, на указаном поверењу, уложеном труду, стручним саветима, разговорима и помоћи коју ми је пружио током докторских студија, као и током израде и писања ове докторске дисертације. Велико хвала за увођење у свет науке!

Захваљујем се проф. др Еви Лончар на детаљном читању дисертације, те јасним и корисним саветима који се односе на писање доктората.

Проф. др Спасенији Милановић хвала на критичком читању дисертације и помоћи приликом уобличавања приказа резултата.

Проф. др Јарослави Шварц-Гајић и проф. др Мири Поповић хвала на добронамерним и корисним сугестијама везаним за писани материјал.

Доц. др Јовани Граховац и доц. др Снежани Кравић се захваљујем на помоћи приликом израде дела експеримената и статистичкој обради експерименталних резултата.

Техничким сарадницима, Сузани Анђелковић и Марку Цветићу, хвала на помоћи и пренесеном искуству, који су ми олакшали експериментални рад.

Мојој породици, оцу Сави, мајци Милени и брату Растку, хвала на подршци и помоћи коју су ми пружили, а која ми је увек неопходна.

„Материја је створена из првобитне и вјечне енергије коју знамо као Свјетлост. Засјала је и појавиле су се звијезде, планете, човјек и све што је на Земљи и у Универзуму. Материја је израз бесконачних видова Свјетлости; зато је енергија старија од ње. Постоје четири закона Стварања. Први је да је извор свега у непојамном, црној честици коју ум не може замислити, нити математика измјерити; у ту честицу стане цијели свемир. Други закон је ширење таме, која је права природа Свјетлости, из непојамног и њен преображај у свјетло. Трећи закон је потреба свјетлости да постане материја. Четврти закон гласи: нема почетка ни краја; три претходна закона одувјек трају и стварање је вјечно.”

Никола Тесла

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ**

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број: РБР	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	монографска документација
Тип записа: ТЗ	текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	докторска дисертација
Аутор: АУ	Јасмина Витас
Ментор: МН	др Радомир Малбаша, ванредни професор Технолошког факултета у Новом Саду
Наслов рада: НР	„Антиоксидативна активност ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе“
Језик публикације: ЈП	српски (ћирилица)
Језик извода: ЈИ	српски/енглески
Земља публикавања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	Војводина
Година: ГО	2013.
Издавач: ИЗ	ауторски репринт
Место и адреса: МА	Нови Сад, Булевар цара Лазара 1
Физички опис рада: ФО	број поглавља 7/ страница 117/ слика 41/ табела 19/ референци 117
Научна област: НО	Технолошко инжењерство
Научна дисциплина: НД	Контрола квалитета-Анализа производа природног порекла
Предметна одредница, кључне речи: ПО	комбуха, антиоксидативна активност, ферментисани млечни производи, лековито биље

УДК:	663.88:146.1/3:615.35 (043.3)
Чува се: ЧУ	Библиотека Технолошког факултета у Новом Саду, 21000 Нови Сад, Булевар цара Лазара 1, Србија
Важна напомена: ВН	Нема
Извод: ИЗ	<p>У овој докторској дисертацији, комбуха је култивисана на екстрактима ртањског чаја, нане, коприве и мајчине душице заслађеним са 7% сахарозе. Напици од комбухе добијени на наведеним екстрактима су даље коришћени као инокулуми за ферментацију млека са 0,8; 1,6 и 2,8% млечне масти, на температурама од 37, 40 и 43°C.</p> <p>Истраживање је обухватило праћење антиоксидативне активности различитих ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе, и то утврђивањем способности везивања слободних радикала, како веома реактивних хидрокси-радикала, тако и мање реактивних, стабилних 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) радикала. Урађена је карактеризација млека, инокулума и добијених производа утврђивањем физичко-хемијских карактеристика, а у случају производа и сензорном оценом. За млеко и производе је измерен и садржај масних киселина. Осим тога, одређени су и неки од састојака производа за које се зна да имају антиоксидативно деловање, при чему је акценат стављен на витамин Це, као и полинезасићене масне киселине. Оптимизацијом температуре ферментације, садржаја млечне масти полазног млека, врсте инокулума комбухе, као и релевантних састојака производа, утврђени су оптимални услови за добијање најквалитетнијег ферментисаног млечног производа од комбухе са аспекта антиоксидативне активности.</p>
Датум прихватања теме од стране НН Већа: ДП	12.07.2012.
Датум одбране: ДО	

Чланови комисије: КО председник:	др Ева Лончар, редовни професор Технолошког факултета у Новом Саду
члан (ментор):	др Радомир Малбаша, ванредни професор Технолошког факултета у Новом Саду
члан:	др Спасенија Милановић, редовни професор Технолошког факултета у Новом Саду
члан:	др Мира Поповић, редовни професор Природно-математичког факултета (Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине) у Новом Саду
члан:	др Јарослава Шварц-Гајић, ванредни професор Технолошког факултета у Новом Саду

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF TECHNOLOGY**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	monographic publication
Type of record: TR	textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Jasmina Vitas
Mentor: MN	Radomir Malbaša, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad
Title: TI	“Antioxidant activity of fermented milk products obtained by means of kombucha”
Language of text: LT	Serbian (Cyrillic)
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2013.
Publisher: PU	author’s reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Physical description: PD	chapters 7, pages 117, figures 41, tables 19, references 117
Scientific field: SF	Technological engineering
Scientific discipline: SD	Quality control- analysis of natural products
Subject, Key words: SKW	kombucha, antioxidant activity, fermented milk products, medicinal plants
UC:	663.88:146.1/.3:615.35 (043.3)

Holding data: HD	Library of Faculty of Technology, 21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, Serbia
Note: N	-
Abstract: AB	<p>In this PhD thesis, kombucha was cultivated on winter savory, peppermint, stinging nettle and wild thyme tea extracts, sweetened with 7% of sucrose. The kombucha beverages obtained on these extracts were used as inoculums for the fermentation of milk with 0.8; 1.6 and 2.8% milk fat, at temperatures of 37, 40 and 43°C.</p> <p>The investigation determined the antioxidant activity of different fermented milk products obtained by kombucha. The ability of free radicals (DPPH and hydroxyl) scavenging was established. The physico-chemical characteristics of milk, inoculums and the obtained products were measured. The sensory analysis of the products was also performed. The content of fatty acids in milk and products was determined. The content of some of the product components with the antioxidant characteristics (vitamin C and polyunsaturated fatty acids) was measured. Optimization of process temperature, milk fat content, type of kombucha inoculum, and relevant product components enabled the determination of optimum conditions for the obtaining of kombucha fermented milk products with the best quality, when the antioxidant activity is considered.</p>
Accepted by the Scientific Board on: ASB	12.07.2012.
Defended on: DE	
Thesis Defend Board: DB	
president:	Eva Lončar, PhD, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad
member (menthor):	Radomir Malbaša, PhD, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad
member:	Spasenija Milanović, PhD, full professor, Faculty of Technology, Novi Sad
member:	Mira Popović, PhD, full professor, Faculty of Sciences (Department for Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection), Novi Sad
member:	Jaroslava Švarc-Gajić, PhD, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad

САДРЖАЈ

УВОД	1
2. ОПШТИ ДЕО	3
2.1. СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ	3
2.2. АНТИОКСИДАНТИ	4
2.3. КОМБУХА	10
2.3.1. Микробиолошки састав и култивација комбухе	11
2.3.2. Физиолошко деловање комбухе	12
2.4. АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ТРАДИЦИОНАЛНОГ НАПИТКА ДОБИЈЕНОГ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	13
2.5. ЛЕКОВИТО БИЉЕ	18
2.5.1. Ртањски чај.....	18
2.5.2. Нана.....	19
2.5.3. Коприва.....	21
2.5.4. Мајчина душица.....	22
2.6. ФЕРМЕНТИСАНИ МЛЕЧНИ ПРОИЗВОДИ	23
2.6.1. Стартер културе	25
2.6.2. Јогурт	26
2.6.2.1. Нутритивна вредност јогурта.....	28
2.6.2.2. Функционалне карактеристике јогурта.....	29
2.6.3. Кефир	31
2.6.3.1. Нутритивна вредност кефира.....	34
2.6.3.2. Функционалне карактеристике кефира.....	35
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	36
3.1. МЛЕКО	36
3.2. ИНОКУЛУМ КОМБУХЕ	36
3.3. ПРОИЗВОДЊА ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА	37
3.4. АНАЛИЗА ИНОКУЛУМА КОМБУХЕ	38
3.5. АНАЛИЗА МЛЕКА И ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА	39
3.6. ОБРАДА РЕЗУЛТАТА АНАЛИЗЕ	40
3.7. ОПТИМИЗАЦИЈА АНТИОКСИДАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	41
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	42
4.1. КАРАКТЕРИСТИКЕ МЛЕКА	42
4.2. КАРАКТЕРИСТИКЕ ИНОКУЛУМА КОМБУХЕ	42

4.3. ПРОМЕНЕ ВРЕДНОСТИ pH ТОКОМ ФЕРМЕНТАЦИЈЕ МЛЕКА	44
4.4. ФИЗИЧКО-ХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ХЕМИЈСКИ САСТАВ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	50
4.5. ФИЗИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	56
4.6. СЕНЗОРНА ОЦЕНА ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	59
4.7. МАСНЕ КИСЕЛИНЕ МЛЕКА И ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	62
4.7.1. Садржај масних киселина млека	63
4.7.2. Садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе	65
4.7.3. Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе	71
4.8. АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ	77
4.8.1. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају	82
4.8.2. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане	86
4.8.3. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве	91
4.8.4. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице	96
4.8.5. Оптимизација процесних променљивих	100
5. ЗАКЉУЧАК	105
6. ЛИТЕРАТУРА	107
7. БИОГРАФИЈА	117

УВОД

Трендови у производњи хране су такви да осим што се њеним конзумирањем уносе нутријенти у организам, она обезбеђује и позитивне здравствене ефекте. Популарност ферментисаних млечних производа расте не само због њиховог привлачног укуса, него и због многих утврђених здравствених предности. Неспорно је да разноврсан хемијски састав ових производа, неким од њих даје антиоксидативну активност. Хронична обољења која су повезана са стресом су у порасту, а конзумирање одговарајућих облика антиоксиданата је важно за спречавање даљих дегенеративних ефеката ових болести.

Комбуха или чајна гљива је позната широм света као гљива за дуговечност, руска, кинеска, јапанска или индијска чајна гљива. Назив комбуха је са далеког истока, а датира из 400. године пре нове ере. Комбуха је асоцијација више врста квасаца и бактерија сирћетне киселине, способна да метаболише на различитим супстратима. Осим традиционалних подлога за раст комбухе, као што су црни и зелени чај заслађени сахарозом, она ферментисе и на кока-коли, пиву, кафи, екстракту топинамбура, меласи, а такође и на биљним екстрактима. Бројна позитивна својства напитка од комбухе су везана за њену традиционалну примену. Нова истраживања доносе медицинске доказе о позитивним физиолошким дејствима комбухе. Ртањски чај, нана, коприва и мајчина душица спадају у добро познате биљке, чији екстракти показују многа позитивна физиолошка дејства на људски организам. Експерименти су показали да се комбуха успешно култивисе и на заслађеним екстрактима ових лековитих биљака. Претходна истраживања су утврдила да ферментацијом комбухе на млеку настаје производ, који је према својим физичко-хемијским и сензорним карактеристикама најсличнији кефиру и јогурту.

У овом истраживању је комбуха култивисана на екстрактима ртањског чаја, нане, коприве и мајчине душице заслађеним са 7% сахарозе. Напици од комбухе добијени на наведеним екстрактима су даље коришћени као инокулуми за ферментацију млека са 0,8; 1,6 и 2,8% млечне масти, на температурама од 37, 40 и 43°C.

Узимајући у обзир штетност деловања слободних радикала и значај антиоксиданата, циљ ове дисертације је био истраживање антиоксидативне активности различитих ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе, и то првенствено праћењем способности везивања слободних радикала, како веома реактивних хидрокси-радикала, тако и мање реактивних, стабилних 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) радикала. Осим тога, одређени су и неки од састојака производа за које се зна да имају

антиоксидативно деловање, при чему је акценат стављен на витамин Це, као и полинезасићене масне киселине. Оптимизацијом температуре ферментације, садржаја млечне масти полазног млека, врсте инокулума комбухе, као и релевантних састојака производа, утврђени су оптимални услови за добијање најквалитетнијег ферментисаног млечног производа од комбухе са аспекта антиоксидативне активности.

2. ОПШТИ ДЕО

2.1. СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ

Слободни радикал је сваки атом или молекул, способан да независно постоји, који поседује један или више неспарених електрона (електрони самостално заузимају атомску или молекулску орбиталу) (1). Слободни радикали су способни да реагују са сваком молекулом са којим дођу у контакт. Једном када се радикали формирају они или реагују са другим радикалом или са неким другим молекулом, различитим интеракцијама. Ако се сретну два радикала, они могу комбиновати свој неспарени електрон формирајући ковалентну везу. Међутим, већина молекула која се налази *in vivo* нема радикалски карактер. У овом случају радикал може донирати свој неспарени електрон другом молекулу, или му може узети један електрон, чиме мења свој радикалски карактер. У исто време формиран је нови радикал. Један радикал ствара други радикал што води ка ланчаној реакцији (2).

Слободни радикали су и есенцијални и штетни за аеробне ћелије (2).

У биолошкој средини слободни радикали се продукују у малим количинама током основних биохемијских процеса у ћелији: процес оксидативне фосфорилације у митохондријама, процес оксидативне хидроксилације у микрозомима, процес аутооксидације различитих малих молекула, производи каталитичке реакције неких ензима, процес липидне пероксидације незасићених масних киселина, те реакције оксидо-редукције у присуству метала са променљивом валенцом. Реакције у којима учествују слободни радикали су саставни део свих животних процеса. Стварање радикала може бити веома корисно, нпр. у процесу фагоцитозе (3).

Термин „реактивне кисеоникове врсте“ (енгл. reactive oxygen species, ROS) се односи на низ метаболита изведених из молекула кисеоника (O_2). Реактивне кисеоникове врсте, као што су супероксид анион радикал ($O_2^{\cdot-}$), водоник пероксид (H_2O_2), хидрокси радикал ($\cdot OH$), азот(I)-оксид (NO), пероксинитрит ($OONO^{\cdot}$), синглетни кисеоник (1O_2) и липидни пероксиди (LOOH), све више изазивају различите болести људи (2, 4). Они лако могу произвести слободне радикале и/или изазвати оксидативно оштећење. Такође, постоје и реактивни азот, хлор, гвожђе, бакар и сумпор. Заједнички назив за све њих је реактивне врсте (енгл. reactive species, RS). Свака врста поседује сопствени тип хемијске реактивности (1).

ROS, као изразито реактивни интермедијери доводе до оксидативног оштећења ћелија и ткива. Сваки тип молекула може бити оштећен овим

процесом. Токсични ефекти су присутни увек у неадекватној равнотежи стварања и уклањања ових продуката (3). Слободни радикали реагују са биомолекулима и узрокују повреду ћелија, те њихову смрт. За њих се сматра да су главни узрок кварења и ужеглости хране, нарочито оне богате полинезасићеним мастима (5).

Резултати бројних истраживања су показали да слободни радикали имају значајну улогу у хуманој патологији. У бројним патолошким условима слободни радикали се могу интензивније стварати, што за последицу има настанак оксидативног стреса и оштећење ткива. У стањима са повећаном производњом кисеоникових и других радикала (хипоксија, хипероксија, јонизујуће зрачење), или смањеним уклањањем радикала (снижена концентрација глутатиона у ћелији, мутације супероксид дисмутазе), слободни радикали могу изазвати велике патофизиолошке промене. Ефекти слободних радикала су разорни, јер ланчана реакција омогућава да један слободни радикал изазове промене на хиљадама молекула и оштети ДНК, РНК, ензиме и липидне компоненте биомембрана, пре него што буде инактивиран. Слободни радикали ступају у реакцију липидне пероксидације при чему се везују за полинезасићене масне киселине фосфолипида ћелијске мембране, што води у макро и микрооштећење ткива (3). Оксидативни стрес је озбиљна неравнотежа између стварања ROS и антиоксидативне заштите, која иде у правцу стварања ROS, и изазива прекомерно оксидативно оштећење (1). Оксидативни стрес, тј. слободни радикали, имају значајну улогу у патогенези преко сто обољења, почев од улкуса изазваног стресом, преко реуматоидног артритиса, канцера, артериосклерозе, маларије, хеморагичног шока, стечене имунодефицијенције, па до неуродегенеративних болести и процеса старења.

2.2. АНТИОКСИДАНТИ

Антиоксидант је молекул који штити биолошку мету од оксидативног оштећења (1). Слободни радикали су веома реактивни, па су аеробни организми развили снажан ензимски и неензимски антиоксидативни заштитни систем за спречавање стварања и хватање слободних радикала. Експерименталне *in vitro* и *in vivo* студије, као и епидемиолошке студије, указују на обрнуту корелацију између озбиљности болести индукованих оксидативним стресом и нивоа антиоксиданата, указујући на вероватноћу да антиоксидативни статус може бити битан за људски организам (2).

Одбрана од оксидативног стреса, код људи, се састоји од ензимских антиоксиданата и антиоксидативних витамина. Ензимски антиоксиданти укључују супероксид дисмутазу, глутатион пероксидазу и каталазу, док не-

ензимски антиоксиданти укључују витамине Е и Це, каротеноиде, полифеноле и микронутријенте (селен, бакар и цинк) као саставне компоненте металопротеин ензима (6).

Постоји велики број природних и синтетских антиоксиданата. Природни антиоксиданти обухватају мале антиоксидативне молекуле (нпр. витамини), као што је α -токоферол, аскорбинска киселина, каротеноиди, коензим Q, мокраћна киселина, витамин А, мелатонин и аминокиселине, а од физиолошког и/или фармаколошког значаја су и полифеноли, који се налазе у биљним антиоксидантима и α -липоична киселина. Синтетски антиоксиданти обухватају, између осталог, деривате природних антиоксиданата (нпр. аналози α -токоферола) и фенолне антиоксиданте (2). Најчешће коришћени антиоксиданти су бутиловани хидроксианизол (енгл. *butylated hydroxyanisole*, ВНА), бутиловани хидрокситолуен (енгл. *butylated hydroxytoluene*, ВНТ), пропил галат (енгл. *propyl gallate*, РG) и *tert*-бутилхидрохинон (енгл. *tert-butylhydroquinone*, ТВНQ). Међутим, за њих се сумња да су одговорни за оштећење јетре и карциногенезу лабораторијских животиња. С тога су пожељни развој и употреба ефективнијих антиоксиданата природног порекла (7).

Организам се бори против слободних радикала многим механизмима, међу којима су спречавање иницирања ланчане реакције, везивање јона прелазног метала који има улогу катализатора, распад пероксида, спречавање континуираног одузимања водоника, редукциони капацитет и хватање радикала (7). Дејство антиоксидативних ензима је допуњено малим молекулима антиоксиданата, од којих неки искључиво долазе путем исхране (нпр. витамини). Ови мали молекули антиоксиданата су присутни екстрацелуларно и интрацелуларно, и укључују аскорбинску киселину, глутатион и токофероле. Интрацелуларне концентрације ових једињења могу бити знатне, тј. у милимоларном опсегу, и за аскорбат и за глутатион (8).

Антиоксидативни додаци исхрани или храна богата антиоксидантима могу се користити да помогну људском организму у смањивању оксидативног оштећења изазваног од стране слободних радикала и активног кисеоника (7).

Клинички експерименти у којима су коришћени „нутритивни“ антиоксиданти из хране, као што су витамини Це и Е, дали су резултате који нису показали корелацију између садржаја ових витамина и антиоксидативне активности. Постоје два могућа објашњења за ову појаву. Једно је да остале непознате компоненте, пре него ови добро познати „нутритивни“ антиоксиданти, такође делују као антиоксиданти у храни и њихова активност *in vivo* може бити јача од антиоксидативне активности наведених витамина. Поред тога, пошто постоје стотине антиоксидативних једињења у већини прехранбених производа, укупни антиоксидативни капацитет дате хране може бити интегрисано дејство различитих једињења уместо капацитета сваког

појединачног једињења. У циљу тачне процене укупног антиоксидативног капацитета хране и њених ефеката на унапређење здравља, мора се у обзир узети могућа интеракција компонената у њиховом доприносу антиоксидативној активности (9).

Храна са антиоксидативним својствима и састојцима је важна компонента прехранбене индустрије. У прошлости, антиоксиданти су првенствено коришћени у контроли оксидације и успоравању кварења, али данас се многи од њих користе због наводних здравствених погодности (10).

Интензивно су изучаване различите фитохемикалије и њихови ефекти на здравље, нарочито сузбијање деловања активног кисеоника природним антиоксидантима из чајева, зачина и биља. Биљке из фамилије *Lamiaceae* су широко проучаване као природни извори антиоксиданата због свог високог садржаја полифенола (11).

Заштита коју воће и поврће обезбеђује у борби са неколико болести је приписана различитим антиоксидантима: витамину Це, витамину Е, α -токоферолу, β -каротену и полифенолним једињењима. Неколико студија је показало да фенолна једињења редукују *in vitro* оксидацију липопротеина мале густине и то нарочито феноли са вишеструким хидроксилним групама који су генерално најефикаснији у превенцији оксидације липида и липопротеина мале густине, и тиме, последично, атерогенезе. Установљено је обнављање α -токоферола у људским липопротеинима мале густине у присуству катехина чаја, које зависи од примењене дозе, иако инхибиција оксидације липопротеина мале густине није редуковала артериосклеротичне лезије. Описана су и друга физиолошка дејства природних антиоксиданата, као што су антибактеријско, антивирусно, антимулагено, антиалергијско и антиканцерогено дејство, активност усмерена на спречавање настанка метастаза, инхибиција агрегације тромбоцита, инхибиција пораста крвног притиска, активност усмерена ка спречавању настанка улцера и антикариогеност. Указано је на употребу антиоксиданата као хемопревентивних агенаса, када инхибирају стварање слободних радикала, пошто су слободни радикали одговорни за оштећење ДНК, те је изведен закључак да су хватачи радикала вероватно важни у превенцији канцера. Друге студије су известиле о антимикуробним особинама полифенолних екстраката *Sempervivum tectorum* (чуваркућа), коре кромпира, ванилина и течног дима. *In vivo* антиоксидативни тестови са полифенолима црвеног вина, показали су да ова једињења могу имати ко-антиоксидативну улогу, сличну оној описаној за витамин Це и слабије изражену улогу према витамину Е, који се повећава услед суплементације фенолима. Међутим, прооксидативно дејство фенола је такође утврђено. Потребна су даља истраживања да би се установила активност, биорасположивост и друга *in vivo* дејства природних антиоксиданата (12).

Многи антиоксиданти, уз витамин Це, витамин Е и каротеноиде, појављују се као конституенти исхране. Објављени су радови о јаким антиоксидативним једињењима пронађеним у воћу. На пример, пронађени су антиоксиданти са израженом активношћу у бобицама, трешњама, цитрусима, кивију, сувим шљивама и маслинама. Антиоксиданти високе активности су пронађени у маслиновом уљу и воћним соковима (13). Свеобухватна истраживања су показала улогу фенолних једињења у оксидативном процесу воћа. Ефекти прераде и складиштења су процењени према променама и садржају полифенола у јагоди, шљиви, маслиновом уљу, соку од грожђа, луку, пасуљу и грашку (14).

Неколико студија је анализирано антиоксидативни потенцијал различитог поврћа, а нарочито зрна какаоа, кромпира, парадајза, спанаћа, паприке или махунарки, као што је *Phaseolus vulgaris* (пасуљ). Истражена је антиоксидативна активност природних екстраката и комерцијалних производа белог лука и ђумбира, рузмарина, дијететских суплемената, арома дима које садрже димере лигнина, као и појединих пића. Такође су истраживани антиоксиданти биљака приобалне области и морских трава (12).

Вино садржи разноврсна полифенолна једињења, при чему су најзаступљенији антоцијани. Утврђена је антиоксидативна активност за виски, саке, шпанско вино из Кадиза (Jerez-Sherries) и шпанско пенушаво вино (cavas) (12).

Антиоксидативне особине зеленог и црног чаја су обимно истраживане, пошто они могу да садрже до 30% фенолних једињења у сувој материји. Роибос чај је такође истраживан. Експерименти су утврдили корелацију антиоксидативне активности са садржајем укупних фенола чаја и доказана је виша активност за зелени чај него за улонг или црни чај. Идентификоване су главне компоненте: (-)епигалокатехин 3-галат, (-)епигалокатехин, (-)епикатехин 3-галат, (-)епикатехин, (+)галокатехин и (+)катехин (12).

Неки од активних принципа неких медицинских производа су полифенолна једињења. Тако, флавоноли поседују антимуутагену активност, флаванони и ксантони поседују антивирусну, антимикробну и антиинфламаторну активност, а изофлавоноли и куместани који имају важно физиолошко дејство у људском организму, поседују антиоксидативну активност. Бројне студије изучавају антиоксидативну активност екстраката биља, лековитог биља и зачина. Проучавана је антиоксидативна активност компонентата жалфије. Такође, антиоксиданти су и ђумбир, зачини добијени из гљива (род *Ganoderma*), јасенак, зелени бибер, *Visnea mocanera* (биљка која припада породици чајева), *Chrysanthemum* (хризантема), те биљка која се сматра „полубратом“ роибос чаја (Honeybush). Одабир клоналних линија са високим садржајем полифенола је проучаван за лаванду. Бројне студије су фокусиране на

састав рузмарина услед његовог потенцијалног антиоксидативног дејства када се примени на накнадну оксидацију уља или на смањење губитка боје каротеноида. Објашњење антиоксидативног механизма његових компонената је такође урађено (12).

Процењена су и антиоксидативна једињења дрвећа (15). Међу различитим деловима биљака, лишће заслужује посебну пажњу; на пример, лишће зеленог јечма, *Pelargonium sp.* (мушкатла), *Thalictrum flavum*, *Nerium oleander* (олеандер), неколико врста врба, дуд или авокадо. Корење, прекрупа хељде, плута *Quercus suber* (храст), кора *Fraxinus ornus* (црни јасен) и клице манг пасуља такође садрже антиоксиданте (16).

Извор антиоксиданата су и семена: индијске урме (тамаринда), репице (каноле), сусама, јагорчевине, лана, лупинуса, хељде, сунцокрета, *Rosa rubiginosa* (врста руже) и *Gevuina avellana* (чилеанска леска). Антиоксидативна активност је установљена и за житарице, за кукурузно језгро (12).

Такође, и љуске садрже једињења са антиоксидативном активношћу. Активна једињења су детектована у љускама кикирикија, манг пасуља и хељде. Током екстракције уља из уљаних семенки, антиоксидативна једињења присутна у љускама могу бити инкорпорирана у уље, као што је случај са уљем кикирикија екстрахованим из обложених семенки, које је поседовало вишу оксидативну стабилност него уље из ољуштених семенки. Фракција мекиња поседује вишу антиоксидативну активност од осталих фракција, као што је случај са тврдом (дурум) пшеницом или са опном семена индијске урме (тамаринда), са јаком инхибирајућом активношћу према оксидацији, при чему активност у клици није установљена. Такође, у опни семена црвеног и црног пасуља *Phaseolus vulgaris*, прооксидативна једињења су пронађена у клици, али не и у љускама. Установљена је виша инхибиција гвожђем убрзане оксидације фосфатидилхолин липозома за антиоксиданте растворне у води из пшенице са великим садржајем мекиња, него за рафинисану пшеницу. Спољашњи слојеви уобичајено садрже већу количину полифенолних једињења, што је и за очекивати, пошто код биљака имају заштитну улогу (12).

Споредни производи прехранбене индустрије су интересантан извор природних антиоксиданата. Кора кромпира, комина маслине, отпадне воде фабрика у којима се прерађује маслина, семена грожђа и кора иситњеног меснатог дела грожђа су проучавани као јефтине извори антиоксиданата. Установљена је повећана антиоксидативна активност у плазми пацова након оралне примене екстракта семена грожђа. Идентификована су полифенолна једињења иситњеног меснатог дела јабуке и грожђа, коре и семена цитруса, каше шаргарепе, листова старог чаја, споредних производа какаоа, неиспарљивог остатка есенцијалног уља поморанце и сојине меласе. Уље млевене кафе које се добија при производњи инстант кафе је коришћено да би

се добио антиоксидативни производ користан за чување хране и стабилизацију ароме, при чему је антиоксидативна активност последица 5-хидрокситриптаמיד карбоксилних киселина (10-75% суве материје производа) (12).

Истраживања су показала да је споредни производ при преради парадајза потенцијални извор хидрофилних антиоксиданата (17). Студије указују да се екстракти иситњеног меснатог дела цвекле могу сматрати добрим извором природних једињења, нарочито фенолних киселина и бетацијанина, са значајном антиоксидативном активношћу, која може бити приписана високом проценту главних конституената или синергији међу овим компонентама (18).

Оскудна литература је везана за студије са споредним производима неког другог порекла, сем оних биљног, као што је на пример отпад љуске рачића. Друга једињења, као што је дипептид карнозин (β -аланил-L-хистидин), су показала антиоксидативни потенцијал. Протеини, хидролизати протеина, растворни пептиди еластина, протеини растворни у води и β -лактоглобулин третиран притиском су такође антиоксидативни агенси. Есенцијална уља, коњуговане линоленске киселине и фосфолипиди поседују антиоксидативну активност. β -каротен палминог уља и капсаицин, одговоран за опорно дејство љутих (енгл. hot chilli) паприка, су антиоксиданти. Производи Мајлардове реакције су такође антиоксидативни агенси. Добијање природних производа са антиоксидативном активношћу из семена, зрна и/или клица је такође могуће. Неки микроорганизми могу да производе антиоксиданте (12).

Неколико студија се бави антиоксидативном активношћу везаних фенолних једињења, везаних за лигнин или арабиноксилане. Њихова антиоксидативна активност у јечму и сладу је два пута већа од оне коју поседују слободна фенолна једињења. Међутим, поједине студије су установиле да антиоксидативна активност коре цитруса и екстраката семена није директно везана за слободна или везана фенолна једињења (12).

Моћно дејство антиоксиданата у спречавању превремене липидне оксидације хране указује да иста једињења, када се конзумирају у дневној исхрани, могу открити антиоксидативне ефекте у људском организму, који успоравају старење. С тога, претпостављено је да су антиоксиданти корисни у превенцији различитих болести. Детаљније хемијско и физиолошко истраживање антиоксиданата показује, међутим, да екстраполација *in vitro* података у *in vivo* понашање може да доведе до заблуде. Уистину, таква процедура не узима у обзир неусклађеност између већине *in vitro* модела (на пример, ћелијске културе) и *in vivo* система. На пример, физиолошки значај прооксидативне и осталих физиолошких активности антиоксиданата су у великој мери потцењене. Заправо, супротно антиоксидативној хипотези, клиничке студије које истражују здравствене погодности антиоксиданата који се уносе исхраном су указале на више помешане или негативне резултате. Многе

клиничке студије нису узеле у обзир кинетичку и динамичку природу антиоксиданата који се уносе храном. Даље, оксидативни стрес је не само неизбежан догађај у здравој људској ћелији, већ је и одговоран за функционисање виталних метаболичких процеса, као што је иницијација лучења инсулина и производња еритропоетина (хормон који регулише производњу црвених крвних зрнаца). У светлу скорашњих физиолошких студија чини се препоручљивијим одржавање деликатне редокс равнотеже ћелија него ометање антиоксидативне хомеостазе нефизиолошким, прекомерним егзогеним уносом антиоксиданата код здравих људи (1, 10, 19).

Изузетно је важно да прехранбена индустрија буде свесна напретка у овом пољу, те да наука представи прехранбеној индустрији све закључке до којих је дошла, на отворен и јасан начин (10).

2.3. КОМБУХА

Комбуха (напитак од комбухе) је традиционално освежавајуће пиће и помоћно лековито средство. Припрема се, углавном, у кућној радиности ферментацијом заслађеног црног или зеленог чаја, користећи симбиотску асоцијацију квасаца и бактерија сирћетне киселине. Производња овог напитка је заступљена и на индустријском нивоу, што за последицу има појаву различитих комерцијалних производа од комбухе. Као производ ферментације добија се напиток који је слаткаст, накисео и благо газиран. Његова конзумација је заступљена широм света, али највише у Народној Републици Кини, Јапану, Русији, Немачкој, Аустрији, Аустралији и Сједињеним Америчким Државама (САД). Напитку се приписује низ позитивних здравствених ефеката, који, међутим, нису довољно клинички испитани.

Комбуха се по први пут у историјским списима помиње у периоду око 400 године п.н.е., када је њоме корејски лекар Комбу лечио стомачне тегобе јапанског цара, а такође и у списима из 220. године п.н.е., када ју је конзумирао кинески император, као лек за бесмртност, за време владавине династије Тсин. Трговачким путевима доспела је до Русије, Источне и Западне Европе, као и Северне Африке.

Позната је под низом различитих назива, при чему су код нас најраспрострањенији комбуха или чајна гљива (20).

2.3.1. Микробиолошки састав и култивација комбухе

Комбуха је асоцијација неколико квасаца (родови *Schizosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Kloeckera*, *Brettanomyces* и *Torulopsis*) и бактерија сирћетне киселине (*Gluconacetobacter xylinus* (ранији назив *Acetobacter xylinum*), *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*) (21-23). Микробиолошки састав зависи од географског порекла кутуре, односно утицаја дивљих сојева (20).

Уобичајени супстрат за култивацију комбухе је црни или зелени чај (лат. *Camelia sinensis*) заслађен сахарозом, односно белим шећером. Чај за микроорганизме комбухе представља извор азота и минералних материја, док сахароза представља извор угљеника.

Култивација комбухе се одвија на собној температури у аеробним условима, а инокулација супстрата се изводи влажном или сувом желатинозном опном или ферментативном течношћу из претходне ферментације.

Током ферментације, на површини култивационе течности комбуха ствара, претходно поменуто, бело-браонкасту целулозну желатинозну опну-навлаку, коју на површини одржавају мехурићи CO₂, углавном насталог разградњом шећера у присуству квасаца (слика 1). На температури од 20-30°C она се континуирано умножава. На почетку се шири преко целе површине чаја, а затим задебљава (24). Трајање ферментације приликом припреме напитка од комбухе на црном чају обично је између 7 и 10 дана, док се продуженом култивацијом добија производ сличан јабуковом и винском сирћету. Састав овог напитка чине шећери (слободна глукоза, фруктоза и сахароза), органске киселине (сирћетна, глукуронска, глуконска, L-млечна), етанол, 14 аминокиселина, витамини растворни у води, витамин Е у траговима, минерали, антимицробне супстанце и неки хидролитички ензими (21, 25-27).



Слика 1: Култивација комбухе

Комбуха се може култивисати и на другим супстратима, као што су пиво, кока-кола, кафа, лактоза, глукоза, фруктоза, црно вино, бело вино, алкохолно сирће, винско сирће, екстракт топинамбура, меласа, млеко, ртањски чај, ехинацеа, мента, али су се као најбољи показали заслађени црни и зелени чај. Новија истраживања указују да се комбуха може успешно култивисати на сурутки сира (28) и млеку (29-32), при чему се добијају ферментисани млечни напици.

2.3.2. Физиолошко деловање комбухе

Својства напитка од комбухе су се увек везивала за традиционалну примену и тврдње самих корисника. Тек у последње време јављају се докази о погодностима примене овог напитка, који су резултат научних истраживања.

Постоје бројни радови који указују на лековита својства напитка од комбухе. Најранија систематизација ових података датира из 1914. године (33). Сматра се да напитање од комбухе помаже код бројних здравствених тегоба, као што су: главобоља, хемороиди, атеросклероза, артритис, метаболички поремећаји, дијабетес, несаница, стрес, гојазност, губитак косе, старење, хипертензија, псоријаза, микробиолошке инфекције, ослабљен имунолошки систем, канцер и други. Постоји мали број научних студија које потврђују наведена лековита својства комбухе, а изведене су у Русији, Швајцарској, Немачкој и Холандији (21).

Комбуха може да буде корисна у смањењу нивоа шећера у крви и унапређењу компликација дијабетеса (34).

У поређењу са црним чајем, комбуха има већи потенцијал у превенцији акутне хепато-токсичности изазване афлатоксином Б₁, код албино пацова. Могуће је да механизам заштите јетре, обезбеђен применом комбухе, укључује олакшавање антиоксидативних и детоксификујућих процеса у јетри. Овај ефекат се приписује вишим концентрацијама глукуронске киселине и биотрансформисаних производа насталих током ферментације (35). Утврђено је да комбуха преиначује оксидативним стресом узроковану апоптозу у хепатоцитима лабораторијских мишева, вероватно услед своје антиоксидативне активности и функционисањем путевима зависним од митохондрија, те може бити погодна у случајевима болести јетре, за које се зна да оксидативни стрес игра кључну улогу (24). Такође, комбуха има потенцијал да побољша *tert*-бутил хидропероксидом (енгл. *tert*-butyl hydroperoxide, ТВНР) узроковано оксидативно оштећење и смрт ћелија у хепатоцитима лабораторијских мишева, ефикасније од самог црног чаја (36). Комбуха смањује цитотоксичност код албино мишева узроковану фенолом и њена заштитна улога зависи од примењене дозе (37).

Комбуха има потенцијал за антиоксидативну активност (38-40), као и активност за побољшање стања имуног система, што је закључено на основу експеримената спроведених на албино пацовима, код којих је оксидативни стрес био узрокован применом Cr^{6+} (41).

У великој мери је потврђено антимикумно дејство комбухе. Антимикумна активност је утврђена према следећим бактеријама: *Staphylococcus aureus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis* и *Listeria monocytogenes* (25, 42-45). Комбуха култивисана на екстрактима *Lippia citriodora* и *Foeniculum vulgare* показује значајну антимикумну активност према неким патогеним бактеријама и великом броју клиничких *Candida* врста (46).

На основу биохемијских карактеристика комбухе култивисане на црном чају, њена осушена целулозна опна може да се користи у формулацијама за производњу хране за животиње. Такође, може да се користи као биосорбент и материјал за паковање хране (47). Целулозна опна комбухе, која се током ферментације ствара, а не користи се у новој ферментацији, већ одбацује, може да се користи као састојак у исхрани пилића који се узгајају ради производње меса (48). Највећи принос бактеријске целулозне опне је постигнут са 9% сахарозе (49).

Постоје радови који указују на токсичност традиционалних производа ферментације комбухе на црном чају заслађеном сахарозом, али се они односе на изоловане случајеве, који укључују веома мали број особа (две до четири). Токсичност добијених производа је углавном била везана за неодговарајући начин припреме комбухе (41).

2.4. АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ТРАДИЦИОНАЛНОГ НАПИТКА ДОБИЈЕНОГ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

Традиционални напитац добијен помоћу комбухе је производ ферментације комбухе на црном или зеленом чају заслађеном сахарозом.

Први резултати истраживања антиоксидативне активности напитка добијеног помоћу комбухе обухватили су праћење способности трансформације и стабилизације слободних радикала (50). Закључено је да узроци антиоксидативне активности традиционалног напитка добијеног помоћу комбухе могу бити двојаки. Један узрок је утицај флавоноидних

антиоксиданата, који потичу из црног и зеленог чаја, а припадају полифенолним компонентама. У највећој мери, у црном чају, заступљени су теафлавин и теарубигин, а у зеленом катехини: (-)-епикатехин, (-)-епикатехин-3-галат, (-)-епигалокатехин и (-)-епигалокатехин-3-галат (51). Други узрок антиоксидативне активности напитка добијеног помоћу комбухе је синтеза метаболита, који имају антиоксидативна својства, када су самостални, или када су део неког система. Најважнији метаболити ферментације комбухе су витамин Це, витамини Б₂ и Б₆, пурины и пиримидини, каталаза и неке органске киселине.

Црни и зелени чај поседују антиоксидативну активност. Истражена је и потенцијално виша антиоксидативна активност напитака добијених помоћу комбухе у односу на црни, односно зелени чај, као слепе пробе (39-40).

Истраживана је способност хватања слободних радикала напитка добијеног помоћу комбухе праћењем дејства на хидрокси и DPPH радикале, супероксид радикал и анти-липидну пероксидацију, током ферментационог периода од 18 дана. На овај начин је утврђена веза између времена ферментације и антиоксидативне активности комбухе. Истраживање је обухватило и мерење вредности рН, као и одређивање укупних фенолних једињења. Испитивани напици од комбухе су добијени култивацијом комбухе на црном чају, зеленом чају и споредном производу који се добија при производњи чаја (39).

Испитивање редукционе моћи је указало на диференцијалну способност сва три напитка. Највишу вредност је имао производ добијен култивацијом комбухе на зеленом чају, петнаестог дана ферментације. Током ферментационог периода је долазило до пораста и пада редукционе моћи, код свих испитаних узорака.

Садржај укупних фенолних једињења је постепено растао са временом ферментације, што се објашњава разградњом сложених полифенола у мале молекуле чиме долази до пораста укупних фенолних једињења. Могуће је да до разградње долази услед дејства ензима ослобођених током ферментације од стране бактерија и квасаца (39).

Способност хватања DPPH и супероксид радикала је расла током периода ферментације, у случају сва три напитка. Највишу способност хватања DPPH и хидрокси радикала, као и највишу анти-липидну пероксидацију и најизраженије дејство на редукциону моћ показао је напиток добијен култивацијом комбухе на зеленом чају. Утврђена је значајна корелација између садржаја фенолних једињења и способности хватања DPPH и супероксид радикала у случају напитка добијеног култивацијом комбухе на црном чају, као и утицаја на редукциону моћ за сва три напитка. Постоји висок ниво корелације између фенолних једињења и способности хватања супероксид радикала напитка добијеног култивацијом комбухе на споредном производу који се

добија при производњи чаја. Способност хватања хидрокси радикала и анти-липидна пероксидација сва три напитка су опали на крају ферментационог периода, иако је долазило до пораста током ферментације. Корелација између фенолних једињења и способности хватања хидрокси радикала и анти-липидне пероксидације није утврђена (39).

Закључак претходно описаног истраживања је да напиток добијен помоћу комбухе култивисане на црном и зеленом чају (уобичајени супстрат) и споредном производу при производњи чаја (алтернативни супстрат) поседује високу антиоксидативну активност. Током ферментације је дошло до пораста антиоксидативне активности, чија вредност зависи од времена ферментације, супстрата за култивацију и микроорганизама комбухе. Метаболити комбухе су и органске киселине, чији садржај расте са дужином трајања ферментације, те треба водити рачуна о томе да напиток, услед стварања веће количине органских киселина, може постати штетан за директну конзумацију (39).

Резултати истраживања утицаја стартер културе комбухе на антиоксидативну активност традиционалног напитка добијеног помоћу комбухе, обухватили су праћење активности стартер култура на хидрокси и DPPH радикале (AA_{OH} и AA_{DPPH}) (40). Локална нативна комбуха садржи најмање пет врста квасаца: *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bisporus*, *Torulopsis* sp. и *Zygosaccharomyces* sp. (52). Примарна бактерија комбухе припада врстама рода *Acetobacter* (23, 53-54).

Као стартер културе су коришћена три различита инокулума: ферментациона течност нативне локалне комбухе (Контрола) и стартер културе сачињене од изолата (СК1 и СК2).

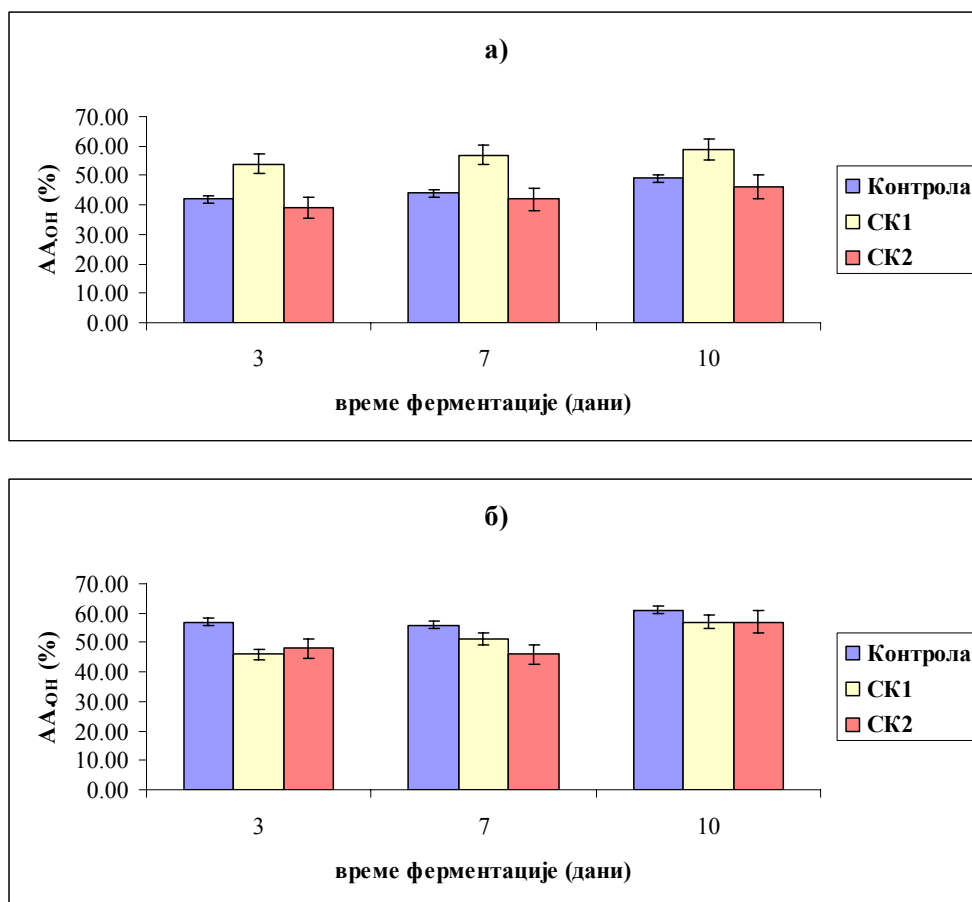
Осим мерења AA_{OH} и AA_{DPPH} , праћена је и вредност рН, као и садржај витамина Це, Б₂, укупних киселина и лимунске киселине (40).

Утврђено је да се применом СК1 и СК2 добија производ који поседује антиоксидативну активност. Ранија истраживања су показала да се применом нативне комбухе добија производ са антиоксидативним карактеристикама, без обзира на географско порекло културе (39, 50).

Антиоксидативна активност, AA_{OH} , нападака добијених помоћу комбухе на хидрокси радикале је приказана на слици 2.

Значајан пораст AA_{OH} је забележен применом све три стартер културе након три дана ферментације, а просечна вредност је износила 47,70% (слика 3). Након три дана ферментације, па све до краја ферментације, уочен је слаб пораст AA_{OH} . Може се закључити да су једињења настала ферментацијом комбухе имала значајан утицај на приказане резултате. Поређењем AA_{OH} узорака добијених на различитим супстратима, применом исте стартер културе, уочено је да је просечна вредност AA_{OH} виша за узорке добијене на зеленом

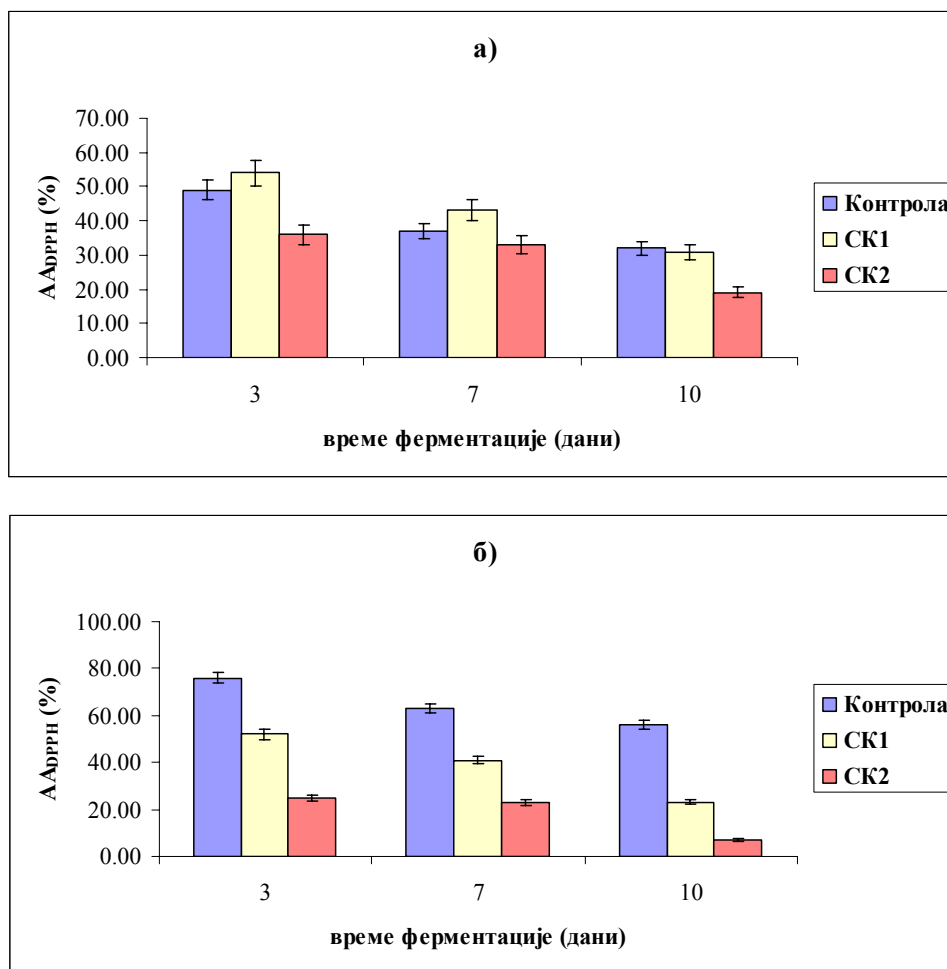
чају. Уочено је да је на супстрату са црним чајем највиша просечна AA_{OH} добијена применом СК1, док је највиша просечна AA_{OH} на супстрату са зеленим чајем добијена применом Контроле.



Слика 2: AA_{OH} напитака добијених помоћу комбухе ферментацијом на:

а) црном чају; б) зеленом чају

Поређењем тока промене антиоксидативних активности, AA_{OH} и AA_{DPPH} , може се закључити да су у потпуности различите. Једина сличност је био значајан пораст након три дана ферментације. За AA_{DPPH} је то у просеку износило 48,70%, након чега је дата антиоксидативна активност континуално опадала до краја ферментације (слика 3).



Слика 3: AA_{DPPH} напитака добијених помоћу комбухе ферментацијом на:

а) црном чају; б) зеленом чају

Постоје извесне сличности између антиоксидативних активности, AA_{OH} и AA_{DPPH} (слике 2 и 3). Код оба типа антиоксидативне активности, највише вредности су достигнуте са СК1 на црном чају као супстрату. Ферментацијом нативне комбухе (Контрола) највише вредности антиоксидативне активности су постигнуте на зеленом чају као супстрату. Најниже вредности антиоксидативних активности, на оба супстрата, су постигнуте применом СК2. Тиме је заључено да стартер култура СК2 није препоручљива за производњу напитака добијених помоћу комбухе.

Истраживање антиоксидативне активности традиционалних напитака добијених помоћу комбухе указало је на следеће (40):

- Примена различитих стартер култура комбухе доводи до настанка различитих антиоксидативних активности на црном и зеленом чају;
- Највише вредности AA_{OH} и AA_{DPPH} на црном чају су добијене применом СК1, док су на зеленом чају највише вредности антиоксидативних активности постигнуте применом Контроле. Најниже вредности AA_{OH} и

AA_{ДРРН} су добијене применом СК2 што наведени стартер не препоручује за даљу употребу;

- Вредности антиоксидативних активности су у корелацији са садржајем укупних киселина и витамина Це.

2.5. ЛЕКОВИТО БИЉЕ

Од древних времена, биљке и зачини су додавани различитим типовима хране ради унапређења ароме и сензорних особина. Данас је нарочито популаран концепт хране који комбинује нутритивне и медицинске погодности, односно концепт функционалне хране. Многа природна једињења изолована из биљака су показала широки спектар биолошких активности.

Ртањски чај, нана, коприва и мајчина душица имају дугу историју биљног лека и хранљивог додатка у исхрани.

2.5.1. Ртањски чај

Ртањски чај (бресина, вријесак) припада реду Lamiales, породици Lamiaceae, роду *Satureia* и врсти *Satureia montana* L. (55). Вишегодишњи је зимзелени полужбун, 20-30 cm висине, који настањује безводне, сунчане и стеновите области. Биљка има разгранате стабљике, дрвенасте у основи, са сјајним, тамно-зеленим лишћем, које је око једног инча (2,54 cm) дужине, наспрамно постављено и ланцетастог облика који се шири на врховима. Бели или бледо розе-љубичасти цветови расту у крајњим шиљцима, двоусни су са љубичастим местима на доњим врховима (слика 4). Период цветања је од јула до септембра. Плод се састоји од 4 мања чврста дела. Ртањски чај је аутохтони за Јужну Европу, нарочито Средоземље, а налази се широм Европе, Русије и Турске (56-57).



Слика 4: Ртањски чај

Врло је ароматична, кулинарска биљка и вековима се користи као зачин за храну, те као састојак чајних мешавина. Користи се у медитеранској кухињи, углавном као зачин за месо и рибу и у ароматичним додацима за супе, кобасице, конзервисано месо и зачињене сосеве. Њен ароматични мирис одбија штетне инсекте, а привлачи пчеле и друге опрашиваче, те је зато ртањски чај једна од најбољих медоносних биљака. Мед од ртањског чаја је традиционални лек у терапији бронхитиса (56-57).

Ртањски чај поседује биолошка својства која су везана за присуство главних хемијских једињења етарског уља: тимол и карвакрол. Поред њих, присутне су и многе друге биолошки активне компоненте, од којих многе поседују антиоксидативну активност, као што су: *p*-цимен, γ -терпинен у етарском уљу, тритерпени, флавоноиди и розмаринска киселина. Цела биљка, етарско уље и екстракти се користе у традиционалној медицини због својих активности на варење, надимање, те као афродизијак, бактерицид и фунгицид. Неколико аутора је показало антимикуробну активност етарског уља или екстраката ртањског чаја на грам-позитивне и грам-негативне бактерије, као и дејство против пролива, антиоксидативну активност, те антипролиферативну активност на људске еритролеукемијске K562 ћелије, на HeLa (епителоидни карцином цервикса), HT-29 (аденокарцином дебелог црева) и MCF-7 (аденокарцином дојке) ћелијске линије. Поред тога, доказане су и антихолинестеразне и анти-HIV-1 особине ртањског чаја (56). Истраживања указују на могућност коришћења екстраката ртањског чаја у лечењу преране ејакулације (57).

2.5.2. Нана

Нана (метвица, питома нана) припада реду Lamiales, породици Lamiaceae, роду *Mentha* и врсти *Mentha piperita* L. (58). Она је вишегодишња траваста биљка, 30 до 90 cm дугачка. Њени листови и стабло су црвенкасти. Листови расту у наспрамним паровима и њихове стабљике су квадратног облика. Ивице листова су грубе, а површина им је таласаста и тамнозелена. Цветови су љубичасти и сакупљају се са ивица грана (слика 5). Биљка воли влажна и тамна места (59). Нана има способност прилагођавања различитим климатским условима и на различитом земљишту, док је умерена клима погоднија за узгајање нане високог квалитета (60).



Слика 5: Нана

Етарско уље нане садржи око 0,32 до 4% испарљивог уља, 25 до 62% ментола, 13 до 40% ментона, 1 до 4% метофман и 0 до 25% лимонена (59). Карактеристична једињења су терпени присутни у етарском уљу. Међутим, описано је такође неколико флавоноида, углавном флавоноли и флаванони, присутни или у гликозидној форми или као слободни агликони. Када се нана користи у форми инфузије, само се 21% оригиналног етарског уља налази у чају, док је 75% полифенолних једињења екстраховано. Ови полифеноли у великој мери могу бити одговорни за антиоксидативну активност овог биљног чаја, пошто се многа биолошка својства сада додељују фенолима (углавном розмаринској киселини и флавоноидима) (61).

Нана је биљка која се култивише за екстракцију етарског уља, а у великој мери се користи као зачин у неколико прехранбених производа, због својих ароматизујућих карактеристика (безалкохолна пића, сладолед, слаткиши, гуме за жвакање, колачи, месо, биљне мешавине).

Лист нане се користи у традиционалној медицини као спазмолитик, антибактеријски агенс и покретач желучане секреције (61). Нана може да помогне при губитку апетита, уобичајеној прехлади, кашљу/бронхитису, упали синуса, грозници, мучнини и повраћању. Она поседује антиинфламаторну и антифунгалну активност. Нанино уље је ефикасно против алергијских реакција типа I. Такође, може повећати секрецију жучи из жучне кесе. Када се примењује површински, делује као антииритант и аналгетик, са способношћу да редукује бол и повећа проток крви у одговарајућој области. Ентерично премазано нанино уље може бити погодно за људе са синдромом иритираног црева. Чај од нане је традиционална терапија за дечје грчеве. Међутим, нана треба да се користи опрезно код деце због својих споредних ефеката, као што је алергија (59).

2.5.3. Коприва

Коприва припада реду *Urticales*, породици *Urticaceae*, роду *Urtica* и врсти *Urtica dioica* L. (62). Вишегодишња је биљка којој одговара да расте у нижим областима са богатим земљиштем и релативно високом концентрацијом влаге. Она је уобичајени коров. Биљка коприве је прекривена многобројним малим длачицама типа бодље, које се налазе на стабљници и на доњој страни листова (слика 6) (63).



Слика 6: Коприва

Ране биохемијске анализе коприве су откриле високу концентрацију мравље киселине у њеним длачицама. Међутим, доказано је присуство хистамина, серотонина и ацетилхолина у течности коприве. Механизам деловања коприве може бити и биохемијски и механички (63). Коприва је богата минералима (нарочито гвожђем), витамином Це и провитамином А (антиоксидативни витамини). Листови коприве су добар извор есенцијалних аминокиселина, угљених хидрата, масних киселина и изолектина (64).

Коприва се користи за припрему чаја, супе и остале хране (63). Млади скувани листови могу се сушити ради употребе у зимском периоду. Сама коприва је врло хранљива и лако сварљива. Она је добар природни и јефтин извор зеленог пигмента (хлорофила), који се користи као агенс за зелено бојење (E140) у храни и лековима (64).

Медицинска употреба биљке произилази из њених антиинфламаторних својстава. Користи се у лечењу артритиса, бола у основи палца, различитих болова зглобова и хроничног бола у колену (63). За корен коприве је показано да има благотворни ефекат на увећане жлезде простате. Екстракти коприве спречавају настанак неколико цитокина као и формирање еикосаноида у стимулираним периферним крвним ћелијама. Активна компонента названа F₁, из екстракта коприве, узроковала је ефекат смањења нивоа шећера у крви (64). Коприва се користи за лечење стомачних тегоба, прехладе и кашља, као и у случају инсуфицијенције јетре. Она поседује акутни диуретски, натриуретски и хипотензивни ефекат, кардиоваскуларне ефекте, те стимулише пролиферацију

људских лимфоцита и нема хипогликемијску активност (7). Коприва је чест узрок контактне уртикарије (63).

2.5.4. Мајчина душица

Мајчина душица (тимус) припада реду Lamiales, породици Lamiaceae, роду *Thymus* и врсти *Thymus serpyllum* L. (65). Распрострањена је у Еврозији, а доминантна је у северној и средњој Европи. Траваста је биљка, дрвенаста у основи, постављена делимично лицем надоле, пљоснатих листова, линеарних до елиптичних, има веома кратку стабљику, те је цилијарна у основи. Цваст је уобичајено облика главе. Круница је љубичаста, чашица цвета звонаста са горњим зубима дугачким колико и широким, уобичајено цилијарна (слика 7) (66).



Слика 7: Мајчина душица

Квалитет мајчине душице је обично одређен садржајем етарског уља, које уобичајено садржи више карвакрола него тимола. Она такође садржи многе антиоксидативне компоненте, олигомере кафеинске киселине, флавоноидне гликозиде, деривате хидрокинона, терпеноиде, бифениле и остале (11).

Биљка мајчине душице или обрађени производи могу да се користе у кулинарству и/или преради хране као засебан зачин или у саставу смеше зачина, есенцијалног уља, уљане смоле или других мешавина производа. Мајчина душица је нашла примену у бројним прехранбеним производима: пићима, сиру, риби, месу, преливима за салату, сосевима, поврћу, јелима са јајима, дивљачи и живини, супама и меду. Уобичајено, због својих сензорних карактеристика, мајчина душица није погодна за кондиторске производе. Користи се као

конзерванс за прехранбене производе. Есенцијално уље мајчине душице је састојак многих козметичких препарата (66).

Мајчина душица се традиционално примењује, орално за симптоматско лечење гастроинтестиналних сметњи и кашља. Њени спазмолитички и антимикуробни ефекти се користе у лечењу болести бронхија. Површински се примењује ради олакшања симптома уобичајене прехладе, као што је запушеност носа и у течностима за испирање уста у оралној хигијени (11). Такође, поседује и антиинфламаторну и антиоксидативну активност (66).

2.6. ФЕРМЕНТИСАНИ МЛЕЧНИ ПРОИЗВОДИ

Млеко (слика 8) је од давнина коришћено у исхрани због своје високе нутритивне вредности. Зна се да су га конзумирали стари Сумерци и Египћани, а први писани подаци о производњи ферментисаног млека нађени су код старих Грка и Римљана. Индустијска револуција је утицала на нагло повећање потрошње млека захваљујући проширеном асортиману најразличитијих производа од млека (67).



Слика 8: Млеко

Млеко је нутритивно високо вредна храна, јер садржи готово све енергетске, градивне и заштитне материје, у таквом квантитативном односу да људски организам може оптимално да их искористи. Млеко просечно садржи 88% воде и 12% суве материје, коју чине протеини, угљенихидрати, масти, минералне материје, витамини и трагови метала, ензими и друге супстанце. Састав млека варира у зависности од расе, периода лактације, годишњег доба, исхране, здравственог стања животиње и др. У табели 1 је дат просечни садржај основних компонената млека.

Табела 1: Састав крављег млека (67)

компонента	садржај у 100g	
	средња вредност	опсег
вода	87,5g	87,0-88,0g
протеини	3,13g	3,04-3,22g
маст	3,76g	3,64-3,88g
угљенихидрати	4,84g	4,76-4,92g
минералне материје	0,80g	0,70-0,97g

Као што се из табеле 1 види, млеко у својим компонентама садржи све биогене елементе, а у доброј мери и факторе раста, те је веома погодан супстрат за ферментацију додатком различитих производних микроорганизама (67).

Ферментисани млечни производи су присутни на свим континентима, а називи производа, као и најчешће врсте бактерија млечне киселине које су употребљене за њихову ферментацију, указују на велике миграције људске расе током више миленијума (68). Разлози за ферментацију млека су бројни и, иако је примарна функција продужити рок трајања млеку, друге предности, као што су побољшање укуса млека, повећање сварљивости производа и производња широког спектра производа (од јогурта до концентрованог јогурта и сира), не треба превидети.

Историјски преглед порекла ферментисаних млечних производа (нпр. јогурт, кефир, кумис, кисело млеко) показује да они датирају из раних цивилизација, око 10000 година пре Христа, када се начин живота људи променио од сакупљања хране ка производњи хране. Ова промена је такође укључила припитомљавање краве, овце, козе, бика и камиле. Грчки историчар Херодот (485-425 године пре нове ере) говори о освежавајућем пићу произведеном од кобиљег млека, које је било популарно међу Гетским племенима.

Широк распон аутохтоних ферментисаних млечних производа се традиционално производи у руралним подручјима широм света, и већина ових производа се ослања првенствено на спонтану ферментацију, због присуства аутохтоне микрофлоре (углавном бактерија млечне киселине) у млеку. Међутим, у азијским степама, на пример, посебне посуде направљене од коњске коже, које садрже микроорганизме укључујући квасце из претходне производне серије или сезоне, користе се током производње традиционалног кумиса, и производња се ослања да контејнери или посуђе обезбеде почетни инокулум стартер организама. Овакав поступак је широко распрострањен.

Осим тога, може се претпоставити да еволуција било које врсте ферментације зависи од климатских услова у регији, тако да док су термофилне

млечно-киселе ферментације доминантне у топлим и суптропским земљама због повољних услова раста млечних култура (40-45°C), мезофилне ферментације су популарније у хладнијим климатским условима, као што је Северна Европа. Данас се ферментисани млечни производи добијају у контролисаним условима применом селекционираних стартер култура (69).

Према врсти коришћеног стартера и главним метаболитима (нпр. врста органских киселина и произведена карбонилна једињења, присуство угљен-диоксида у гелу и/или производња етанола) ферментисани млечни производи се могу поделити на производе у којима је заступљена (69):

- Млечна ферментација: (а) мезофилни тип (култивисана млаћеница, filmjolk, tätmjolk и långofil), (б) термофилни тип (јогурт, бугарска млаћеница, забади, дахи), (в) терапеутски или пробиотски тип (ацидофилно млеко, Yakult[®], АВТ, Onka[®], Vifit[®], Actimel[®], LC); производи у овој групи чине далеко највећи број, познат у целом свету;
- Квасци-млечна ферментација: кефир, кумис, ацидофилно квасац-млеко;
- Плесни-млечна ферментација: viili.

Иако није интегрисана у дату поделу, ферментисани млечни производи се могу поделити и на основу својих физичких карактеристика.

2.6.1. Стартер културе

Широк спектар микроорганизама је коришћен у припреми хране и пића хиљадама година, и главне функције микробних стартер култура могу се сумирати као (69):

- биолошко конзервисање производа услед ферментације, која резултује продуженим роком употребе и здравственом безбедношћу;
- производња бактериоцина који могу имати потенцијал прехранбеног конзерванса;
- побољшање сензорних својстава производа (нпр. због производње органских киселина, карбонилних једињења и делимичне хидролизе протеина и/или масти);
- побољшање реолошких својстава ферментисаних млечних производа (тј. вискозитета и чврстоће);
- допринос дијететским/функционалним/нутритивним својствима ферментисаног млека, као у случају примене пробиотских микроорганизама.

У групи микроорганизама који се користе као стартер културе, разликују се традиционалне и не-традиционалне стартер културе, у чији састав улазе бактерије, квасци, плесни или комбинације.

Традиционалне бактерије млечне киселине су главна група микроорганизама која се успешно користи десетинама година за производњу ферментисаног млека и ови микроорганизми припадају родовима *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* и *Streptococcus*. На основу морфологије могу бити класификовани као коке и штапићи, а према оптималним условима раста, подељени су на мезофилне и термофилне стартер културе које могу расти на 20-30°C или 37-45°C, респективно.

Не-традиционалну микрофлору чине многе бактеријске врсте које припадају родовима *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Enterococcus*. Ови микроорганизми се користе у производњи ферментисаног млека и других млечних производа због изражених здравствених погодности за потрошаче. Ипак, неке не-традиционалне врсте лактобацила и квасаца се чешће користе у производњи ферментисаног млека ради доприноса новој ароми у овим производима, а типичан пример је кефир.

Укупан микробни спектар сојева и врста (нпр. бактерије млечне киселине и квасци), који су идентификовани у кефирним зрнима од стране многих истраживача су бројни, а само неки од њих су комерцијално доступни. Једна плесан се користи у производњи ферментисаних млечних производа у Финској (нпр. *viili*), а позната је као *Geotrichum candidum* (69).

2.6.2. Јогурт

Широм света се могу наћи различити типови ферментисаних млечних производа, као што су јогурт, ацидофилно млеко, свежи сир, млаћеница, кисело млеко, кефир, кумис, ласи, кисела павлака и многи други. Најпопуларнији међу ферментисаним млечним производима, у свету и код нас, свакако је јогурт. Према мишљењу многих, јогурт је од свих ферментисаних млечних производа идеалан посредник за функционалне додатке и због својих многих позитивних својстава доприноси потрошњи млечних производа (70).

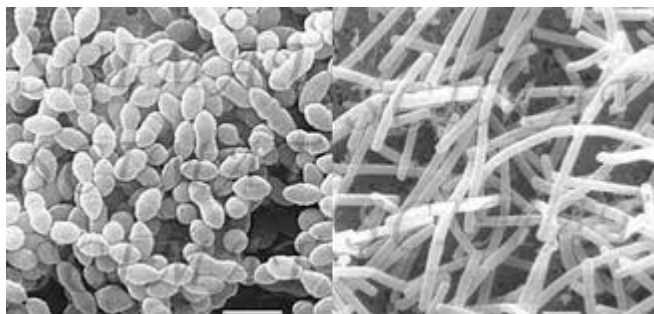
Није познато када је, по први пут, ферментисано млеко (јогурт) (слика 9) било конзумирано. Ферментисано млеко је претеча сира, који је настао отприлике у време када су животиње које дају млеко биле по први пут припитомљене, 8000-10000 година пре Христа. Веровање у здравствене аспекте јогурта је вековима бележено у многим цивилизацијама. Студије Илије Илича Мечникова о вези конзумирања ферментисаног млека и дуговечности су признате. Мечников није био први који је промовисао ферментисано млеко, као

што је јогурт. Хипократ, у четвртном веку пре Христа, у делу „Примена хигијенских мера и мера исхране“, је говорио о значајности јогурта. Лебен, ферментисано млеко Средњег Истока, спомиње се у књизи о Јобу (10:10), 1520 година пре рођења Христа. У Индији, људи су конзумирали јогурт по имену дахи хиљадама година. Значајна количина млека која се произведе у Индији конзумира се као јогурт. Ласи, зашећерени јогуртни напитак, парламент у Пунџабу, провинцији у Северној Индији прогласио је државним пићем. У различитим земљама, ферментисано млеко се назива различитим именима. У земљама у развоју, јогурт је млечни производ који се у великој мери производи у кућној радиности.



Слика 9: Јогурт

Јогурт је млечни производ добијен ферментацијом млека карактеристичном бактеријском културом, мешавином *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (слика 10). Ова микрофлора за свој метаболизам користи лактозу, која се преко низа једињења трансформише до млечне киселине (70).



Слика 10: Јогуртна стартер култура

Нова истраживања указују да се применом бифидобактерија које производе ектополисахариде (енгл. exopolysaccharides, EPS) добијају нискомасни јогурти код којих је синерезис редукован, док је чврстоћа јогурта повећана. EPS бифидобактерија ступају у интеракцију са протеинима млека. Утврђена је и могућност комбиновања испитиваних сојева бифидобактерија са традиционалном јогуртном стартер културом. Побољшане су реолошке и остале физичке особине нискомасног јогурта (71).

2.6.2.1. Нутритивна вредност јогурта

Вредност млека и његових производа је одавно позната. Пример је опис Обећане Земље као земље „у којој теку млеко и мед“. Нутритивна вредност јогурта зависи од садржаја компонената у полазном млеку, технолошког поступка (примена ултрафилтрације), додатка компонената за повећање суве материје и ароматичних додатака. Јогурт има вишу нутритивну густину, 13-20% суве материје млека, у поређењу са млеком где износи 12,3%.

Ферментисани млечни производи садрже готово све енергетске, градивне и заштитне материје, у односу у којем их организам човека може оптимално искористити. Сем тога, ови производи имају велику дијететску вредност која се огледа у промењеној колоидној структури масти и протеина у односу на млеко, што је последица дејства млечне киселине, тако да их људски организам много лакше искоришћава (72).

Како је већ речено, метаболичка активност стартер култура изазива бројне промене у млеку током ферментације. Количина лактозе се смањи за 20 до 30% услед трансформације у млечну киселину. Садржај млечне киселине у јогурту, настале ферментацијом лактозе, износи 0,85 до 0,95% у благо киселом јогурту, односно 0,95 до 1,2% у јогурту изражене киселости. Ензими бактерија млечне киселине обезбеђују бољу апсорпцију казеина. Већина људи која не може да конзумира млеко због алергије на протеине или лактозу, конзумира јогурт и на тај начин обезбеђује равнотежу микрофлоре у интестиналном тракту (70).

Концентрација витамина растворљивих у мастима је у директној вези са садржајем масти у производу. У току ферментације витамини А и Де остају углавном сачувани, док се у високом проценту разграђују витамини Це, Б₆ и Б₁₂. Губитак витамина Б₁₂ у ферментисаним млечним производима се може редуковати коришћењем бактерија из рода *Leuconostoc* или *Propionibacterium shermanii*. У току ферментације се смањује садржај пантотенске киселине и витамина Б₁, а повећава се садржај холина. Концентрација фолне киселине у јогурту је повећана скоро 100%. Повећање садржаја фолне киселине и холина је последица њихове синтезе од стране стартер културе, а нарочито *Streptococcus thermophilus* (73).

У току производње ферментисаних млечних производа минералне материје остају готово непромењене. Као и млеко, ови производи су сиромашни гвожђем и јодом, а богати су солима калцијума, солима фосфорне и лимунске киселине, као и других киселина. Јогурт је добар извор калцијума. Препоручено је да се млеко и јогурт конзумирају са храном богатом оксалатима, као што су спанаћ и сојини производи. Исхрана производима богатим калцијумом смањује уринарне оксалате и помаже у превенцији бубрежног каменца (70).

2.6.2.2. Функционалне карактеристике јогурта

Наука о исхрани иде од концепта „адекватна исхрана“ ка концепту „оптимална исхрана“ и тај процес је довео до развоја нових прехранбених производа, који имају потенцијал побољшања менталног и физичког благостања и који такође смањују ризик од болести. Производ се сматра функционалном храном, ако поред нутритивне вредности садржи компоненте које позитивно делују на здравствено, физичко и психичко стање људског организма. Функционална храна је због тога позиционирана изнад традиционалне хране. Концепт функционалне хране је настао у Јапану, 1980-их година. Функционална храна још није законски дефинисана у Европи.

У објашњењу теорије „Дуговечност без старења“, 1908. године Мечников је изнео да бактерије млечне киселине у киселом млеку замењују бактерије које производе токсине, чиме унапређују здравље. Од тада, бројне студије о употреби млечних култура у храни су настављене кроз векове. Вероватно најстарија позната функционална храна су разне врсте ферментисаних производа (68).

Следеће карактеристике и компоненте неких млечних производа указују на својства функционалне хране (70):

- У ферментисаним млечним производима бактерије млечне киселине током ферментације претварају део лактозе у млечну киселину, која негативно делује на непожељне бактерије у дигестивном тракту, извор је енергије, поспешује лучење дигестивних сокова, олакшава изградњу протеина и побољшава прелаз и везивање калцијума, фосфора и гвожђа у телу.
- Млеко и млечни производи су главни извор калцијума у храни. Код људи који конзумирају више млечних производа током најмање дванаест недеља, порасте унос калцијума, магнезијума, фосфора, калијума, тиамина, рибофлавина, витамина Де и витамина Це.
- Млечна маст садржи велики удео кратколанчаних масних киселина које се брзо оксидују, снабдевају организам есенцијалним масним киселинама и у мастима растворним витаминима (витамини А, Де, Е и Ка). Лиолна киселина и коњугована лиолна киселина имају заштитну улогу у развоју неких болести савременог доба, као што су кардиоваскуларне болести и карцином.
- Лактоза је значајан извор енергије и поспешује деловање дигестивног тракта, те повећава способност везивања фосфора и калцијума, повећава апсорпцију калцијума и витамина Де.

- Савремена истраживања говоре о томе да млечни производи имају заштитну улогу у настајању канцера дебелог црева. У механизам заштите су укључени калцијум, витамин Де, бактерије млечне киселине, коњугована линолна киселина и биоактивни пептиди.

Јогурт у данашње време постаје начин за увођење пробиотика и пребиотика, за које се верује да пружају добро здравље одржавањем балансиране и здраве стомачне микрофлоре. Утврђени су антимикуробни ефекти јогурта из занатске производње ферментисаног смоквом према *Escherichia coli* ATCC 35218, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Proteus* sp., док активност на испитиване квасце (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*) није доказана (74).

Експерименти у исхрани, са људима и пацовима, су показали да јогурт који садржи живу микрофлору може бити конзумиран од стране индивидуа за које је утврђено да су нетолерантни на лактозу. Истраживања су показала да се активност лактазе (β -галактозидазе) јогуртне културе наставља у интестиналном тракту и након што је култура лизирана, и наставља да разграђује лактозу. Ова активност може бити детектована у дванаестопалачном цреву и крајњем илеуму након конзумације јогурта који садржи живе микроорганизме (70).

У литератури је указано на бројне здравствене погодности које су додељене јогурту у односу на различите болести: колитис, констипација, различите врсте пролива, стомачна киселост, гастроентеритис, лоше варење, интоксикација (бактеријски токсини), дијабетес, хиперхолестеролемија, поремећаји бубрега и бешике, нетолеранција на лактозу, поремећаји јетре и жучи, гојазност, поремећаји на кожи, туберкулоза, вагинитис и инфекције уринарног тракта, превенција канцера и превенција и третман гастритиса изазваног *Helicobacter pylori* и синдрома иритираног црева (70).

Добро је познато да је *Streptococcus thermophilus* нетолерантан на киселост и да ће само неколико ћелија ове врсте преживети пролазак кроз стомак. Чак је и за *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, који је способан да се одупре киселости у много већем степену мало вероватно да ће доћи у црева у живом стању. Отпорност ових истих бактерија према жучним солима, укључујући натријум таурохолат и гликолат, је такође слаба, иако су одређени сојеви *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* имплантирани у црева лабораторијских пацова. Последично, генерални консензус је да ни *Streptococcus thermophilus* ни *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* не преживљавају дигестивни процес код људи.

Данас су на тржишту доступни ферментисани млечни производи који су намењени циљним групама потрошача, као што су деца, адолесценти, старије

особе, као и производи који су стриктно намењени женској популацији. Један од најизраженијих трендова у производњи ферментисаних млечних производа је проширење асортимана тзв. „погодних“ производа који могу да представљају цео оброк, а одликује их лакоћа руковања чиме се штеди и енергија и време (75).

2.6.3. Кефир

Ферментисани млечни производи, који су произведени применом одређених сојева бактерија млечне киселине и квасаца су класификовани као хетеро ферментације, а неки типични примери су кефир и сродни производи, кумис и ацидофилно-квасац млеко. Сензорна својства су резултат производње млечне киселине, угљен-диоксида, алкохола и других једињења ароме који настају током ферментационе фазе млека. Осим тога, ови производи су такође познати као алкохолни млечни напаци. Међутим, тачна микрофлора ових производа није добро дефинисана јер зависи од порекла стартер културе, услова раста, прераде млека и врсте млека које се користи (на пример кравље, козје, овчије) (69).

Ферментисани млечни производи овог типа су настали у централној Азији, између Кавказа и Монголије, и врло су популарни у многим земљама (земље бившег СССР-а, Пољска, Чешка, Словачка, Мађарска, Бугарска и неке скандинавске земље). Иако многе од тих ферментација укључују специфичну микрофлору, постоји знатан степен сличности у односу на технолошке аспекте, а ту су и разлике у врсти млека које се користи као медијум за раст. Традиционална производња кефира и кумиса данас је доживела комерцијализацију у индустријским условима. Популарност алкохолних млечних напитака је помогла повећању њихове потрошње, као и такође промовисању њиховог угледа као производа добрих за здравље.

Према кавкаској легенди, Мухамед (око 570-632. године нове ере) је дао Мухамедова зрна (такође позната као гљиве) заједно са тајним рецептом за кефир становницима регије. Дакле, кефир је један од најстаријих ферментисаних млечних напитака, а технологија производње и коришћење специфичне стартер културе развили су се кроз векове. Његово порекло може се пратити назад до Кавказа где је произведен традиционалним методама у врећама од животињске коже, или у храстовим бачвама или земљаним посудама. Пошто су се ове посуде стално користиле (тј. након што је једна количина кефира била конзумирана, додавана је нова серија свежег млека), микроорганизми су били склони формирању танког слоја, а касније група на

површини посуда. Овај процес формирања микробног филма је био потпомогнут топлим условима Кавказа (69).

Кефир (слика 11) је познат и као „млечни шампањац“, „шампањац култивисаних млечних производа“ и „јогурт 21. века“. Током 1990-их кефир је привукао интерес истраживача, делом због својих пробиотичких својстава.



Слика 11: Кефир

Кефирна зрна могу бити произведена традиционалним начином руковања млеком. Користе се врећице од козје коже (капацитета 4 L), које се оперу у више наврата, стерилном водом, и напуне пастеризованим млеком и интестиналном флором овце. Држе се на 24-26°C током 48 часова и мућкају сваких сат времена. Када је млеко коагулисано, 75% ферментата је замењено свежим млеком, и овај поступак се понавља 12 недеља. Поступно, полисахаридни слој се појављује на површини коже. Слој се са коже уклања асептично и пропагира у пастеризованом крављем млеку где су се зрна формирала (0,3-2,0 cm у пречнику), и додаје се неколико пута свежем крављем млеку.

Кефирна зрна (слика 12) карактерише формирање неправилне, пресавијене или неравне површине, а својим обликом и бојом личе на цветове карфиола. Зрна су еластична и беле или тек жуте боје, и имају карактеристичан мирис.



Слика 12: Кефирна стартер култура

Сува материја свежег зрна износи 10-16%, а састоји се од око 30% протеина и 25-50% угљених хидрата. Хемијски састав кефирних зрна пореклом из Русије и Бугарске чини око 90% воде, 3,2% протеина, 0,3% масти, 5,8% не-протеинског растворљивог азота и 0,7% пепела. Сличне вредности су пронађене у зрнима пореклом из Шведске, док су зрна добијена из домаћинства у Аргентини садржавала 83% воде, 9-10% полисахарида и 4,5% протеина. Зрна су направљена од конгломерата микробних ћелија и њихових метаболита, коагулисаних млечних протеина и угљених хидрата. Последњи укључују различите мукозне супстанце које производе бактерије, углавном полисахариди који су познати као кефирани. Површина кефирних зрна богато је колонизирана бактеријама и квасцима, који су углавном аутолизирајући тип који не може проћи кроз матрицу кефирана.

Кефирна зрна имају комплексан микробиолошки састав и чине их 83-90% бактерије млечне киселине, квасци 10-17%, бактерије сирћетне киселине и неке плесни. Бактерије млечне киселине у кефирним зрнима чине следећи микроорганизми: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus* spp., *Streptococcus thermophilus* и *Leuconostoc* spp. Утврђено је да се *Lactococcus* spp. налази на површини кефирних зрна, док су лактобацили и квасци присутни у дубљим слојевима зрна. У кефирном зрну су присутне многе врсте квасаца: *Klyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida inconspicua* и *Candida maris*. Утврђено је присуство квасца *Klyveromyces* spp. (ферментише лактозу) у производу којем даје специфичну арому. Међутим, познато је да већина присутних квасаца не разлаже лактозу. Квасац *Saccharomyces turiscensis* (изолован из различитих кефирних зрна) има способност разградње D-глукозе, D-галактозе и сахарозе, али не и лактозе. Најчешће присутне бактерије сирћетне киселине у кефирним зрнима су *Acetobacter aceti* и *Acetobacter rasanis*. Присуство плесни *Geotrichum candidum* нема значајан утицај на квалитет производа.

Удео микроорганизма присутних у кефиру може бити 80% лактокока, укључујући *Leuconostoc* spp., 10-15% квасаца и 5-10% лактобацила, док кефирна зрна садрже 65-80% лактобацила, 10-15% квасаца и 5-25% лактокока, укључујући *Leuconostoc* spp. Ферментација на вишим температурама ће унапредити раст лактобацила, док ће се број лактокока и квасаца смањити. Утврђено је да је на промене у микробној популацији производа такође утицао тип примењеног инокулума (нпр. кефирна зрна у односу на ферментат starter културе). Популације *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Streptococcus thermophilus* имају тенденцију да се повећају од 52-65% у кефирном зрну, до 79-86% у производу, а лактобацили се смање за 13-23%. Утврђено је да су хомоферментативни лактобацили доминантни микроорганизми који чине око 90% лактобацила, а хетероферментативни лактобацили (*Lactobacillus kefir* и *Lactobacillus parakefir*, ~10%) су мања популација зрна. Минималан број од

1×10^5 ћелија/g треба да буде присутан у кефирном зрну како би се постигле жељене сензорне особине производа. Међутим, *Kluyveromyces* spp. су трајно присутни у кефирном зрну и производу, али број доминантних лактоза негативних квасаца присутних у кефирном зрну има тенденцију драматичног смањења у производу направљеном помоћу кефирне стартер културе. Ако су *K. marxianus* spp. и *Candida kefir* присутни у кефирном зрну, они имају тенденцију миграције у инокулисано млеко и доминације у кефиру (~80-100%), али ако ове врсте квасаца нису присутне, лактоза-негативне врсте (*Saccharomyces unisporus*) ће постати доминантне, а укупан број квасаца се смањује (69).

Истраживања показују да је могуће извести ферментацију млека ораха кефирним зрнима. На квалитет производа изражен утицај има време ферментације, затим температура ферментације, концентрација сахарозе и величина инокулума (76). Утврђена је могућност производње напитака прихватљивих сензорних особина ферментацијом какао-пулпе кефирним зрнима. Добијени напитај је алкохолног карактера (77).

2.6.3.1. Нутритивна вредност кефира

Хемијски састав кефира одређује његову нутритивну вредност. Типична анализа састава кефира резултује садржајем од 3,0-3,4% протеина, 1,5% масти и 2,0-3,5% лактозе (након ферментације). Међутим, садржај млечне киселине може да буде у опсегу од 0,6-1,0 mL/100mL, а ниво алкохола може бити 0,0-0,1 g/100mL у кефиру добијеном ферментатом стартер културе, или 0,03-1,8 g/100mL у кефиру добијеном применом кефирних зрна (78).

Утврђено је да садржај витамина у кефиру произведеном уз примену кефирних зрна различитих врста млека расте за 20% и то: тиамин (B₁) у кефиру из овчијег млека; пиридоксин (B₆) у кефиру из овчијег, козјег и кобиљег млека; фолна киселина – у свим врстама кефира, осим оног произведеног из кобиљег млека; садржај оротатне киселине је редукован у свим производима кефира током ферментације. Утврђено је да се применом механичких вибрација и инјектовањем атмосферског кисеоника у медијум за раст током ферментације кефирним зрнима, повећава биосинтеза рибофлавина (B₂) и аскорбинске киселине (витамин Це) у поређењу са контролним узорком (69).

2.6.3.2. Функционалне карактеристике кефира

Кефирна зрна имају специфичну структуру и биолошку функцију. Када се зрна засеју у млеко, она расту и предају своје особине наредној генерацији (генерацијама) новоформираних зрна. Надаље, микрофлора кефирних зрна је изузетно стабилна и задржава своју активност годинама, ако је сачувана и инкубирана под одговарајућим условима. Микрофлора кефирних зрна је инкорпорирана у матрикс протеина и полисахарида. Познато је да неке врсте бактерија млечне киселине продукују EPS који доприносе текстури зрна и ферментата. EPS произведен од стране кефирних микроорганизама је познат под називом кефиран. Он је растворљив у води и чини га разгранати глукогалактан који садржи једнаке количине D-глукозе и D-галактозе. За кефиран је утврђено да поседује антиканцерогену активност (79).

Антибактеријска активност кефира је установљена од стране многих истраживача. Осим тога, кефир се користи за лечење туберкулозе, канцера, поремећаја гастроинтестиналног тракта и низа других болести. Погодни ефекти на људе, повезани са потрошњом кефира и/или зрна, укључују:

- побољшање варења протеина млека, хидролиза лактозе, лечење тешких цревних инфекција
- антитуморска активност
- неки микроорганизми кефира могу везати мутагене супстанце, као што су индол и имидазол
- кефир и сфингомијелин добијен из липида кефира могу стимулирати имуни систем младих, али не и старих пацова

Ипак, нема довољно научних доказа који би потврдили све ове хипотезе или терапеутска својства, и још много клиничких студија је потребно за поткрепљивање таквих тврдњи. Дијететска својства кефира су, делом, повезана са разградњом протеина, пошто протеолитичка активност бактерија млечне киселине и квасаца олакшава стварање ниско-молекуларних пептида и аминокиселина. Садржај ових супстанци у кефиру је виши него у јогурту произведеном од исте врсте млека (69).

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

3.1. МЛЕКО

За производњу ферментисаних млечних производа у лабораторијским условима коришћено је пастеризовано, хомогенизовано кравље млеко са 0,8 (M0,8), 1,6 (M1,6) и 2,8% (M2,8) млечне масти, произвођача АД Имлек Београд, огранак Новосадска млекара Нови Сад.

Млеко са 2,8 и 1,6% млечне масти је комерцијално кравље млеко купљено у продавници прехранбених производа, док је млеко са 0,8% млечне масти добијено мешањем млека са 1,6 и 0,05% млечне масти, у једнаким запреминским односима. Млеко са 0,05% млечне масти је добијено од стране АД Имлек Београд, огранак Новосадска млекара Нови Сад.

3.2. ИНОКУЛУМ КОМБУХЕ

Приликом избора стартер културе, након прелиминарних истраживања, за даљи рад је одабрана Контрола, због једноставнијег начина добијања, у односу на стартер културу формирану од изолата (40).

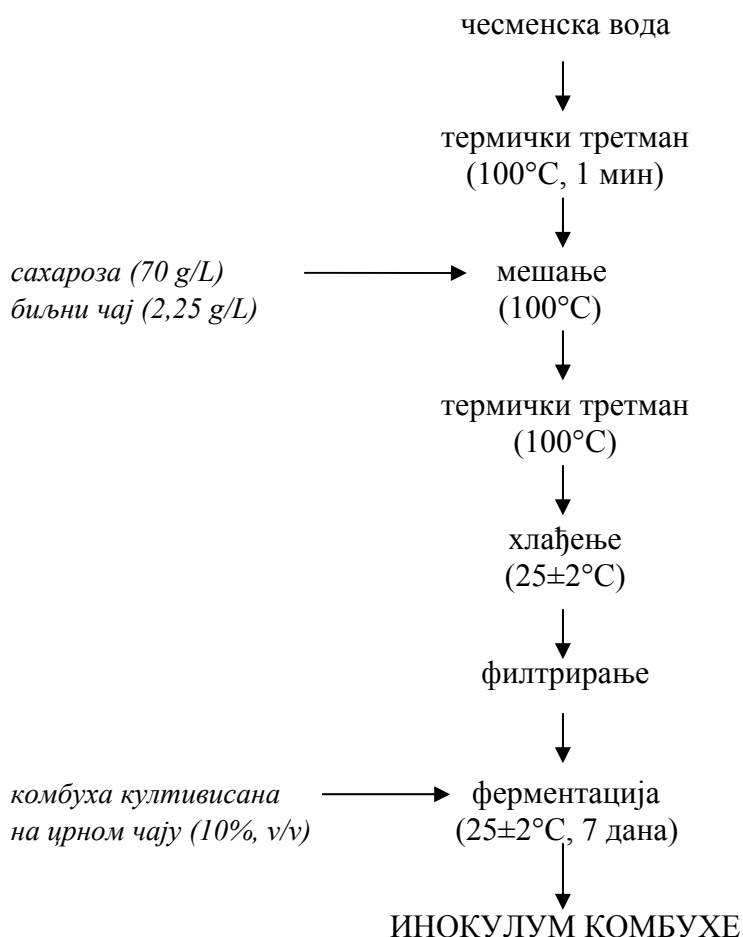
Четири различита инокулума комбухе су коришћена као стартер културе за ферментацију млека. Као полазни инокулум коришћен је традиционални напиток од комбухе култивисане на црном чају, чија је антиоксидативна активност у претходним истраживањима утврђена (40). Бактерије сирћетне киселине припадају роду *Acetobacter*, док је по питању квасаца установљено присуство *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bisporus*, *Torulopsis sp.* и *Zygosaccharomyces sp.* (52).

Инокулум комбухе је добијен седмодневном култивацијом комбухе на супстрату са сахарозом (кристал шећер), концентрације 70 g/L, уз додатак биљног чаја (ртањски чај, нана, коприва и мајчина душица), у количини од 2,25 g/L. Култивација је изведена на 25°C. Биљни чајеви су купљени у ринфузи, у продавници „Здраве хране“, а кристал шећер у продавници прехранбених производа.

Инокулум комбухе је припремљен на следећи начин (слика 13): у 1 L кључале чесменске воде додато је 70 g сахарозе, 2,25 g одговарајућег биљног чаја и остављено је да прокључа заједно. Чај је охлађен на собну температуру, процеђен у стаклену теглу, а затим је додато 100 mL одговарајућег инокулума

из претходне ферментације, односно 10% ферментационе течности. Стаклена тегла је прекривена тканином пропусном за ваздух.

Добијени инокулуми су, у зависности од чаја на коме је комбуха култивисана, означени са РИ (од ртањског чаја), НИ (од нане), КИ (од коприве) и МДИ (од мајчине душице).



Слика 13: Шема производње инокулума комбухе

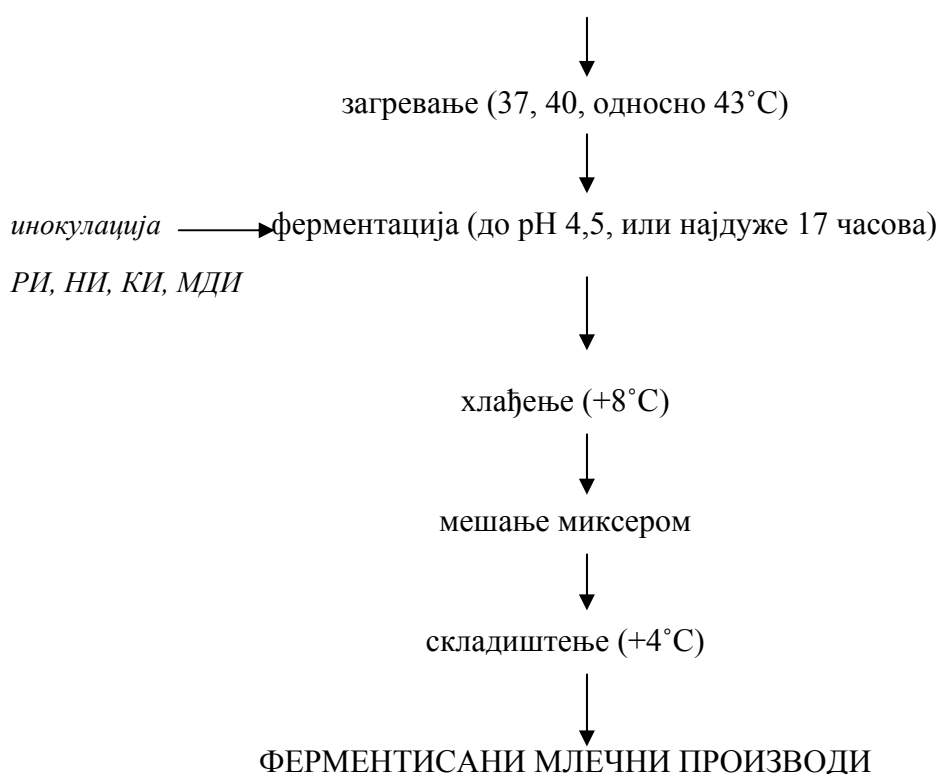
3.3. ПРОИЗВОДЊА ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА

Ферментисани млечни производи су добијени на следећи начин (слика 14): у 500 mL млека (0,8, 1,6 и 2,8% млечне масти) додате су стартер културе (РИ, НИ, КИ, МДИ) на температурама 37, 40 и 43°C, у количини од 10%, односно 50 mL. Ферментација је праћена до постизања рН=4,5, а најдуже 17 часова, након чега је млечни гел охлађен на температуру од 8°C и хомогенизован миксером.

Производи добијени помоћу комбухе су, у зависности од чаја на коме је комбуха култивисана, садржаја млечне масти млека коришћеног за ферментацију и температуре ферментације, означени са:

- P2,8-37, P2,8-40, P2,8-43, P1,6-37, P1,6-40, P1,6-43, P0,8-37, P0,8-40, P0,8-43;
- H2,8-37, H2,8-40, H2,8-43, H1,6-37, H1,6-40, H1,6-43, H0,8-37, H0,8-40, H0,8-43;
- K2,8-37, K2,8-40, K2,8-43, K1,6-37, K1,6-40, K1,6-43, K0,8-37, K0,8-40, K0,8-43;
- MD2,8-37, MD2,8-40, MD2,8-43, MD1,6-37, MD1,6-40, MD1,6-43, MD0,8-37, MD0,8-40, MD0,8-43.

пастеризовано, хомогенизовано млеко (2,8, 1,6, односно 0,8% млечне масти)



Слика 14: Шема поступка производње ферментисаних млечних производа

3.4. АНАЛИЗА ИНОКУЛУМА КОМБУХЕ

Анализа квалитета инокулума комбухе коришћених за производњу ферментисаних млечних производа је обухватила анализе: вредност рН, сува материја и пепео (80).

Укупан број бактерија у узорцима инокулума је одређен методом која обухвата одређивање броја ћелија бактерија на основу спектрофотометријског мерења апсорбанције на 600 nm, односно мерењем мутноће (81), док је укупан

број квасаца одређен методом која је заснована на директном бројању ћелија квасаца у Нојбауеровој комори (82).

3.5. АНАЛИЗА МЛЕКА И ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА

Анализа квалитета млека и ферментисаних млечних производа обухватила је стандардне анализе: вредност рН, киселост, сува материја, пепео, млечна маст, укупни протеини и лактоза (80).

Поред тога, урађене су и анализе:

Антиоксидативна активност на DPPH (AA_{DPPH}) (2,2-дифенил-1-пикрилхидразил) радикале је одређена спектрофотометријски. DPPH радикали реагују са антиоксидативним једињењем, које може да донира водоник. За разлику од слободних радикала који настају хемијском реакцијом, као што су супероксид радикал или хидрокси радикал, DPPH реакција има предност, зато што нема могућности за додатне компликације, као што је хелирање метала и инхибиција ензима. Редукција органског, стабилног DPPH радикала се утврђује праћењем смањења апсорбанције на карактеристичној таласној дужини за време реакције (83). Током реакције, промене у боји се одвијају од тамно-љубичасте до светло-жуте. У својој радикалској форми, DPPH абсорбује на таласној дужини од 515-517 nm, али након редукције од стране антиоксиданта или неке радикалске врсте, абсорпција нестаје (84). Апсорбанција, у примењеној методи, мерена је на 515 nm. Антиоксидативна активност је приказана као проценат инхибиције (85).

Антиоксидативна активност на $\cdot OH$ ($AA_{\cdot OH}$) (хидрокси) радикале је одређена спектрофотометријски. Хидрокси радикал настаје као производ Фентонове реакције (Fe^{2+} реагује са водоник-пероксидом, у присуству етилен-диамин-тетрасирћетне киселине). Формирани радикал реагује са деоксирибозом, при чему као производ реакције настаје малондиалдехид, који са тиобарбитурном киселином гради ружичасто једињење. Апсорбанција се мери на 520 nm. Као контрола је коришћен 96% етанол. Антиоксидативна активност је приказана као проценат инхибиције (86).

Одређивање витамина Це је урађено применом HPLC система Agilent 1100 (USA). Коришћена је C-8 колона, димензија 150 x 4,6 mm и пречника 5 μm . Као мобилна фаза коришћен је амонијум-ацетат (0,1 mol/L, рН=5,1). Све хемикалије су биле HPLC степена чистоће. Проток је био 0,4 mL/min. Запремина петље је била 20 μL . Витамин Це је детектован DAD детектором на 254 nm. Након што је витамин Це екстрахован коришћењем раствора 3% *m*-фосфорне

киселине у 8% сирћетној киселини, узорци за HPLC анализу су припремљени филтрирањем кроз хидрофилни мембрански филтер, чији је пречник пора био 0,45 μm . Садржај витамина Це је изражен у mg/L (87).

Идентификација и одређивање масних киселина је урађено коришћењем гасне хроматографије са масеном спектрометријом (енгл. gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS). Метода обухвата екстракцију масти из узорака, припрему метил-естара масних киселина и анализу метил-естара масних киселина, која се изводи применом GC-MS. Анализа метил-естара масних киселина је изведена на Hewlett-Packard (HP) 5890 гасном хроматографу везаном за HP 5971А масени спектрометар. Коришћена је капиларна колона Supelco fused silica SP-2560 (100 m x 0,25 mm; унутрашњи пречник, 0,20 μm). Температура ињектора је била 230°C, са split односом 1:40. Гас носач је био хелијум, док је константан проток износио 0,58 cm^3/min . Почетна температура је износила 100°C, држана је 5 мин и повећавана за 6°C/min до крајње температуре од 240°C. Коришћен је масени спектрометар са јонским извором који ради на принципу јонизације електронима, док је температура квадруполоа износила 180°C. Прикупљање података је изведено scan начином (опсег 50-400 m/z). Резултати садржаја масних киселина су исказани као релативни проценат, појединачних масних киселина у укупним масним киселинама (88).

Код ферментисаних млечних производа, квалитет је утврђиван и одређивањем синерезиса сурутке (89) и способности везивања воде (СВВ) (90).

Сензорна анализа добијених ферментисаних млечних производа, након производње, урађена је методом петобалног бод система (91) и описном методом. При оцењивању је коришћен бодовни распон од 1 до 5. Обзиром да репрезентативна својства производа немају исти утицај на квалитет, за свако одабрано својство квалитета је одређен коефицијент важности (КВ) помоћу којег је вршена корекција (множењем) дате оцене. Испитивани параметри квалитета са додељеним коефицијентима важности су обухватили следеће: изглед-1, боја-2, конзистенција-4, мирис-3, укус-10. Коефицијенти важности су изабрани према утицају појединих својстава на квалитет, а избалансирани тако да укупан збир износи 20. Сабирањем појединачних коригованих оцена добија се јединствен комплексни показатељ који одражава укупан сензорни квалитет који се изражава као проценат од максимално могућег квалитета (92).

3.6. ОБРАДА РЕЗУЛТАТА АНАЛИЗЕ

У овом истраживању, сви експерименти су поновљени три пута и приказане су средње вредности добијених резултата.

Резултати анализе инокулума, млека и ферментисаних млечних производа добијени за вредност рН, киселост, суву материју, пепео, млечну маст, укупне протеине, лактозу, синерезис, способност везивања воде и масне киселине су статистички обрађени применом програма Microsoft Office Excel 2003.

3.7. ОПТИМИЗАЦИЈА АНТИОКСИДАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

Метода одзивне површине функције (енгл. response surface methodology, RSM) је збирка математичких и статистичких техника која је широко примењена у прехранбеној индустрији за утврђивање дејства неколико променљивих и оптимизацију услова производног процеса (93).

Резултати су статистички обрађени анализом варијансе при степену значајности $\alpha=0,05$. Адекватност модела је процењена коефицијентом детерминације (R^2) и р-вредношћу модела. За опис одзивне функције Y (AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и садржај витамина Це) одговара полиномни модел другог степена:

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ii} X_{ii}^2 + \sum b_{ij} X_i X_j \quad [1]$$

где b_0 представља одсечак, b_i представља линеарни коефицијент, b_{ii} квадратни коефицијент и b_{ij} коефицијент интеракције. Променљиве и њихови опсези су: X_1 -млечна маст (0,80, 1,60 и 2,80%) и X_2 -температура ферментације (37-43 °C, интервал вредности 3 °C).

Статистичка и графичка анализа података су изведене коришћењем програма Statistica 9.1 (StatSoft, USA) (STATISTICA, 2010) (94). Уношењем одзива као функције два фактора дошло се до графичких података одзивних површина. Графички подаци су генерисани коришћењем истог софтвера.

За одређивање оптималних вредности процесних променљивих примењена је метода жељене (тражене) функције (Design-Expert 7.1.6, 2002) (95).

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

4.1. КАРАКТЕРИСТИКЕ МЛЕКА

У табели 2 су приказане физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав млека коришћеног за производњу ферментисаних млечних производа.

Табела 2: Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав млека

карактеристика	узорак млека		
	М2,8	М1,6	М0,8
вредност рН	6,68±0,02	6,59±0,01	6,45±0,03
киселост (°SH)	6,20±0,03	6,40±0,05	6,33±0,04
сува материја (%)	11,72±0,04	10,50±0,02	9,92±0,01
пепео (%)	0,71±0,02	0,72±0,03	0,72±0,05
млечна маст (%)	2,80±0,01	1,60±0,02	0,80±0,03
протеини (%)	3,35±0,02	3,37±0,02	3,31±0,03
лактоза (%)	4,45±0,05	4,45±0,02	4,29±0,03

Резултати представљени у табели 2, а који се односе на млечну маст и протеине, указују да сви узорци млека испуњавају услове дате у тренутно актуелном Правилнику о квалитету производа од млека и стартер култура (у даљем тексту Правилник), у оквиру Захтева квалитета, члан 10 и члан 11 (96).

Порастом садржаја млечне масти узорака, расте и садржај суве материје. Садржај пепела свих узорака је био приближно исти и у просеку је износио 0,72%. Састав млека је подложен константним променама зависно од на пример узгоја, стратегије храњења, као и држања крава, фазе лактације и годишњег доба (97). Вредност рН, киселост, садржај суве материје, пепела и лактозе узорака млека су у складу са литературним подацима (30, 32, 67).

4.2. КАРАКТЕРИСТИКЕ ИНОКУЛУМА КОМБУХЕ

У табели 3 су дате карактеристике инокулума комбухе коришћених за ферментацију млека, односно добијање ферментисаних млечних производа.

Табела 3: Карактеристике инокулума комбухе

карактеристика	узорак инокулума комбухе			
	РИ	НИ	КИ	МДИ
вредност рН	4,13±0,03	3,22±0,05	2,85±0,04	3,38±0,05
сува материја (%)	7,12±0,04	6,78±0,03	6,13±0,05	6,63±0,03
пепео (%)	0,01±0,04	0,02±0,04	0,02±0,03	0,01±0,05
укупан број квасаца (број ћелија/mL супстрата)	2,00x10 ⁵	1,45x10 ⁵	3,80x10 ⁵	3,15x10 ⁵
укупан број бактерија (број ћелија/mL супстрата)	3,20x10 ⁵	1,87x10 ⁵	4,61x10 ⁵	6,69x10 ⁵

На основу резултата добијених за вредност рН (табела 3) може се уочити да је најнижу вредност рН (2,85) имао узорак КИ, а највишу (4,13) узорак РИ. Вредност рН узорка НИ је износила 3,22, док је рН узорка МДИ био 3,38. Наведене разлике у вредности рН узорака су последица различите метаболичке активности комбухе култивисане на одговарајућим биљним чајевима, односно разлике у хемијском саставу коришћених биљних чајева.

Највишу вредност садржаја суве материје (7,12%) је имао узорак РИ, а најнижу (6,13%) узорак КИ. Садржај суве материје узорка НИ је износила 6,78%, док је у узорку МДИ наведена вредност била 6,63%. Садржај пепела свих узорака инокулума комбухе је био приближно исти и у просеку је износио 0,015% (табела 3). Резултати добијени за садржај суве материје и пепела у складу су са резултатима карактеристичним за велики број лабораторијских понављања за овај тип узорака, односно у складу су са добром лабораторијском праксом (енгл. good laboratory practice, GLP).

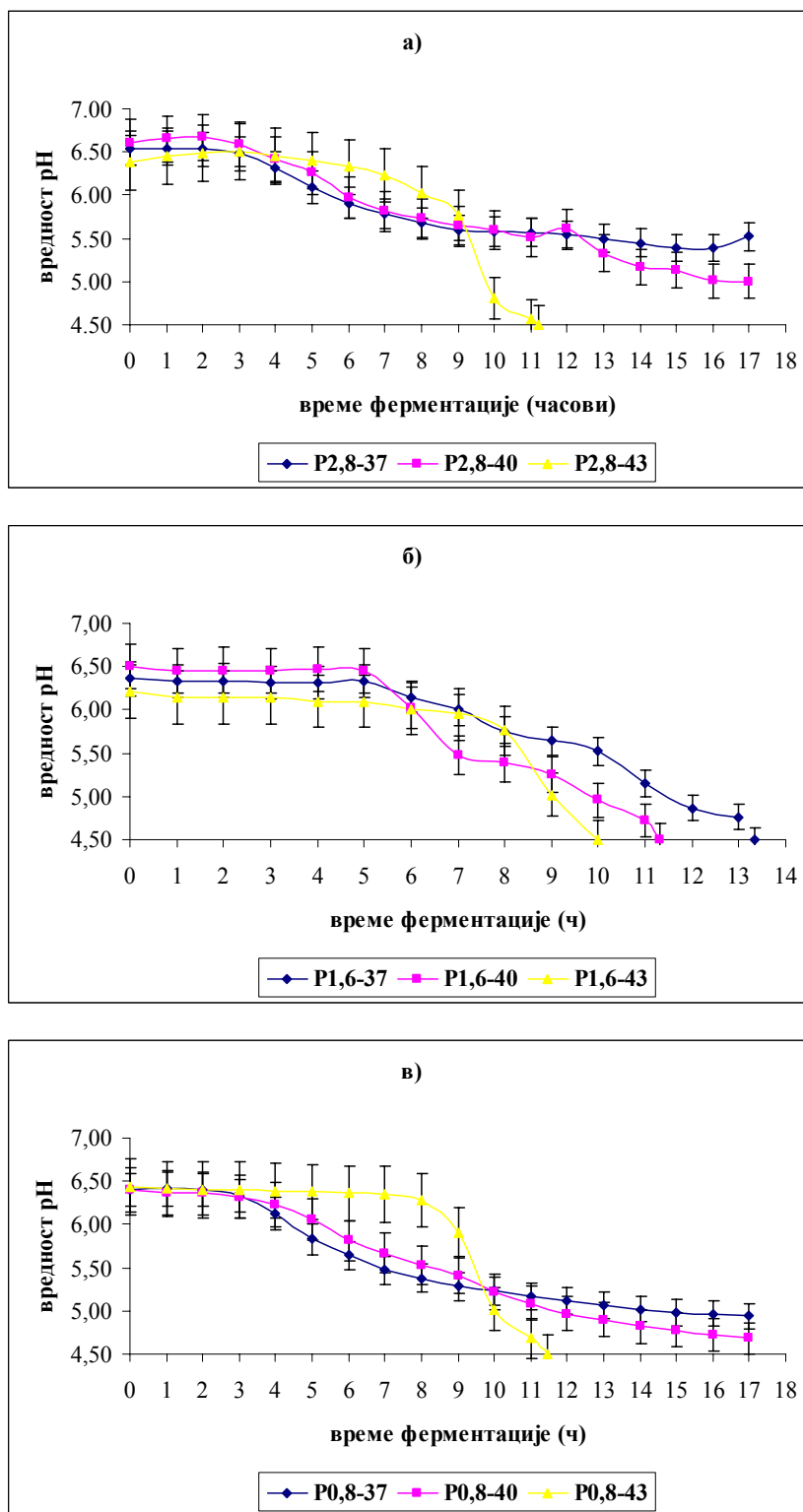
Према резултатима приказаним у табели 3, а који се односе на укупан број квасаца и укупан број бактерија, види се да је највећи број квасаца утврђен у узорку КИ (3,80x10⁵ ћелија/mL супстрата). Највећи број бактерија је одређен у узорку МДИ (6,69x10⁵ ћелија/mL супстрата). Најмањи број квасаца и бактерија је у узорку НИ и износи 1,45x10⁵ ћелија квасаца/mL супстрата, односно 1,87x10⁵ ћелија бактерија/mL супстрата. У свим узорцима је број бактерија већи у односу на број квасаца. У поређењу са бројем микроорганизама, установљеним у претходном истраживању (40), може се закључити да је број квасаца и број бактерија нешто виши. Осим тога, из резултата рН и броја микроорганизама (табела 3) се примећује да је метаболизам комбухе приликом припреме инокулума био значајно интензивнији на супстратима са чајем од коприве и мајчине душице.

4.3. ПРОМЕНЕ ВРЕДНОСТИ рН ТОКОМ ФЕРМЕНТАЦИЈЕ МЛЕКА

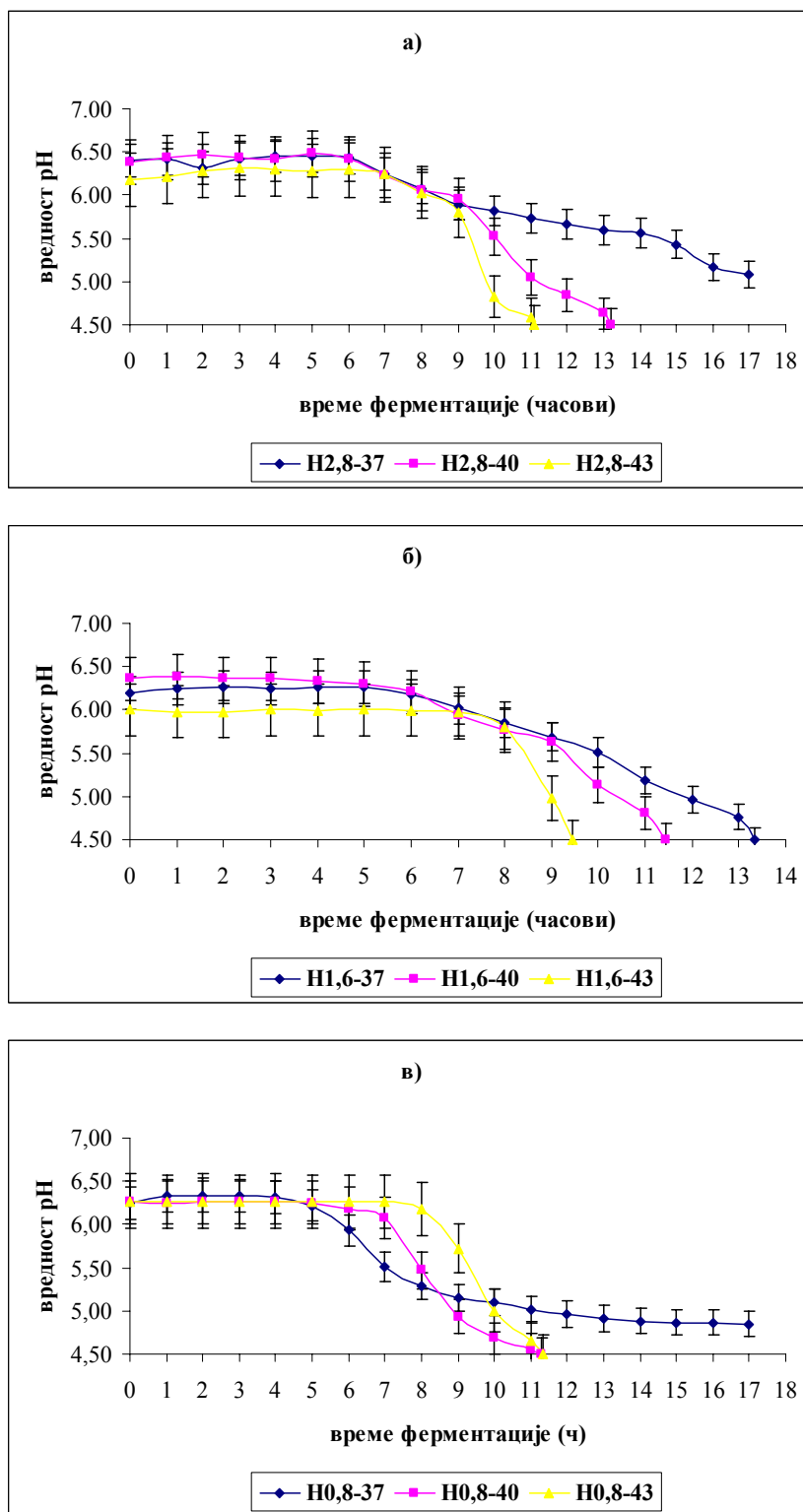
Ток ферментације млека, у производњи ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе, представљен је на сликама 15-18.

Процес ферментације је заустављен након достизања вредности рН од 4,5 или најдуже до 17 часова трајања. Вредност рН од 4,5 је карактеристична за заустављање ферментације у технолошком процесу производње јогурта и кефира. На овој вредности рН је формиран тродимензионални протеински матрикс, односно млечни гел (70). Време од 17 часова је одабрано због техно-економске неисплативости процеса који би трајао дуже, од овог времена.

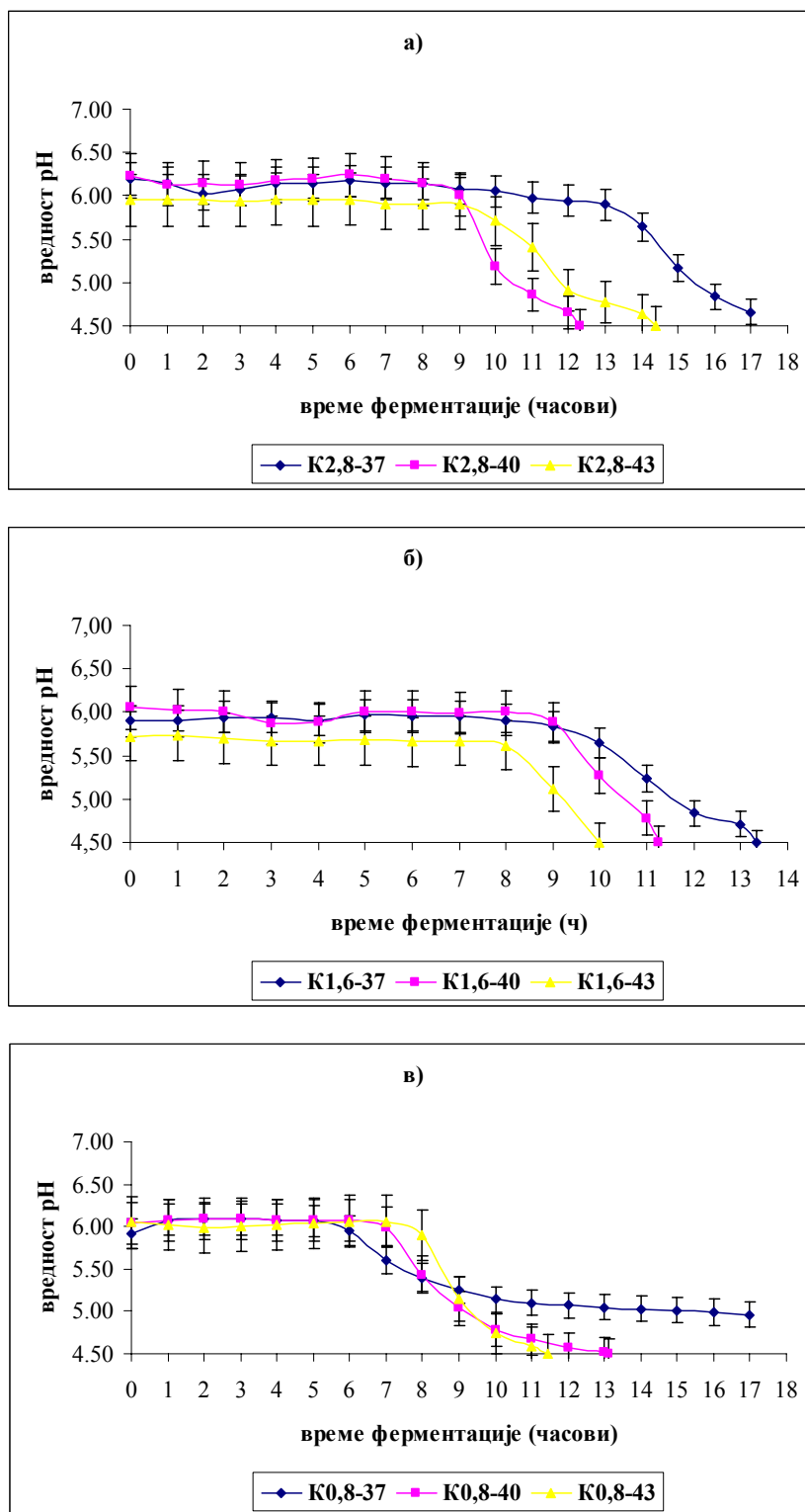
Добијени резултати (слике 15-18) показују да је у случају производње узорака Р2,8-37, Р2,8-40, Р0,8-37, Р0,8-40, Н2,8-37, Н0,8-37, К2,8-37, К0,8-37, МД2,8-37 и МД0,8-37 процес ферментације заустављен након 17 часова, јер се није формирао гел. Вредности рН узорака су у том тренутку износиле 5,52, 5,00, 4,94, 4,68, 5,08, 4,85, 4,66, 4,96, 4,81 и 4,79, редом. Сви претходно наведени узорци су непотпуно ферментисани млечни производи, анализа ових узорака је урађена, али резултати нису приказани у даљем тексту, нити су детаљније дискутовани.



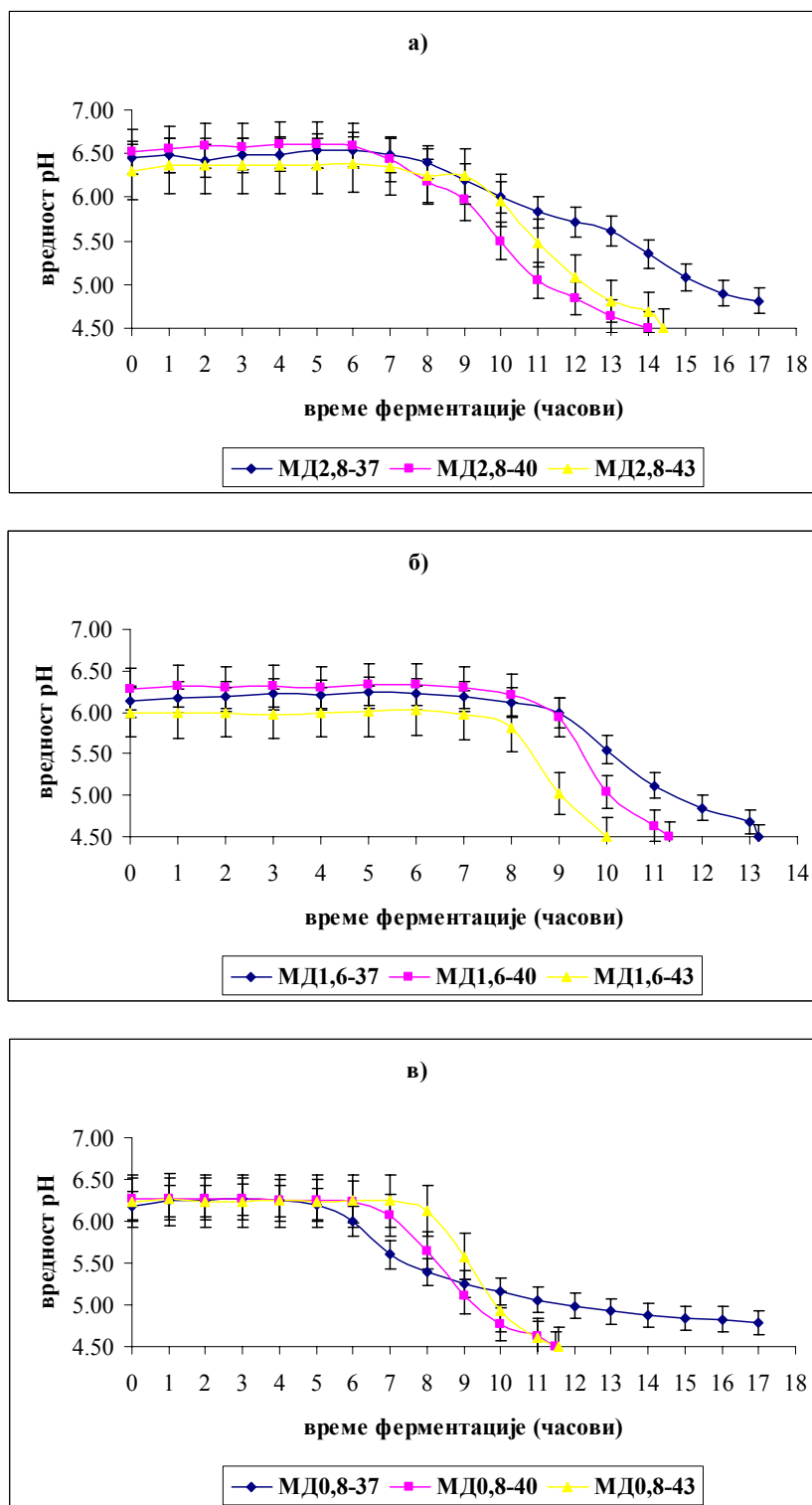
Слика 15: Ток ферментације млека у производњи ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају, на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 16: Ток ферментације млека у производњи ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане, на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 17: Ток ферментације млека у производњи ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве, на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 18: Ток ферментације млека у производњи ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице, на температури 37, 40 и 43°C: а) М2,8; б) М1,6; в) М0,8

Токови ферментације приказани на сликама 15-18 указују да су превасходно најкраће биле ферментације изведене на 43°C, без обзира на коришћени инокулум и садржај млечне масти полазног млека. Изузетак су узорци Н0,8-40, К2,8-40, МД2,8-40 и МД0,8-40 чије су ферментације биле брже за 6 (слика 16в), 2 часа 10мин (слика 17а), 40 односно 5 мин (слика 18а, в), у односу на одговарајуће производе добијене на 43°C.

Када се посматра утицај млечне масти, јасно је да су, без обзира на инокулум и температуру, најбрже ферментације М1,6 (слике 15-18, под б). Група производа добијена коришћењем РИ и НИ на 43°C, те КИ на 40°C је имала ток ферментације који је био бржи у случају М2,8 (слике 15-17, под а) него М0,8 (слике 15-17, под в). Када се ради о производњи узорака додатком НИ и МДИ на 40°C, те КИ и МДИ на 43°C ферментације М0,8 (слике 16-18, под в) су биле краће од ферментација М2,8 (слике 16-18, под а).

Ферментације узорака Р1,6-37, Н1,6-37, К1,6-37 и МД1,6-37 су трајале 13 часова 35 мин, 13 часова 50 мин, 13 часова 35 мин и 13 часова 20 мин, редом. Најкраћа је била ферментација узорка Н1,6-43 (9 часова 45 мин), а најдужа узорака К2,8-43 и МД2,8-43 (14 часова 40 мин).

Процес ферментације добијених ферментисаних млечних производа, када се посматра утицај примењеног инокулума на основу просечног времена трајања, указује на следеће: најбрже су изведене ферментације применом РИ (11 часова 40 мин), затим следе ферментације НИ (12 часова 10 мин), те ферментације изведене коришћењем КИ (12 часова 29 мин) и МДИ (12 часова 46 мин) (слике 15-18).

Облик криве тока ферментације узорака који су достигли рН 4,5 је сигмоидалан и карактеристичан за ферментацију овог типа производа (29-30).

Дужина производње узорака добијених помоћу додатка 10% инокулума комбухе култивисане на црном чају, из млека са 0,9% (32) и из млека са 0,9 и 2,2% (30) млечне масти, на температури од 42°C, износиле су 11, односно 9 часова, редом. Производња изведена у овом истраживању, која би се могла упоредити са претходно наведеним литературним подацима, јесте она изведена на 43°C, применом млека са 0,8% млечне масти. Дужина ферментације узорака Р0,8-43, Н0,8-43, К0,8-43 и МД0,8-43 је износила 11 часова 45 мин, 11 часова 35 мин, 11 часова 45 мин и 11 часова 55 мин.

Дуже време ферментације у случају добијања ферментисаних млечних производа помоћу комбухе култивисане на чајевима од лековитог биља, у односу на производе добијене помоћу комбухе култивисане на црном чају, може се приписати хемијском саставу чајева коришћених за производњу инокулума комбухе. Добро су познати антимикуробни ефекти свих лековитих биљака коришћених у овом истраживању. Присуство терпена, флавоноида и других једињења у биљним чајевима је могло да има утицај на микроорганизме који су

одговорни за процес ферментације при добијању ферментисаних млечних производа (11, 56, 61, 63, 69-70). Могући разлог временски краћи ферментација млека изведених додатком комбухе култивисане на црном чају је и минерални састав црног чаја.

4.4. ФИЗИЧКО-ХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ И ХЕМИЈСКИ САСТАВ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

У табелама 4-7 су дате физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе.

Вредности рН узорака Р2,8-43, Р1,6-37, Р1,6-40, Р1,6-43, Р0,8-43, Н2,8-40, Н2,8-43, Н1,6-37, Н1,6-40, Н1,6-43, Н0,8-40, Н0,8-43, К2,8-40, К2,8-43, К1,6-37, К1,6-40, К1,6-43, К0,8-40, К0,8-43, МД2,8-40, МД2,8-43, МД1,6-37, МД1,6-40, МД1,6-43, МД0,8-40 и МД0,8-43 које износе 4,45, 4,52, 4,39, 4,20, 4,39, 4,51, 4,45, 4,56, 4,41, 4,22, 4,20, 4,37, 4,55, 4,52, 4,49, 4,29, 4,27, 4,18, 4,35, 4,53, 4,45, 4,50, 4,23, 4,20, 4,23 и 4,36, редом, указују да они задовољавају Захтеве квалитета дате у Правилнику (96), а који се односе на јогурт (члан 14) и кефир (члан 17) (табеле 4-7).

Киселост ферментисаних млечних производа је била у распону од 28,20 (МД2,8-43) (табела 7) до 38,00°SH (К0,8-43) (табела 6).

Највишу киселост су имали производи добијени из М0,8, на највишој температури ферментације, а она је износила од 36,60 (Р0,8-43 и Н0,8-43) (табеле 4-5) до 38,00°SH (К0,8-43) (табела 6). Пораст температуре доводи до пораста киселости код свих производа, уз изузетак К1,6-40 и К1,6-43 чија киселост износи 32,80, односно 31,00°SH (табела 6), и узорака МД2,8-40 и МД2,8-43 чија је киселост 33,00, односно 28,20°SH (табела 7).

Снижење млечне масти доводи до пораста киселости, код све четири групе производа, с тим што производи Р2,8-43 и Р1,6-43 имају исту киселост (29,80°SH) (табела 4).

Инокулум није показао значајан утицај на киселост и просечне вредности, без обзира на температуру и млечну маст, су биле од 31,63 (НИ) (табела 5) до 32,20°SH (КИ) (табела 6).

Пораст температуре је довео до пораста суве материје производа добијених додатком НИ и МДИ из М2,8 и М0,8, те применом КИ из М2,8 и РИ из М1,6. Тренд је био супротан у случају производа добијених коришћењем КИ

из М0,8. Сува материја је опала порастом температуре, с тим што је најнижа вредност измерена у производима добијеним на 40°C, додатком НИ, КИ и МДИ.

Табела 4: Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају

карактеристика	узорак ферментисаног млечног производа				
	Р2,8-43	Р1,6-37	Р1,6-40	Р1,6-43	Р0,8-43
вредност рН	4,45±0,03	4,52±0,03	4,39±0,03	4,20±0,03	4,39±0,04
киселост (°SH)	29,80±0,03	29,90±0,06	30,80±0,06	29,80±0,04	35,60±0,03
сува материја (%)	11,42±0,03	10,24±0,05	10,43±0,03	10,53±0,03	9,88±0,04
пепео (%)	0,62±0,04	0,67±0,03	0,67±0,05	0,66±0,04	0,69±0,05
млечна маст (%)	2,64±0,03	1,54±0,03	1,54±0,04	1,54±0,03	0,66±0,03
протеини (%)	2,46±0,07	2,53±0,06	2,43±0,07	2,51±0,08	2,52±0,07
лактоза (%)	3,41±0,09	3,77±0,07	3,73±0,08	3,63±0,07	3,65±0,06

Сува материја је опадала са снижењем млечне масти полазног млека, и била је највиша у узорцима добијеним из М2,8. Кретала се у опсегу од 10,89% (МД2,8-40) до 11,60% (МД2,8-43) (табела 7).

Најнижу суву материју је имао производ Н1,6-40 (9,56%) (табела 5), што га чини изузетком у односу на претходно описану зависност.

Када се посматрају средње вредности суве материје, не узимајући у обзир температуру и млечну маст, већ само утицај инокулума, јасно је да се вредности крећу од 10,23% (НИ) (табела 5) до 10,50% (РИ) (табела 4) и да инокулум нема утицај на суву материју.

Резултати приказани у табелама 4-7 указују да на садржај пепела, протеина и лактозе свих ферментисаних млечних производа утицај није имао ни један од испитаних фактора: млечна маст, температура и инокулум. Вредност пепела се кретала од 0,61% (Н2,8-43) до 0,69% (Р0,8-43, Н0,8-43 и МД0,8-43), протеина од 2,35% (Н1,6-40) до 2,78% (К0,8-40 и МД0,8-40), а лактозе од 3,37% (Н2,8-43) до 4,06% (К0,8-40).

Резултати који се односе на садржај млечне масти добијених производа, приказани у табелама 4-7, указују да је њена вредност зависила једино од садржаја млечне масти коришћеног млека. Млечна маст узорака произведених из М2,8 је износила 2,64%, млечна маст узорака произведених из М1,6 је износила 1,54%, док је млечна маст узорака произведених из М0,8 износила 0,66%.

На основу свих претходно изложених резултата, узимајући у обзир средње вредности испитаних карактеристика, може се закључити да је киселост добијених производа значајно виша у односу на киселост млека, као последица деловања инокулума комбухе. Сува материја и пепео ферментисаних млечних

производа је незнатно нижи у односу на вредности добијене за млеко. Садржај млечне масти је такође био нижи у односу на садржај млечне масти млека, и у случају узорак произведених из М2,8 разлика износи 5,71%, за узорке добијене из М1,6 она износи 3,75%, док је у случају производа добијених из М0,8 разлика значајна и износи 17,50%. Садржај протеина је нижи у производима у односу на млеко за око 22,39%, док је садржај лактозе нижи за око 13,95%.

Резултати овог истраживања, који се односе на производе добијене из млека са 0,8% млечне масти, на температури ферментације од 43°C, добијени за киселост, пепео, протеине и лактозу, у корелацији су са литературом (30), а односе се на производе добијене из млека 0,9% млечне масти, на температури од 42°C. Садржај суве материје и млечне масти је нешто нижи у поређењу са литературним подацима (30, 32). Садржај протеина је нижи у односу на податке других аутора (32).

Табела 5: Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбуче култивисане на чају од нане

карактеристика	узорак ферментисаног млечног производа						
	Н2,8-40	Н2,8-43	Н1,6-37	Н1,6-40	Н1,6-43	Н0,8-40	Н0,8-43
вредност рН	4,51±0,02	4,45±0,03	4,56±0,04	4,41±0,02	4,22±0,02	4,20±0,03	4,37±0,02
киселост (°SH)	30,80±0,05	32,00±0,06	27,00±0,04	30,40±0,03	30,80±0,02	34,80±0,04	35,60±0,03
сува материја (%)	11,17±0,03	11,49±0,05	9,86±0,06	9,56±0,05	10,11±0,04	9,69±0,04	9,74±0,04
пепео (%)	0,67±0,05	0,61±0,04	0,67±0,09	0,67±0,06	0,66±0,05	0,67±0,02	0,69±0,03
млечна маст (%)	2,64±0,04	2,64±0,03	1,54±0,05	1,54±0,02	1,54±0,06	0,66±0,04	0,66±0,07
протеини (%)	2,42±0,07	2,66±0,04	2,54±0,05	2,35±0,04	2,46±0,02	2,74±0,08	2,66±0,04
лактоза (%)	3,73±0,07	3,37±0,02	3,69±0,07	3,85±0,06	3,87±0,04	3,97±0,05	3,89±0,04

Табела 6: Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве

карактеристика	узорак ферментисаног млечног производа						
	К2,8-40	К2,8-43	К1,6-37	К1,6-40	К1,6-43	К0,8-40	К0,8-43
вредност рН	4,55±0,04	4,52±0,05	4,49±0,05	4,29±0,04	4,27±0,05	4,18±0,04	4,35±0,05
киселост (°SH)	28,40±0,05	28,80±0,04	30,40±0,04	32,80±0,07	31,00±0,06	36,00±0,05	38,00±0,04
сува материја (%)	11,07±0,04	11,31±0,05	10,33±0,08	10,11±0,07	10,20±0,04	9,77±0,06	9,74±0,07
пепео (%)	0,67±0,06	0,63±0,08	0,65±0,09	0,66±0,05	0,67±0,04	0,65±0,06	0,67±0,04
млечна маст (%)	2,64±0,05	2,64±0,04	1,54±0,04	1,54±0,04	1,54±0,05	0,66±0,06	0,66±0,04
протеини (%)	2,74±0,04	2,54±0,04	2,42±0,11	2,50±0,09	2,55±0,10	2,78±0,05	2,60±0,07
лактоза (%)	3,96±0,09	3,86±0,08	3,91±0,05	3,98±0,04	3,85±0,04	4,06±0,07	3,89±0,04

Табела 7: Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

карактеристика	узорак ферментисаног млечног производа						
	МД2,8-40	МД2,8-43	МД1,6-37	МД1,6-40	МД1,6-43	МД0,8-40	МД0,8-43
вредност рН	4,53±0,04	4,45±0,04	4,50±0,04	4,23±0,04	4,20±0,04	4,23±0,04	4,36±0,04
киселост (°SH)	33,00±0,06	28,20±0,04	28,60±0,04	31,80±0,07	32,20±0,04	34,20±0,04	36,40±0,06
сува материја (%)	10,89±0,04	11,60±0,05	10,31±0,06	9,96±0,05	10,10±0,04	9,73±0,04	9,79±0,04
пепео (%)	0,68±0,04	0,62±0,06	0,67±0,09	0,68±0,07	0,66±0,05	0,67±0,04	0,69±0,08
млечна маст (%)	2,64±0,04	2,64±0,04	1,54±0,05	1,54±0,05	1,54±0,05	0,66±0,05	0,66±0,06
протеини (%)	2,74±0,09	2,42±0,05	2,60±0,04	2,46±0,07	2,60±0,06	2,78±0,09	2,58±0,04
лактоза (%)	3,50±0,07	3,63±0,05	3,85±0,09	3,89±0,06	3,89±0,04	3,99±0,05	3,83±0,04

Ниже вредности физичко-хемијских параметара утврђене за ферментисане млечне производе, а у поређењу са млеком, могу се приписати разблажењу јер се млеко инокулира са 10% ферментационе течности комбухе, као и самом процесу ферментације, односно метаболизму протеина, угљених хидрата и млечне масти.

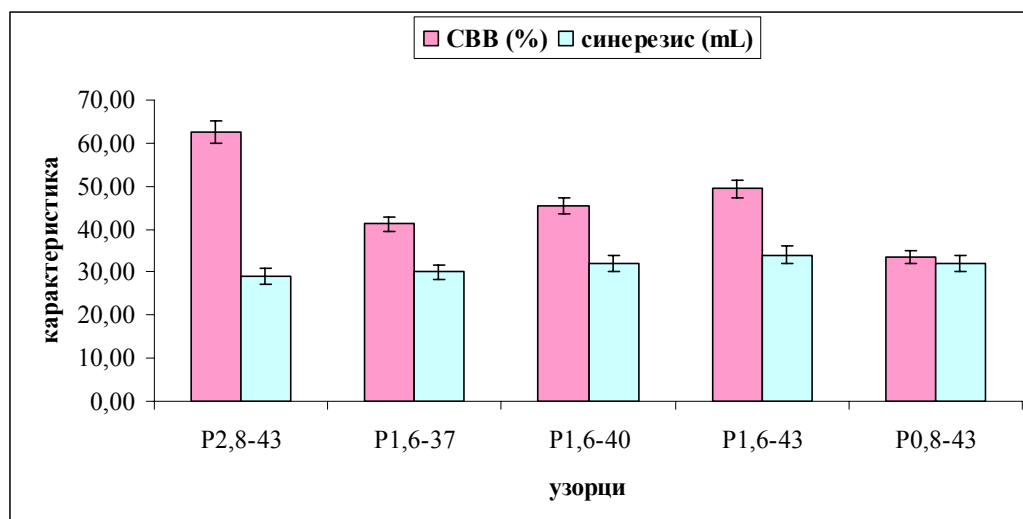
4.5. ФИЗИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

Физичке карактеристике (способност везивања воде (СВВ) и синерезис) су врло значајне за квалитет ферментисаних млечних производа. Важне су за његову одрживост током периода складиштења, као и за прихватљивост од стране крајњег потрошача.

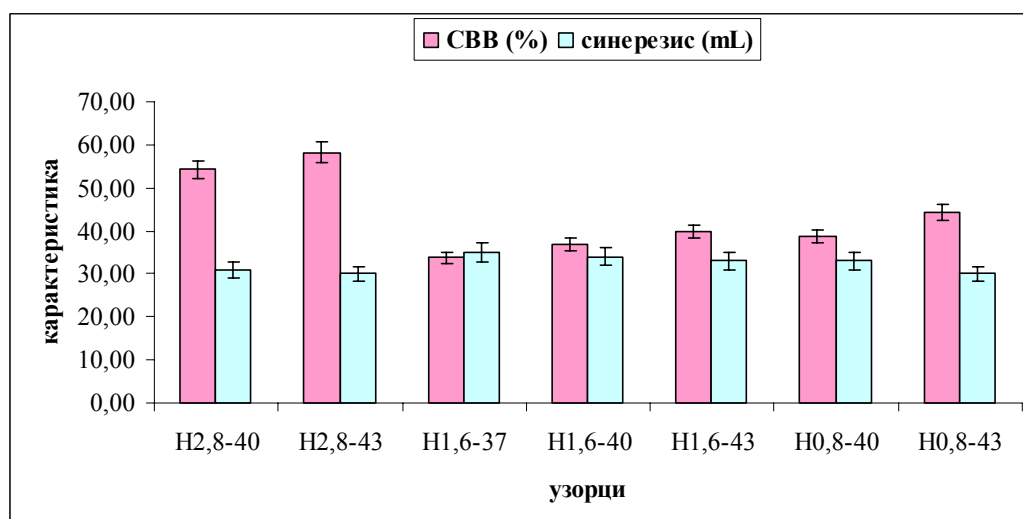
На СВВ највише утичу физичко-хемијски параметри који директно утичу на протеине и особине површине њихових молекула. СВВ не зависи само од величине пора и капилара него и од наелектрисања молекула протеина (хидрофобних интеракција, водоничних веза, S-S веза, киселина, база и цвитер јона, Ван дер Валсових сила). На протеине утичу и јонске врсте, јонска јачина раствора, рН, температура и време потребно за постизање равнотеже система протеин/вода. Супстанце мале молекулске масе (лактоза и минералне соли) такође имају значајан утицај на СВВ неких протеина. СВВ потиче од различитих успостављених умрежених структура протеина, које имобилизују воду (98). Више вредности СВВ указују на бољи квалитет производа.

Синерезис сурутке је спонтана контракција формираног гела без примене било какве спољашње силе и везан је за нестабилност мреже гела резултујући губитком способности да уклопи сву сурутку (99). Током синерезиса, сурутка пролази кроз протеински матрикс, што се објашњава Дарсијевим законом. Пермеабилност гела има значајан утицај на интензитет синерезиса. Пермеабилност расте током коагулације. Дати параметар зависи од неколико фактора, као што су степен умрежености груша, концентрација казеина и температура. Повећањем рН и концентрације казеина опада пермеабилност и синерезис, док повећање температуре изазива супротан ефекат (100). Већа количина издвојене сурутке је резултат формирања слабих веза у протеинском матриксу при чему се добија нехомоген и нетипичан гел ферментисаног млечног производа (92).

На сликама 19-22 су приказани СВВ и синерезис ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе.



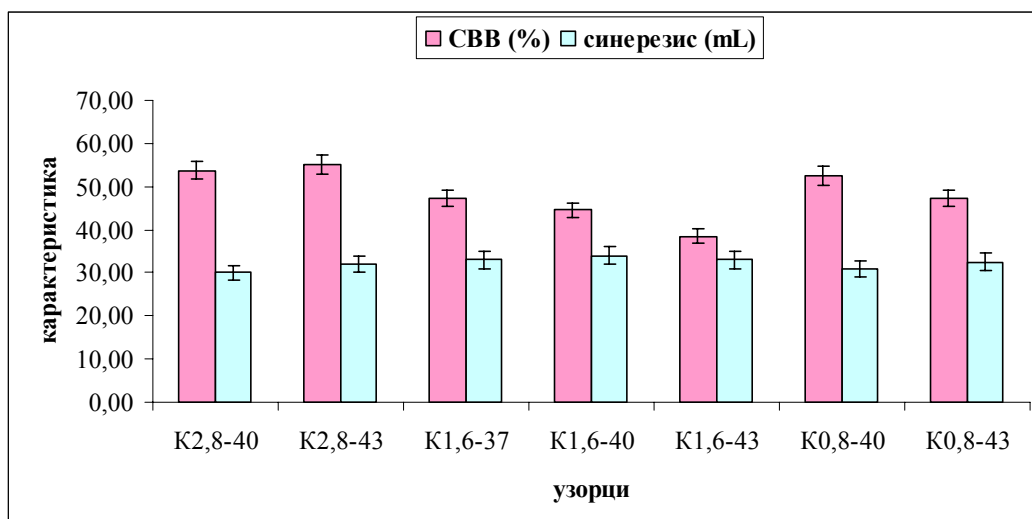
Слика 19: СВВ и синерезис ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају



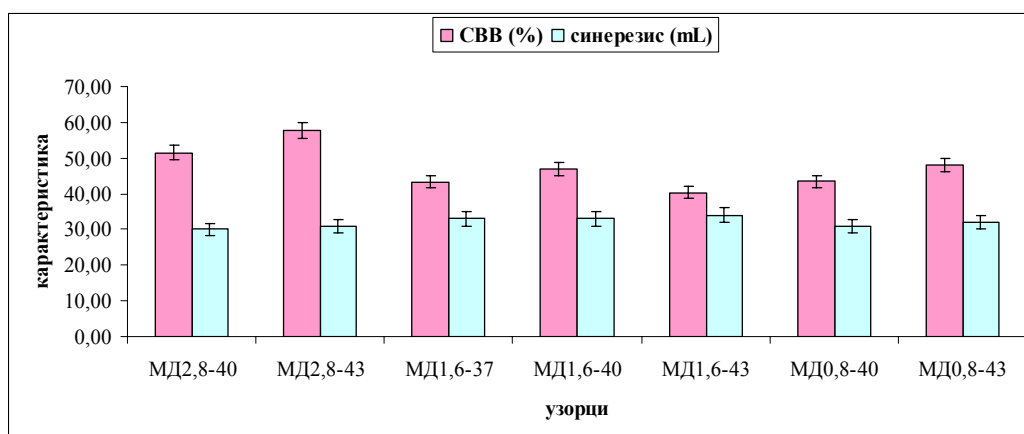
Слика 20: СВВ и синерезис ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане

Порастом температуре ферментације дошло је до пораста вредности СВВ и синерезиса, код узорка добијених додатком РИ и НИ (слике 19 и 20). Иста зависност се уочава поређењем СВВ узорка К2,8-40 и К2,8-43 (слика 21), као и узорка МД2,8-40 и МД2,8-43, те узорка МД0,8-40 и МД0,8-43 (слика 22), што се може приписати бољој интеракцији протеина и формирању одговарајућих веза, на вишим температурама. СВВ узорка К1,6-37, К1,6-40 и К1,6-43, као и К0,8-40 и К0,8-43 је показала тренд опадања ове вредности, у случају пораста температуре (слика 21). Производи добијени коришћењем МДИ из М1,6 су имали највишу вредност СВВ на температури 40°C, а најнижу на температури 43°C (слика 22).

На СВВ утицај је имао и садржај млечне масти млека из кога су производи добијени.



Слика 21: СВВ и синерезис ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве



Слика 22: СВВ и синерезис ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

Просечне вредности указују да је највиши СВВ био код производа добијених из М2,8. Када се ради о групи производа добијених додатком РИ (слика 19), СВВ је опао снижењем садржаја млечне масти, док је код остале три групе производа овај тренд био супротан (снижењем млечне масти млека, дошло је до пораста СВВ) (слике 20-22).

Највишу СВВ је имао узорак Р2,8-43 (62,56%), а најнижу Р0,8-43 (33,50%) (слика 19).

Узимајући у обзир само утицај додатог инокулума, посматрајући средње вредности, види се да су највишу СВВ имали производи добијени применом КИ (49,26%), МДИ (47,95%), РИ (45,32%), те НИ (44,87%) (слике 19-22).

Код узорака добијених уз додаток РИ, пораст температуре ферментације је довео до пораста синерезиса, што је у складу са литературом

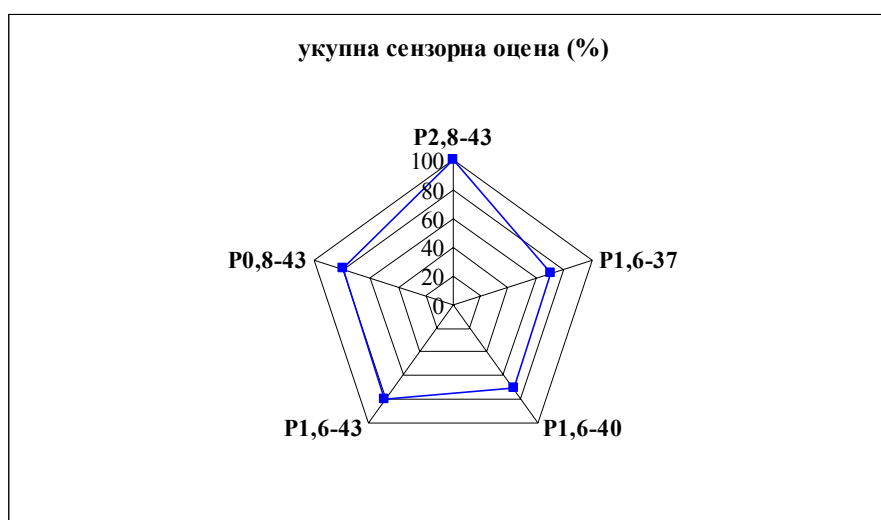
(100). У преостале три групе производа (произведене коришћењем НИ, КИ и МДИ) температура ферментације није показала утицај на ову карактеристику.

Када се посматрају резултати синерезиса сурутке добијених ферментисаних млечних производа види се да се вредности крећу у интервалу од 29,00 (P2,8-43) (слика 19) до 35,00 mL (H1,6-37) (слика 20). На основу добијених резултата се може закључити да сви испитани параметри (инокулум комбухе, садржај млечне масти млека и температура ферментације) немају изражен утицај на ову карактеристику.

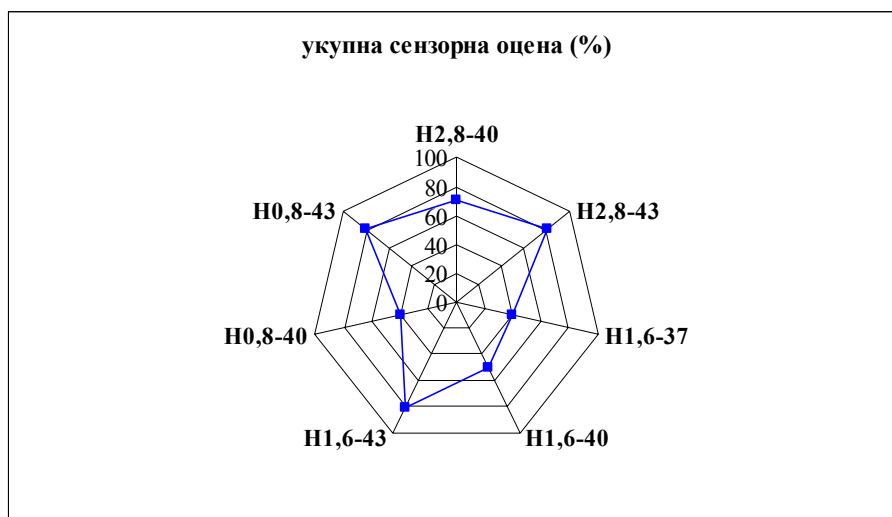
Вредности СВВ и синерезиса производа добијених на 43°C из M0,8 су у корелацији са вредностима ових карактеристика добијених од стране појединих аутора (30), за производе добијене на 42°C из млека са 0,9% млечне масти.

4.6. СЕНЗОРНА ОЦЕНА ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

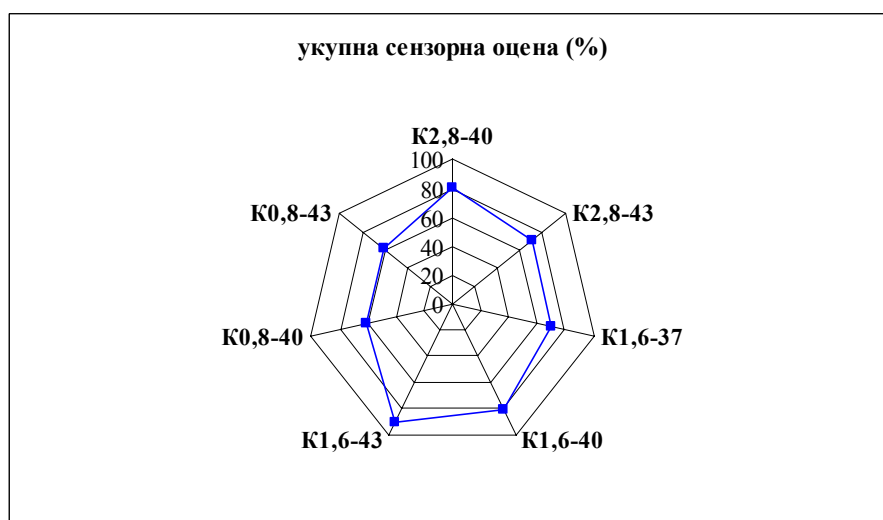
На сликама 23-26 су приказани резултати сензорне оцене ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе.



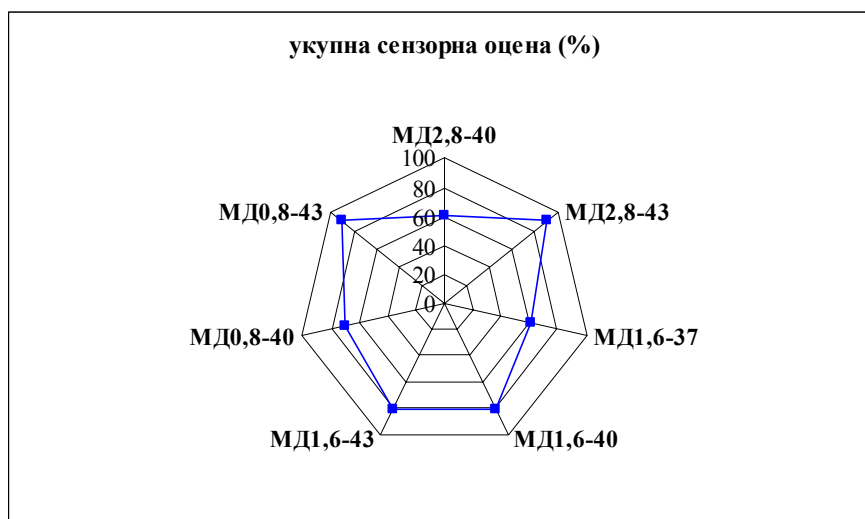
Слика 23: Укупна сензорна оцена ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају



Слика 24: Укупна сензорна оцена ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане



Слика 25: Укупна сензорна оцена ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве



Слика 26: Укупна сензорна оцена ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

Пораст температуре ферментације је довео до виших сензорних оцена производа добијених додатком РИ, НИ и МДИ (слике 23-24, 26), те КИ (слика 25), али само када је коришћено М1,6. У случају М2,8 сензорна оцена се разликовала за 10% и износила је 80 (К2,8-40), односно 70% (К2,8-43). Производи К0,8-40 и К0,8-43 су имали исту сензорну оцену, која је износила 60% (слика 25). Разлог високе оцене узорка К2,8-37 лежи у чињеници да је вредност рН у тренутку заустављања ферментације износила 4,66. У процесу производње јогурта, у рН интервалу 5,3-4,6, долази до промена које воде ка агрегацији казеинских мицела при чему партикуле постају веће од нативних мицела (92). Вредност рН при обављању сензорне оцене је износила 4,60. На претходно наведеној вредности рН узорак се може сматрати ферментисаним млечним производом.

Садржај млечне масти је имао утицај на сензорну оцену и просечне вредности указују да су са њеним смањењем узорци били лошије оцењени, с тим што су најниже сензорне оцене имали производи добијени из М1,6, у све четири групе производа.

Највишу укупну сензорну оцену је имао узорак Р2,8-43 (100%) (слика 23), а најнижу производи Н1,6-37 и Н0,8-40 (40%) (слика 24).

Узимајући у обзир утицај инокулама, а посматрајући средњу вредност сензорне оцене, закључује се да су најбоље сензорно оцењени узорци произведени применом РИ (80,00%) (слика 23), затим МДИ (76,11%) (слика 26), КИ (71,67%) (слика 25), док су најлошије оцењени производи добијени применом НИ (63,89%) (слика 24).

За већину производа, који су добро оцењени, је карактеристично да имају благ укус, типичну боју, без издвојене сурутке, арому биљног чаја и да

подсећају на кефир или јогурт. Можда је више оправдано поредити ове производе са кефиром, узимајући у обзир starter који садржи и бактерије и квасце. С тога, ради се о производима који су по типу ферментације слични кефиру (хетероферментација), а поседују својствене сензорне карактеристике због комбуха-стартера са лековитим биљем.

4.7. МАСНЕ КИСЕЛИНЕ МЛЕКА И ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

Липиде млека чини 98% триглицерида, док преосталих 2% чине мале количине слободних масних киселина, моно- и диглицериди, фосфолипиди и стероли и угљоводоници (101). Главне масне киселине у млечној масти чине (97):

- засићене (бутерна, капронска, каприлна, капринска, лауринска, миристинска, палмитинска и стеаринска)
- незасићене (олеинска, линолна, линоленска и арахидонска)

У табели 8 су приказане масне киселине одређене применом методе описане у Поглављу 3.5.

Табела 8: Масне киселине обухваћене одређивањем у овом истраживању

ознака масне киселине	назив	ознака масне киселине	назив
C4:0	бутерна	C16:1	палмитолеинска
C6:0	капронска	C17:0	маргаринска
C8:0	каприлна	C17:0i	изо-маргаринска
C10:0	капринска	C17:0a	анти-изо-маргаринска
C11:0	ундеканска*	C17:1	хептадекенска*
C12:0	лауринска	C18:0	стеаринска
C13:0	тридеканска*	C18:1	олеинска
C14:0	миристинска	C18:1t ^B	елаидинска
C14:0i ^a	изо-миристинска	C18:1c ^Г	олеинска
C14:1	миристолеинска	C18:2	линолна
C15:0	пентадеканска*	C18:2t	линол-елаидинска
C15:0i	изо-пентадеканска*	C18:2c	линолна
C15:0a ^b	анти-изо-пентадеканска*	C18:3	линоленска
C15:1	пентадекенска*	C20:0	арахинска
C16:0	палмитинска	C20:1	гадолеинска
C16:0i	изо-палмитинска	C22:0	бехенска

^a изо

^b анти-изо

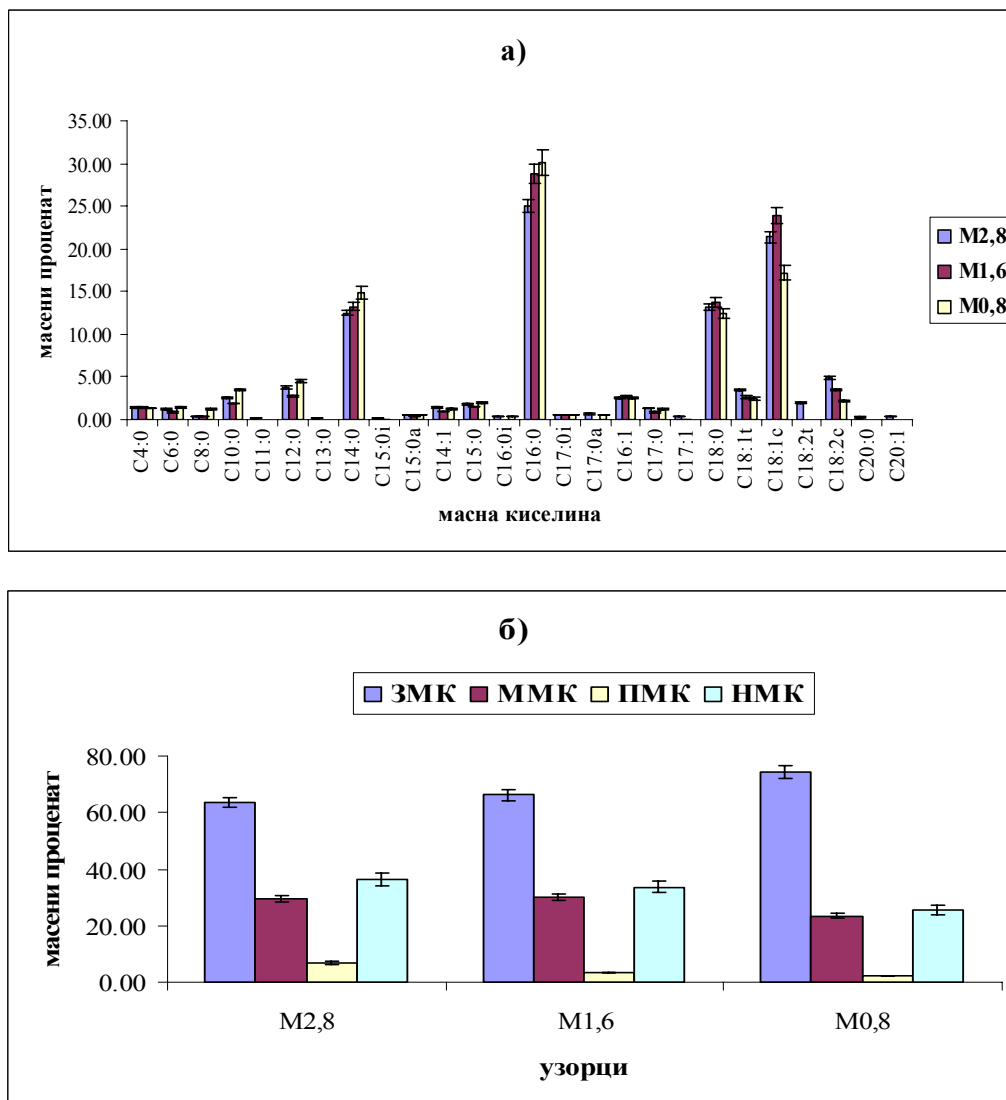
^B транс изомер

^Г цис изомер

*дати називи се односе на систематске називе, док сви остали представљају тривијалне (уобичајене) називе масних киселина

4.7.1. Садржај масних киселина млека

На слици 27 је приказан садржај масних киселина млека коришћеног за производњу ферментисаних млечних производа.



Слика 27: Садржај масних киселина млека: а) појединачне масне киселине; б) укупне масне киселине

На основу резултата датих на слици 27а, може се видети да су у највећој мери, у свим узорцима млека, заступљене палмитинска (просечан садржај 27,93%), олеинска (просечан садржај 20,81%), миристинска (просечан садржај 13,55%) и стеаринска (просечан садржај 13,10%) киселина. Садржај миристинске и палмитинске киселине расте опадањем садржаја млечне масти узорака млека. Стеаринска и олеинска киселина такође расту опадањем садржаја млечне масти узорака, изузев M0,8, код кога је садржај ових киселина био нижи. Све остале киселине су заступљене у знатно мањој мери у односу на претходно наведене масне киселине, испод 5%.

Резултати представљени на слици 27б указују на виши садржај засићених масних киселина (ЗМК) (просечан садржај 68,07%) у односу на незасићене (НМК) (просечан садржај 31,93%), при чему је садржај ЗМК растао опадањем садржаја млечне масти узорака млека, док су НМК опадале снижењем садржаја млечне масти узорака млека. Мононезасићене масне киселине (ММК) (просечан садржај 27,74%) су значајно више у односу на садржај полинезасићених масних киселина (ПМК) (просечан садржај 4,18%).

Тренд садржаја појединачних и укупних масних киселина млека је у складу са литературом (97, 102).

Различите студије (103-105) су доказале да су ЗМК са ланцима дужине C12:0-C16:0 атерогене, стеаринска киселина је неутрална, док олеинска и ПМК имају ефекат снижавања нивоа масти. Највиши садржај атерогених масних киселина је имао узорак M0,8 (49,48%), затим узорак M1,6 (44,74%), док је најнижи садржај заступљен у узорку M2,8 (41,30%). Олеинска киселина је била највиша у узорку M1,6 (23,87%), затим у узорку M2,8 (21,41%), док је најнижа била у узорку M0,8 (17,15%). Линолна киселина је опадала снижењем садржаја млечне масти узорака, и највиша је била у узорку M2,8 (4,87%) (слика 27а).

Збир садржаја кратколанчаних масних киселина (C4:0-C10:0) је био највиши у узорку M0,8 (7,45%), а најнижи у узорку M1,6 (4,47%). Наведене киселине су најзаступљеније у узорку M2,8 (5,56%). Бутерна, капронска, каприлна и капринска масна киселина су лако сварљиве, а нису атерогене. Разгранате масне киселине, изомери карактеристични за млеко и млечне производе (највећим делом се стварају у бурагу преживара), а присутни у малим концентрацијама, су биле у опсегу од 0,90 (M1,6) до 2,35% (M2,8), док је садржај наведених киселина узорка M0,8 је износио 2,00%. Наведени изомери представљају збир пет различитих киселина: изо и антиизо C15, изо и анти-изо C17 и изо C16.

На основу података о утицају различитих масних киселина на концентрацију серумског холестерола и концентрацију липопротеина велике густине, као и липопротеина мале густине, усвојен је атерогени индекс (енгл. atherogenic index, AI), као индикатор ризика липида у исхрани на кардиоваскуларне болести. AI је збир концентрација C12:0, C16:0 и 4xC14:0, подељен концентрацијом укупних НМК (106). На основу ове једначине, све НМК, без обзира на број њихових двоструких веза, положај или конфигурацију, сматрају се једнако ефикасним у смањењу ризика за атерогеност, првенствено због недостатка поузданих информација којима би се доделили одговарајући коефицијенти појединачним киселинама. Атерогени индекс узорака млека је растао са порастом садржаја млечне масти и износио 2,16 (M2,8), 2,51 (M1,6) и 3,69 (M0,8), што је и очекивано.

Претходно изложени резултати јасно показују да садржај млечне масти узорака млека има утицај на садржај испитаних масних киселина, као и на вредност атерогеног индекса.

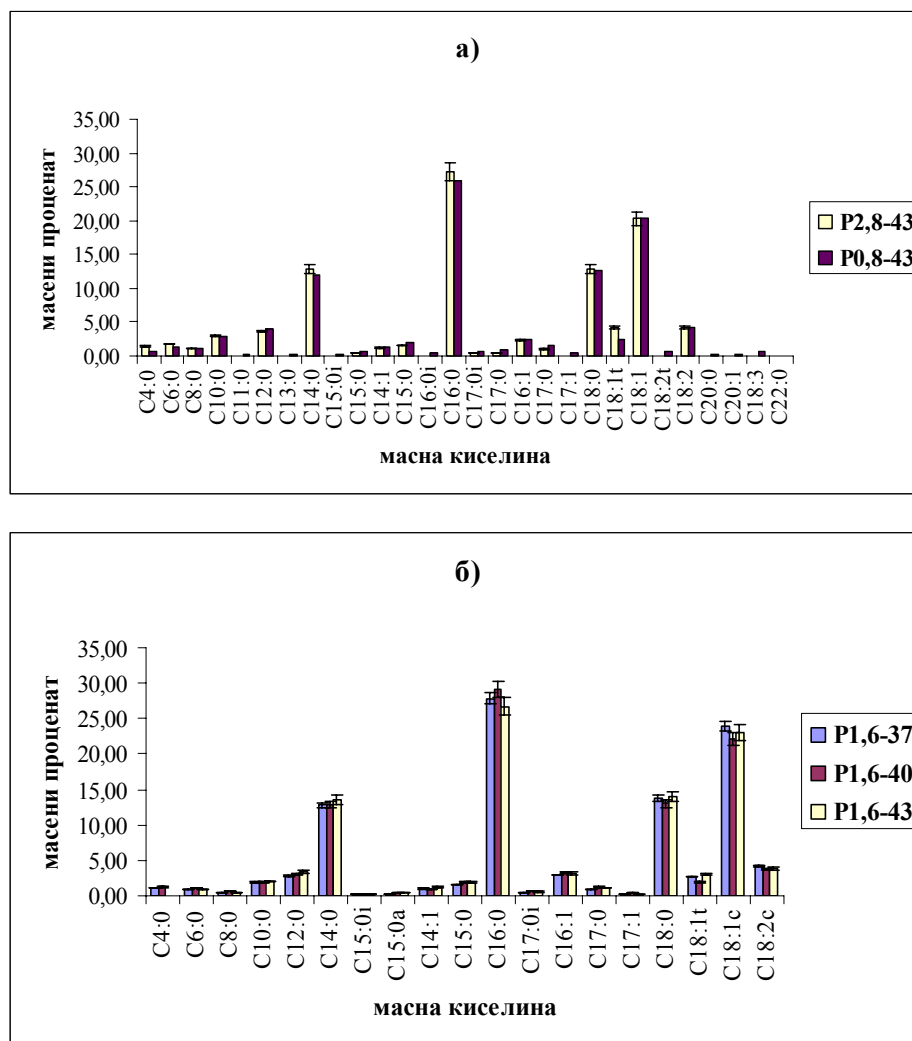
4.7.2. Садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе

На сликама 28-31 је приказан садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе.

Резултати представљени на сликама 28-31 указују да су у свим ферментисаним млечним производима доминантне масне киселине палмитинска, олеинска, миристинска и стеаринска. Садржај осталих масних киселина је био значајно нижи, и појединачне вредности су испод 5%.

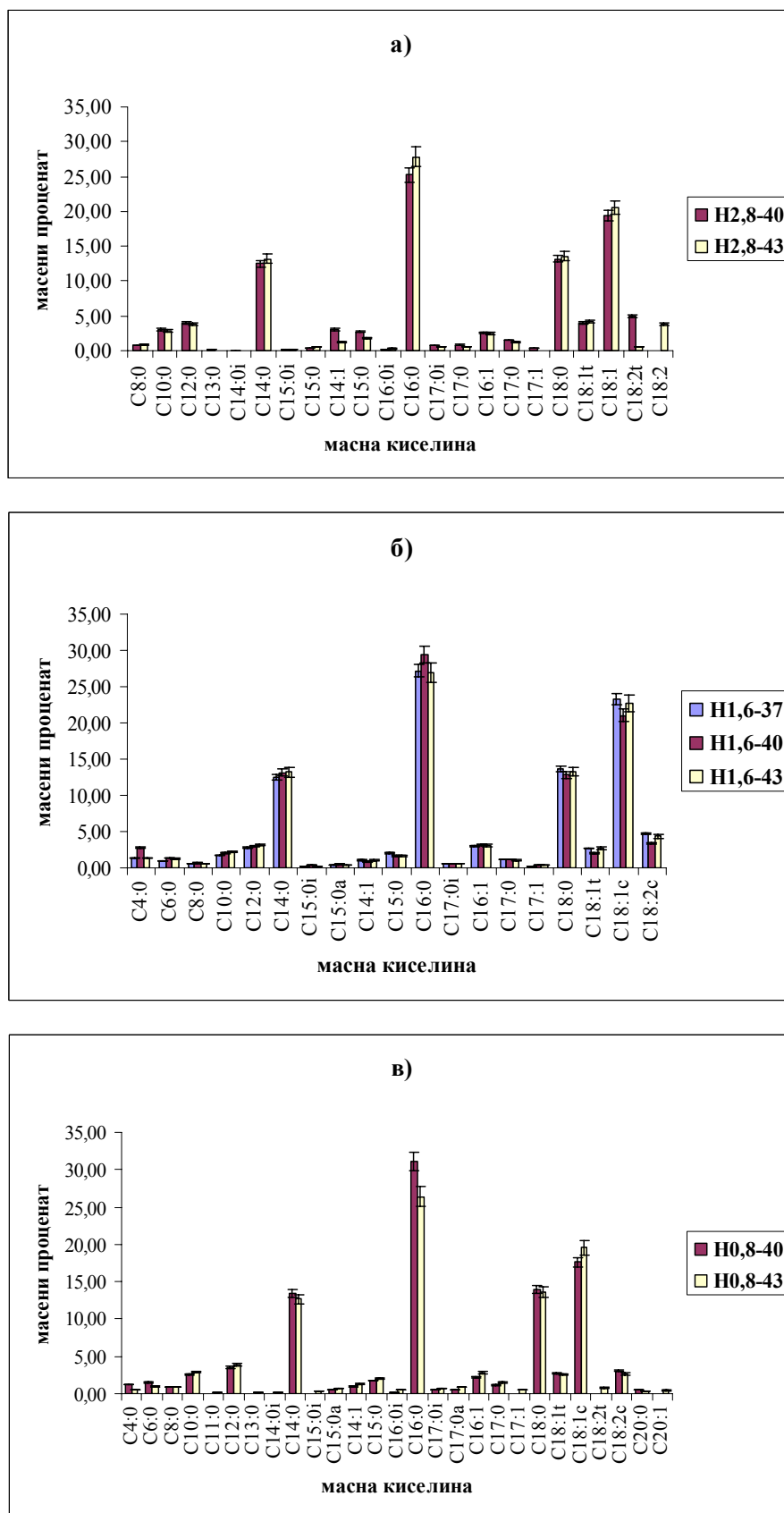
Смањењем садржаја млечне масти, посматрајући средње вредности, дошло је до повећања палмитинске и миристинске киселине, код група производа добијених додатком НИ, КИ и МДИ. Тренд је био супротан, у случају палмитинске киселине код РИ производа, а највиши садржај миристинске киселине је био у Р1,6 (13,08%) (слика 28б), док се код Р2,8 и Р0,8 није значајно разликовао и износио је 12,91 односно 12,06% (слика 28а). С16:0 је у опсегу од 25,92 (Р0,8 и МД2,8) (слике 28а, 31а) до 29,21% (МД0,8) (слика 31в), а С14:0 од 12,06 (Р0,8) (слика 28а) до 14,69% (К0,8) (слика 30в).

У све четири групе производа, олеинска киселина је најзаступљенија (просечно гледано) у производима добијеним из М1,6, и износи од 22,34 (Н1,6) (слика 29б) до 23,09% (МД1,6) (слика 31б). Исти тренд важи и за стеаринску киселину, за производе добијене додатком РИ, КИ и МДИ, а вредности су у распону од 13,51 (К1,6) (слика 30б) до 13,68% (Н0,8) (слика 29в). Садржај олеинске киселине се, у производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају и чају од нане из М2,8 и М0,8, не разликује значајно и износи: 20,29 и 20,47% за Р2,8 и Р0,8 (слика 28а), односно 19,99 и 18,56% за Н2,8 (слика 29а) и Н0,8 (слика 29в), редом. Када се ради о производима добијеним додатком КИ и МДИ, претходно наведена разлика је значајнија и садржаји износе: 20,58 и 16,43% за К2,8 (слика 30а) и К0,8 (слика 30в), односно 20,60 и 17,43 за МД2,8 (слика 31а) и МД0,8 (слика 31в), редом.

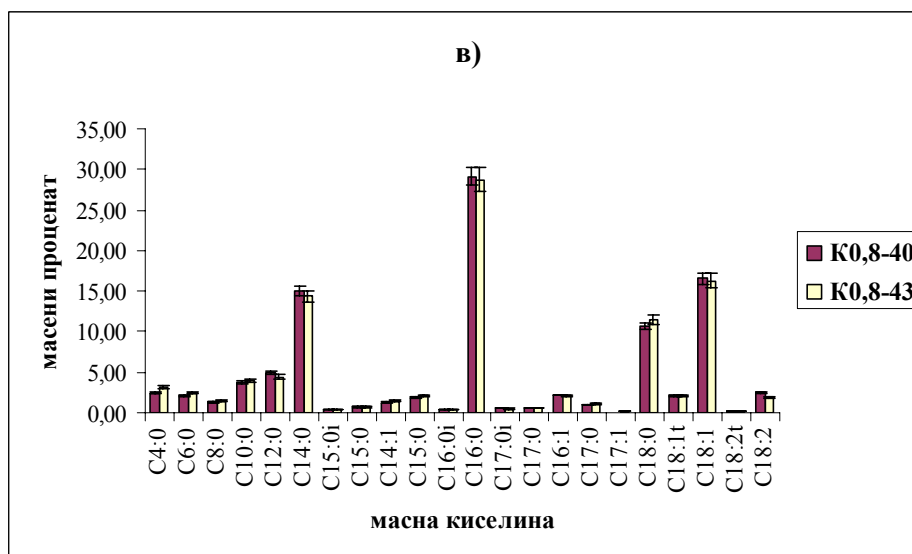
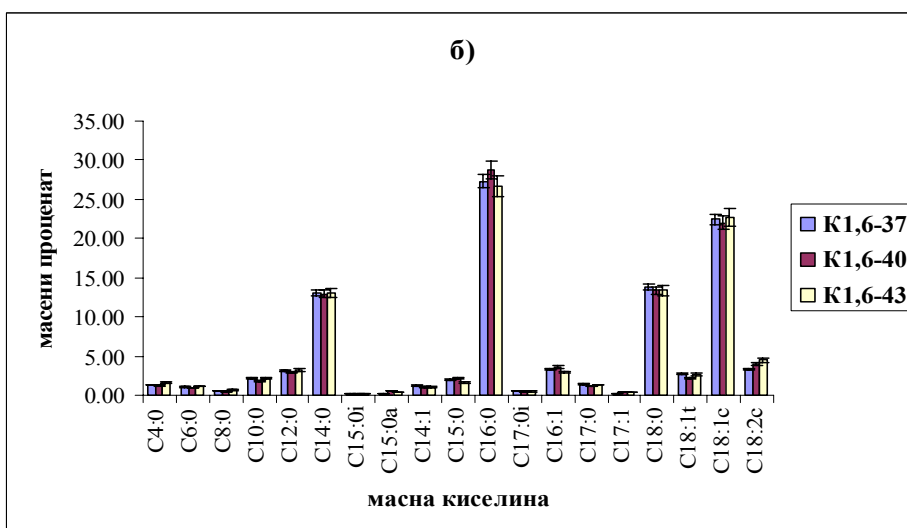
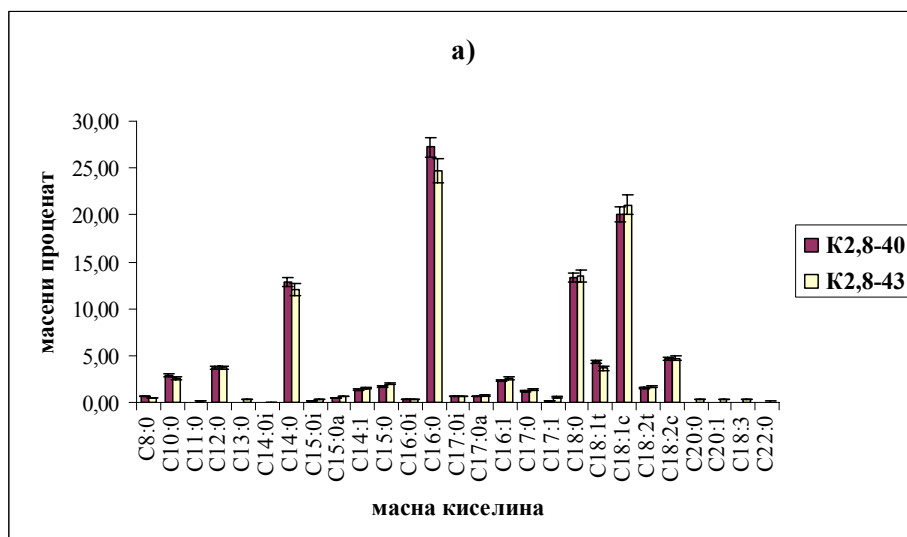


Слика 28: Садржај појединачнихмасних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају из:
а) M2,8 и M0,8, на 43°C; б) M1,6, на 37, 40 и 43°C

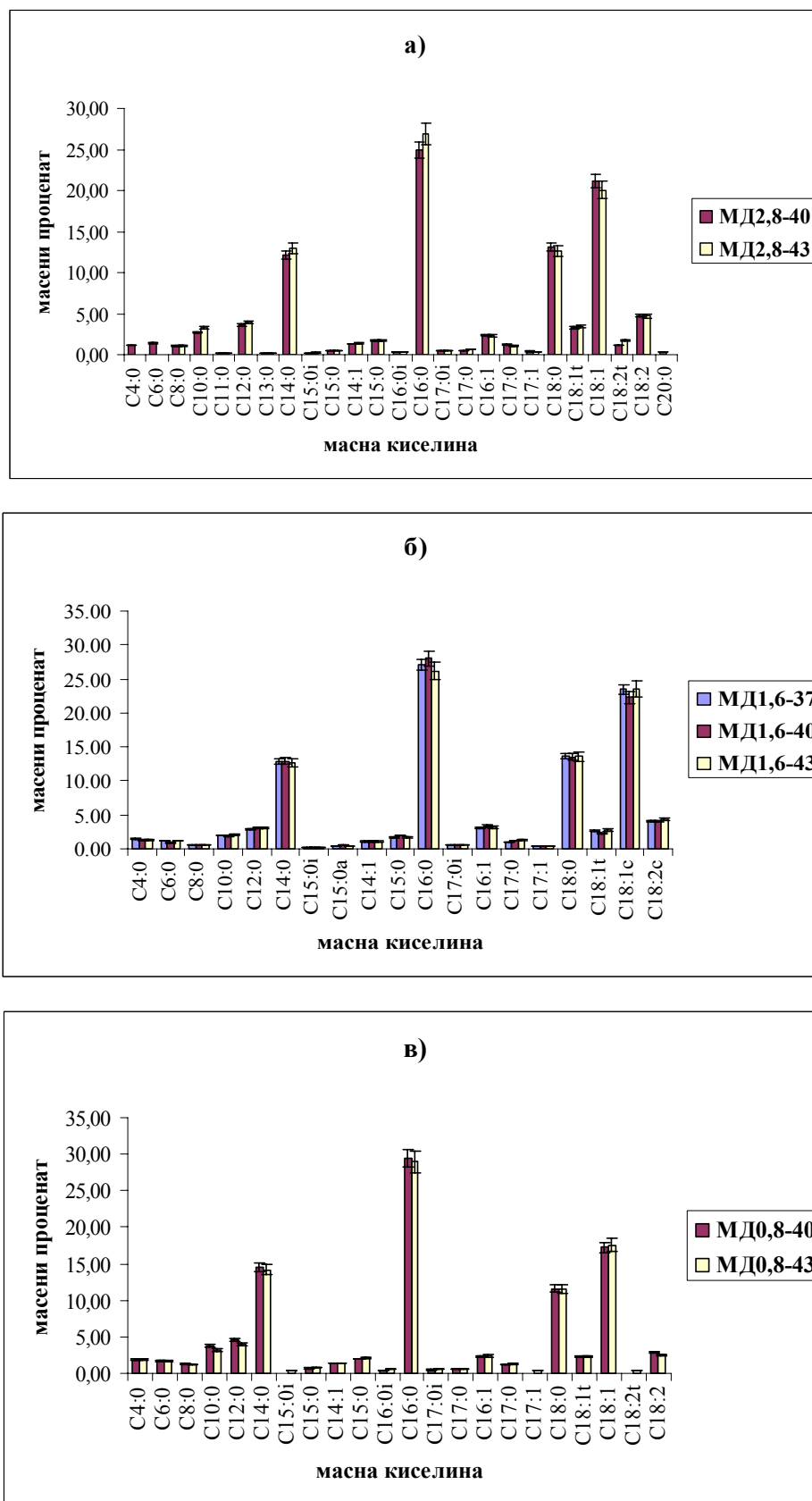
Стеаринска киселина се у узорцима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају и чају мајчине душице из M2,8 и M0,8, не разликује у знатнијој мери и износи 12,83 и 12,64% за P2,8 и P0,8 (слика 28а), те 12,89 и 11,57 за MД2,8 (слика 31а) и MД0,8 (слика 31в). За производе добијене применом комбухе култивисане на чају од коприве ова разлика је израженија и садржаји износе 13,39 (K2,8) (слика 30а) и 11,12% (K0,8) (слика 30в). За узорке произведене уз додатак НИ стеаринска киселина је у распону од 13,25 (M1,6) до 13,77% (M0,8) (слика 29б-в).



Слика 29: Садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 30: Садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 31: Садржај појединачних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице на температури 37, 40 и 43°C: а) М2,8; б) М1,6; в) М0,8

Температура ферментације је имала утицај на садржај испитаних масних киселина. Поредиши производе Р1,6-37, Р1,6-40 и Р1,6-43, Н2,8-40 и Н2,8-43, Н1,6-37, Н1,6-40 и Н1,6-43, те МД2,8-40 и МД2,8-43, јасан је тренд пораста садржаја миристинске киселине повишењем температуре (слике 28б, 29а-б, 31а). Супротна зависност се уочава посматрајући производе Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, К0,8-40 и К0,8-43, те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 29в, 30а, 30-31, под в). Када се гледа миристинска киселина производа К1,6-37, К1,6-40, К1,6-43 и МД1,6-37, МД1,6-40 и МД1,6-43 (слике 30-31, под б), види се да је на 40°C њена вредност најнижа, односно највиша. Најнижи садржај је био 12,04% (К2,8-43), а највиши 15,03% (К0,8-40).

Палмитинска киселина је порастом температуре опала, када се посматрају узорци Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, К0,8-40 и К0,8-43, те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 29в, 30а, 30-31в). Супротан тренд важи за производе Н2,8-40 и Н2,8-43, као и МД2,8-40 и МД2,8-43 (слике 29а, 31а). Садржај ове киселине је у случају узорака Р1,6-37, Р1,6-40 и Р1,6-43, Н1,6-37, Н1,6-40 и Н1,6-43, К1,6-37, К1,6-40 и К1,6-43, те МД1,6-37, МД1,6-40 и МД1,6-43 (слике 28-31б), био највиши на 40°C. Кретала се у опсегу од 24,74 (К2,8-43) до 31,04% (Н0,8-40).

Стеаринска киселина је порастом температуре расла, пратећи њен садржај у производима Н2,8-40 и Н2,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, као и К0,8-40 и К0,8-43 (слике 29а, 30а, 30в). Узорци Н0,8-40 и Н0,8-43, К1,6-37, К1,6-40 и К1,6-43, МД2,8-40 и МД2,8-43, те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 29в, 30б, 31а) имају садржај стеаринске киселине који је порастом температуре опао. Када се гледају узорци Р1,6-37, Р1,6-40 и Р1,6-43 (слика 28б), те Н1,6-37, Н1,6-40 и Н1,6-43 (слика 29б) види се да је најнижи проценат ове киселине у производу добијеном на 40°C, а када се ради о узорцима МД1,6-37, МД1,6-40 и МД1,6-43 (слика 31б), јасно је да температуре није имала утицаја и просечна вредност стеаринске киселине износи 13,55%. Најнижа је у узорку К0,8-40 (10,71%) (слика 30в), а највиша код узорка Р1,6-43 (14,05%) (слика 28).

Олеинска киселина у производима К0,8-40 и К0,8-43, МД2,8-40 и МД2,8-43 (слике 30в, 31а) је опала порастом температуре. Супротан тренд је уочен у узорцима Н2,8-40 и Н2,8-43, Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 29а, 29в, 30а, 31в). Најнижа вредност, поређењем производа добијених додатком РИ, НИ, КИ и МДИ из М1,6 је била на 40°C. Олеинска киселина ферментисаних млечних производа је била у распону од 16,30 (К0,8-43) (слика 30в) до 23,49% (МД1,6-43) (слика 31б).

Коришћени инокулум није имао утицај на појединачне масне киселине и просечни садржаји, када се изузме утицај млечне масти и температуре, су били следећи: миристинска од 12,84 (РИ) до 13,39% (КИ), палмитинска од 26,63 (РИ)

до 27,70% (НИ), стеаринска од 12,67 (МДИ) до 13,47% (НИ) и олеинска киселина од 19,80 (КИ) до 21,27% (РИ) (слике 28-31).

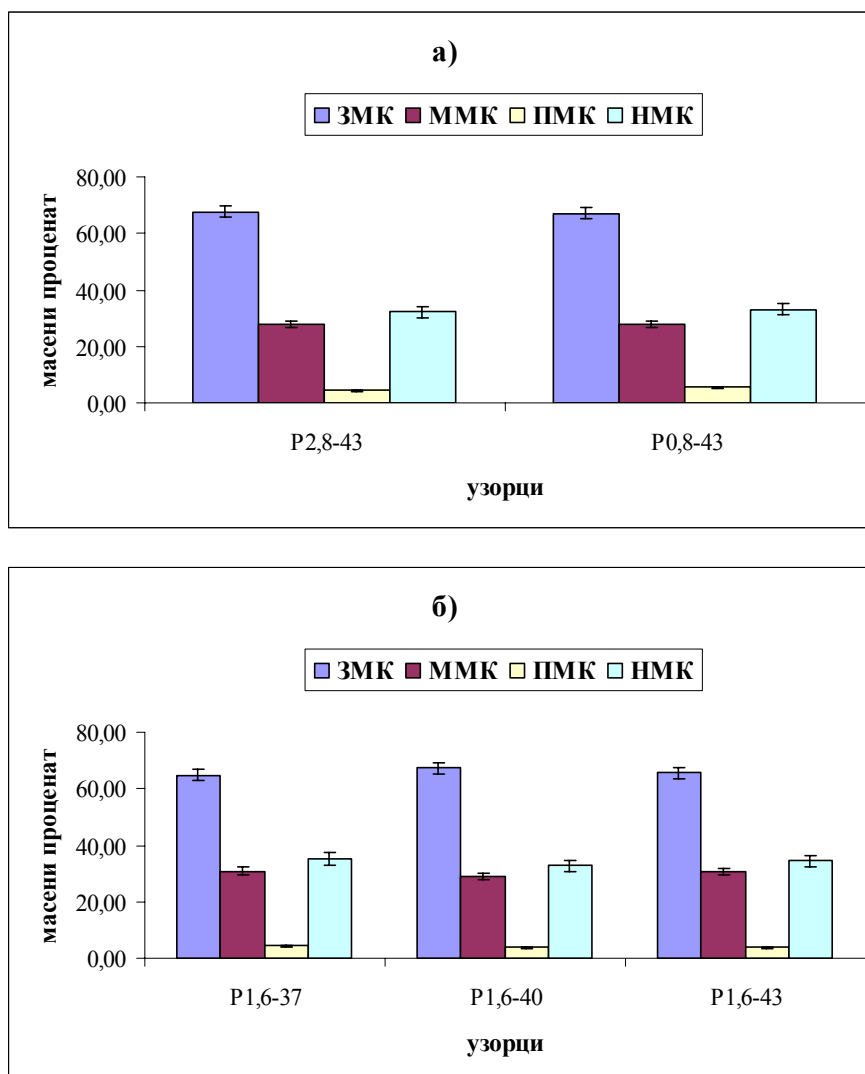
Атерогене киселине су у најмањој мери заступљене у производу К2,8-43, а у највећој у К0,8-40. Највећи садржај лакосварљивих масних киселина је био у производу К0,8-43 (11,03%), а најнижи у К2,8-43 (3,05%). Киселине карактеристичне за преживаре су биле у опсегу од 0,98 (К1,6-43) до 3,0% (Н0,8-43).

Резултати анализе садржаја масних киселина добијених ферментисаних млечних производа су у складу са резултатима Иличић, 2010 (92), када се ради о садржају палмитинске киселине, која је најзаступљенија у свим узорцима. Зависно од узорка, садржаји наведене киселине су исти или су одступања незнатна. Одступања се могу објаснити чињеницом да је у раду са којим је урађено поређење добијених резултата, као полазни супстрат коришћено млеко са 0,9, односно 2,2% млечне масти, док је као инокулум коришћена комбуха култивисана на црном чају.

4.7.3. Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе

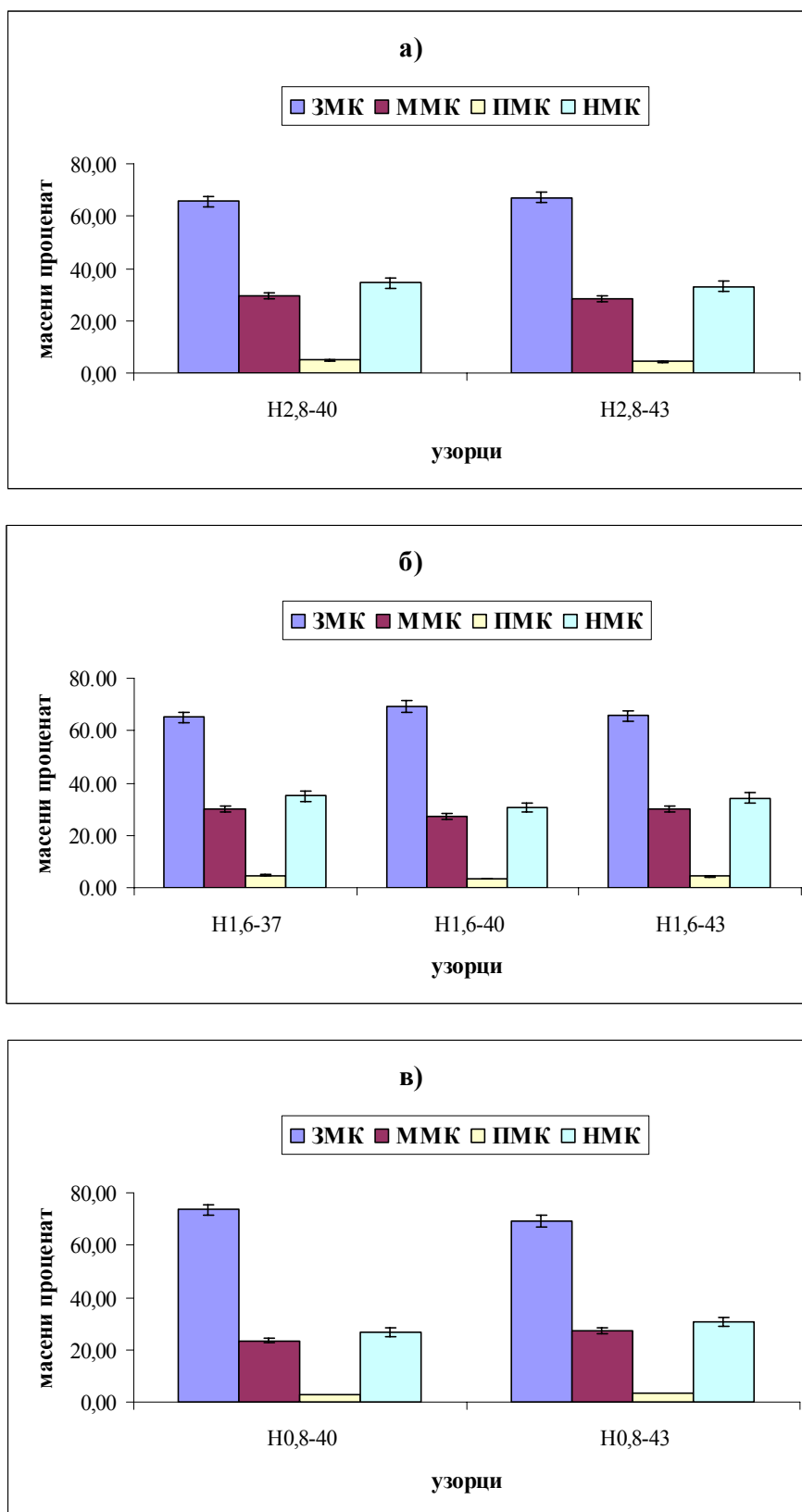
На сликама 32-35 је приказан садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе.

На основу резултата представљених на сликама 32-35, може се видети да су, у свим ферментисаним млечним производима, најзаступљеније ЗМК, а за њима следе ММК и ПМК, чији збир чини НМК.

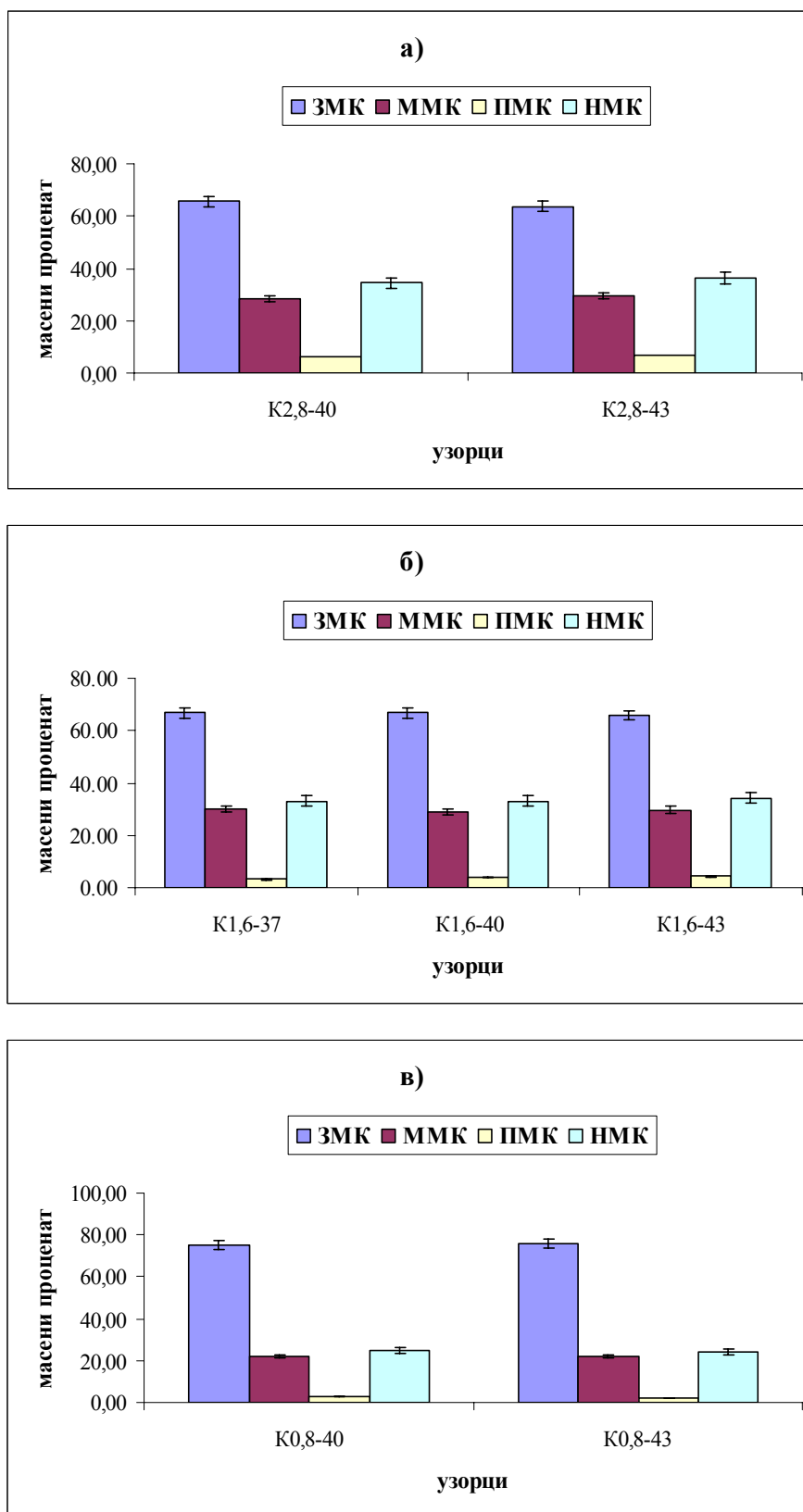


Слика 32: Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају из:
а) M2,8 и M0,8, на 43°C; б) M1,6, на 37, 40 и 43°C

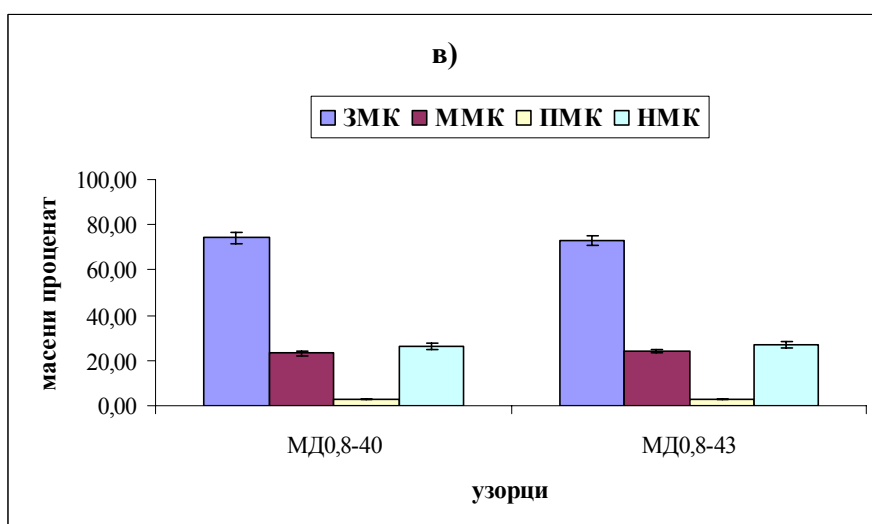
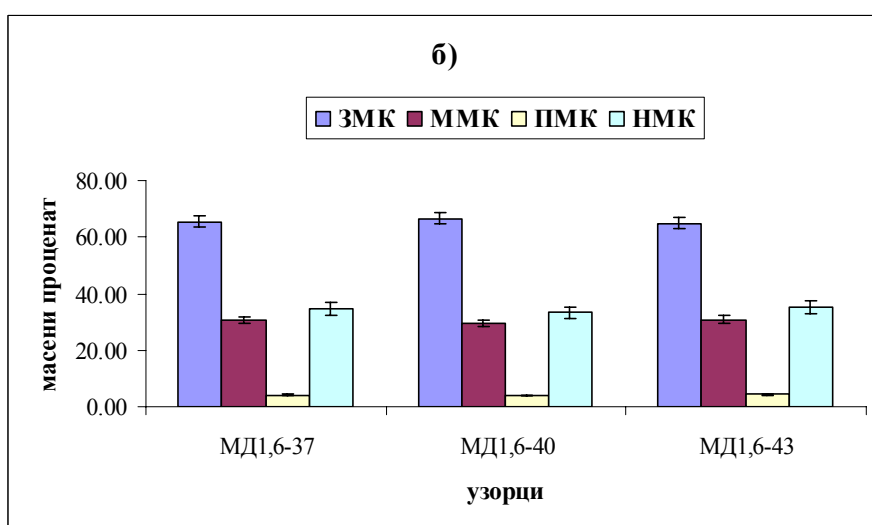
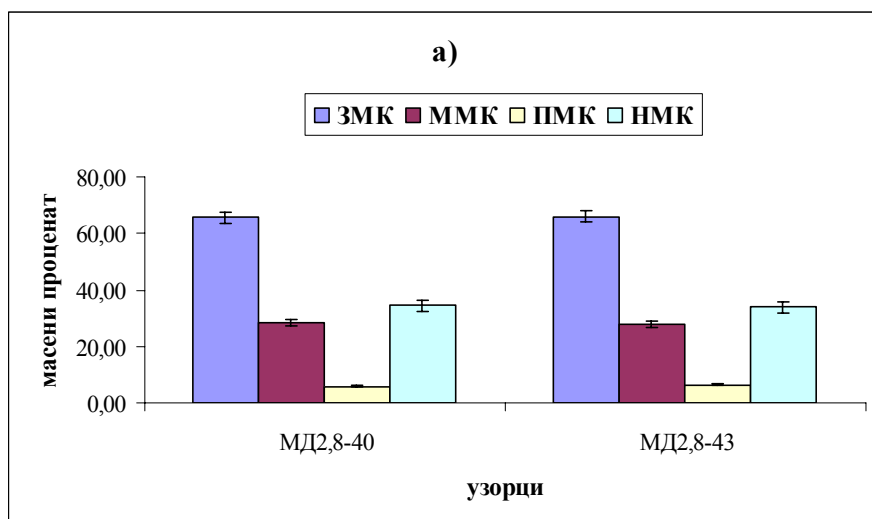
Средње вредности укупних масних киселина указују да је смањењем садржаја млечне масти полазног супстрата у групи производа добијених додатком РИ (слика 32), НИ (слика 33) и КИ (слика 34) дошло до пораста ЗМК. Највише ЗМК у производима добијеним уз додатак МДИ (слика 35) је одређено у оним из M0,8 (73,57%), док се у узорцима из M2,8 и M1,6 нису значајно разликовале и износиле су 65,81, односно 65,56%. ЗМК су износиле од 64,74 (M2,8 уз додатак КИ) (слика 34а) до 75,44% (M0,8 уз додатак КИ) (слика 34в).



Слика 33: Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 34: Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве на температури 37, 40 и 43°C: а) M2,8; б) M1,6; в) M0,8



Слика 35: Садржај укупних масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице на температури 37, 40 и 43°C: а) М2,8; б) М1,6; в) М0,8

Тренд садржаја НМК је супротан претходно описаном садржају ЗМК, односно смањењем млечне масти долази до смањења НМК у групи производа добијених додатком НИ и КИ. Узорци произведени додатком РИ су имали највишу вредност НМК у случају М1,6 (34,07%) (слика 32б), док се ова вредност производа из М2,8 и М0,8 није значајно разликовала и износила је 32,25, односно 33,00% (слика 32б). Најмање НМК у производима добијеним уз додатак МДИ је одређено у оним из М0,8 (26,57%) (слика 35в), док се у узорцима из М2,8 и М1,6 нису значајно разликовале и износиле су 34,19 (слика 35а), односно 34,44% (слика 35б). НМК су биле у распону од 24,56 (М0,8 уз додатак КИ) (слика 34в) до 35,26% (М2,8 уз додатак КИ) (слика 34а).

Код све четири групе производа, највиши садржај ММК је био у узорцима произведеним из М1,6, а кретао се од 22,10 (М0,8 уз додатак КИ) (слика 34в) до 30,13% (М1,6 уз додатак РИ) (слика 32б). ПМК су смањењем садржаја млечне масти опале, у случају производа добијених додатком НИ, КИ и МДИ, док је најнижа вредност ПМК у групи производа добијених додатком РИ била у случају М1,6 (3,98%) (слика 32б). ПМК ферментисаних млечних производа су биле у распону 2,46 (М0,8 уз додатак КИ) (слика 34в) до 6,37% (М2,8 уз додатак КИ) (слика 34а).

Порастом температуре дошло је до пораста ЗМК, када се посматрају производи Н2,8-40 и Н2,8-43, К0,8-40 и К0,8-43, те МД2,8-40 и МД2,8-43 (слике 33а, 34в, 35а). Супротна зависност важи у случају производа Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, као и МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 33в, 34а, 35в). Производи добијени додатком РИ, НИ, КИ и МДИ на 40°C су имали највиши садржај ЗМК. Најмање ЗМК је одређено у узорку К2,8-43 (63,81%) (слика 34а), а највиши у производу К0,8-43 (75,78%) (слика 34в).

НМК су имале супротан тренд кретања садржаја у односу на ЗМК, односно пораст температуре је довео до смањења НМК узорка Н2,8-40 и Н2,8-43, К0,8-40 и К0,8-43, те МД2,8-40 и МД2,8-43 (слике 33а, 34в и 35а). До пораста садржаја је дошло код производа Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, као и МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 33в, 34а, 35в). Производи добијени додатком РИ, НИ, КИ и МДИ на 40°C су имали најнижи садржај НМК. Најнижа вредност НМК је била у К0,8-43 (24,22%) (слика 34в), а највиша у К2,8-43 (36,19%) (слика 34а).

Поредећи узорке Н2,8-40 и Н2,8-43 (слика 33а), као и МД2,8-40 и МД2,8-43 (слика 35а) види се да порастом температуре ММК и ПМК (као и код производа К0,8-40 и К0,8-43 (слика 34в), те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слика 35в)) опада. Наведени тренд је супротан код производа Р1,6-40 и Р1,6-43, Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, те МД0,8-40 и МД0,8-43 (слике 32б, 33в, 34а, 35в), односно порастом температуре садржај ММК расте. Садржај ММК узорка К0,8-40 и К0,8-43 је била подједнака и износила је 22,08, односно 22,12%

(слика 34в). Вредност ММК је у оквиру производа добијених из М1,6 додатком РИ, НИ, КИ и МДИ била најнижа на 40°C. ММК се кретао у опсегу од 22,08 (К0,8-40) (слика 34в) до 30,65% (Р1,6-43) (слика 32). ПМК узорака Н0,8-40 и Н0,8-43, К2,8-40 и К2,8-43, К1,6-37, К1,6-40 и К1,6-43 (слике 33в, 34а, 34б) порастом температуре расте, док је у случају производа добијених из М1,6 додатком РИ овај тренд супротан. Производи добијени на 40°C коришћењем НИ и МДИ из М1,6 су имали најмање ПМК. Процент ПМК је био у опсегу од 2,10 (К0,8-43) (слика 34в) до 6,40% (МД2,8-43) (слика 35а).

Примењени инокулум је имао утицај на садржај укупних масних киселина. Просечне вредности, не узимајући у обзир млечну маст и температуру, указују да је ЗМК производа добијених додатком РИ износио 66,89%, док је ЗМК преостале три групе производа био у опсегу од 68,14 (НИ) до 68,90% (КИ). НМК се кретао од 31,10 (КИ) до 33,11% (РИ). Вредност НМК производа добијених додатком НИ и МДИ је био 31,86, односно 31,73%. Садржај ММК је био од 26,85 (КИ) до 28,55% (РИ).

Инокулум није утицао на садржај ПМК и средње вредности су биле у распону од 4,04 (НИ) до 4,56% (РИ).

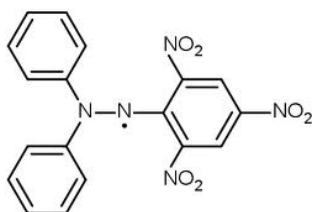
Најнижи атерогени индекс је имао производ К2,8-43 (2,12), а највиши К0,8-40 (3,79).

Поређењем резултата добијених за садржај масних киселина, за млеко и одговарајуће ферментисане млечне производе, види се да су садржаји појединачних и укупних масних киселина такви да указују да процес ферментације може да доведе до нижег садржаја у производима у односу на млеко (последница катаболизма млечне масти), односно до вишег садржаја, што може бити последница синтезе масних киселина (узимајући у обзир просечне вредности: олеинске, ММК, ПМК, односно НМК, код производа добијених додатком РИ; стеаринске и ММК код производа добијених додатком НИ; ЗМК и ПМК код производа добијених додатком КИ и МДИ) током ферментације.

4.8. АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ФЕРМЕНТИСАНИХ МЛЕЧНИХ ПРОИЗВОДА ДОБИЈЕНИХ ПОМОЋУ КОМБУХЕ

Антиоксидативна активност ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе је одређена праћењем АА_{ДРРН} и АА_{ОН}. Садржај ПМК и витамина Це је такође утврђен, пошто се ради о добро познатим антиоксидантима. Добијени резултати су исказани као разлика вредности измерених за ферментисане млечне производе и одговарајуће млеко, односно супстрат.

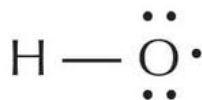
Молекул 1,1-дифенил-2-пикрил-хидразил (α , α -дифенил- β -пикрилхидразил, DPPH \cdot) (слика 36) је стабилан слободни радикал због својства делокализације слободног електрона преко молекула као целине, тако да не долази до димеризације молекула, што је случај са већином других слободних радикала (107).



Слика 36: Молекул DPPH \cdot

DPPH \cdot је синтетски производ, који је у широкој употреби за мерење ефикасности антиоксиданата. Релативна стабилност овог радикала, осетљивост и техничка једноставност извођења анализе су разлози популарности наведеног колориметријског теста (108).

Хидрокси радикал (слика 37) је високо реактиван, са центрираним кисеоником и напада све молекуле у људском организму, а припада радикалима са слободним кисеоником (oxygen free radicals, OFRs), који су најзначајнији за биолошка и сродна поља, и припадају групи ROS.



Слика 37: Молекул \cdot OH

Такође, хидрокси радикали се могу створити у људском организму.

Оштећења до којих доводи су: оштећење ДНК, липидна пероксидација, оксидација протеина и оштећење осталих биополимера (2, 109). Њихов кратак животни век (уобичајено 10^{-9} секунди у ћелији) и висока реактивност ометају њихову директну детекцију (110).

ПМК имају јединствене структурне и функционалне карактеристике. Оне се разликују према два главна функцијама. Прва функција се односи на њихову улогу у регулисању архитектуре, динамике, фазе транзиције и пропустљивости мембрана и модулације понашања протеина везаних за мембрану као што су рецептори, АТР-азе, транспортни протеини и јонски канали. Друга функција ПМК, као прекурсора различитих метаболита (простагландини, леукотриени и хидрокси масне киселине) је регулација критичних биолошких функција (111).

Епидемиолошке студије су показале да конзумирање рибљег уља, богатог ω -3 ПМК, смањује ризик од кардиоваскуларних болести код људи.

ПМК исказују свој погодан ефекат на кардиоваскуларну функцију кроз смањење концентрације плазма триацилглицерола и инхибицијом производње слободних радикала (112).

ПМК узрокују повећање нивоа холестерола и липопротеина велике густине (high density lipoproteins, HDL) и тиме имају погодан ефекат на кардиоваскуларне болести. Поред тога, оне су прекурсори биолошки активних једињења-еикосаноида (113).

Такође, ПМК су уобичајени конституенти млека. Интересантно је мерити садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе због њихове улоге у стабилизацији слободних радикала, која директно утиче на антиоксидативну активност. У овом истраживању је одређен укупан садржај ПМК, који представља збир слободних масних киселина и масних киселина инкорпорираних у триглицериде. Коришћено млеко са 2,8, 1,6 и 0,8% млечне масти садржи 0,14, 0,04 и 0,02 g/100g ПМК, редом. Главни разлог присуства ПМК у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе лежи у чињеници да су оне конституенти млека, што је и наведено у претходном тексту. Међутим, садржај ПМК није био исти у млеку и ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе што указује да ферментациони процес утиче на садржај ПМК.

Витамин Це је антиоксидант растворан у води, који делује као неензимски антиоксидант, прекидањем ланчане реакције (114). Лако се оксидује до облика слободног радикала, семидехидроаскорбинске киселине, која је релативно стабилна. Даља оксидација ствара дикетоглуконску киселину која није биолошки активна (115).

Антиоксидативна активност витамина Це је проузрокована лакоћом губитка електрона, што га чини врло ефикасним у биолошким системима. Пошто је донор електрона, он служи као редукујући агенс за многе ROS, азотне и тиол радикале. Штити једињења у воденим срединама ћелија и ткива, а у липидној средини она делује као синергист α -токоферолу и доприноси смањењу липидних токофероксил радикала уз истовремену регенерацију α -токоферола на ћелијским мембранама (8, 114-116). Међутим, у присуству слободних јона гвожђа, може произвести опасне феро јоне, пресудне катализаторе оксидативног оштећења. Студије показују да, бар под уобичајеним условима у организму, у којима је гвожђе прописно одвојено у резервне и транспортне протеине, витамин Це има чисту антиоксидативну функцију (115).

Доказано је да је ризик канцера једњака, панкреаса и плућа нижи код људи са довољним уносом витамина Це. Недостатак витамина Це погоршава атерогенезу животиња (115). Смањујући оксидативно оштећење ДНК и ћелијских мембрана и смањујући мутације гена, показано је да витамин Це штити од различитих врста повреда неоплазме, укључујући оксидативни стрес

(114, 116). Витамин Це спречава формирање N-нитрозо једињења, супстанци које изазивају канцер, а потичу од нитрата и нитрита који се могу наћи у конзервисаном месу и неким пијаћим водама. Заједно са витамином Е и коензимом Q10, обезбеђује значајну антиоксидативну заштиту за ћелијске мембране (115).

Витамин Це је један од најзначајнијих природних антиоксиданата. Уобичајени је производ метаболизма комбухе традиционалних комбуха напитака добијених на црном и зеленом чају (26, 40). У овом истраживању, витамин Це је одабран за процену антиоксидативне активности зато што је метаболит комбуха ферментације. Претходна истраживања су показала да је комбуха способна за биосинтезу овог витамина током ферментације на млеку применом стартера добијених ферментацијом комбухе на заслађеном црном чају (87). Допринос комбуха ферментације антиоксидативној активности је праћен анализом витамина Це.

Вредности AA_{DPPH} , AA_{OH} , као и садржај ПМК и витамина Це у испитиваним узорцима, приказани су у табели 9.

Табела 9: AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на ртањском чају, чају од нане, коприве и мајчине душице

ферментисани млечни производ	AA_{DPPH} (%)	AA_{OH} (%)	ПМК (%)	витамин Це (mg/L)
P0,8-43	25,33±0,01	-3,15±0,03	1,35±0,01	19,6651±0,05
P1,6-37	30,35±0,05	0,20±0,02	0,76±0,01	30,2456±0,06
P1,6-40	23,67±0,06	-1,47±0,01	0,29±0,04	20,2534±0,04
P1,6-43	28,77±0,02	-1,12±0,04	0,76±0,03	16,9292±0,05
P2,8-43	25,73±0,01	4,50±0,04	1,45±0,02	16,2409±0,03
H0,8-40	13,30±0,04	-2,66±0,02	0,86±0,04	38,9925±0,04
H0,8-43	11,86±0,05	-3,35±0,05	1,27±0,06	14,5099±0,06
H1,6-37	26,54±0,01	1,35±0,05	1,20±0,06	18,3947±0,04
H1,6-40	24,84±0,03	-0,60±0,04	-0,13±0,03	47,0024±0,03
H1,6-43	16,55±0,01	-1,48±0,03	0,82±0,01	12,1017±0,03
H2,8-40	2,49±0,04	2,41±0,01	0,14±0,01	24,7379±0,04
H2,8-43	2,94±0,01	4,02±0,02	0,59±0,02	12,0035±0,05
K0,8-40	21,15±0,04	-2,59±0,03	0,61±0,03	30,2065±0,04
K0,8-43	9,48±0,04	-3,51±0,05	-0,10±0,04	18,3373±0,03
K1,6-37	8,35±0,02	1,79±0,02	-0,24±0,04	47,3351±0,02
K1,6-40	16,71±0,03	-0,51±0,04	0,44±0,03	36,1018±0,03
K1,6-43	5,87±0,05	-0,7±0,04	0,94±0,02	35,4959±0,03
K2,8-40	17,61±0,01	2,99±0,01	1,28±0,01	20,4050±0,04
K2,8-43	7,64±0,01	5,00±0,01	1,78±0,05	16,9208±0,03
MD0,8-40	18,51±0,02	-2,63±0,03	0,71±0,05	25,0192±0,03
MD0,8-43	33,63±0,03	-3,11±0,02	0,69±0,02	20,5248±0,04
MD1,6-37	19,60±0,04	1,90±0,02	0,55±0,04	12,6133±0,02
MD1,6-40	1,36±0,01	-0,95±0,04	0,52±0,03	13,6729±0,04
MD1,6-43	20,07±0,03	-0,32±0,03	0,86±0,03	12,3577±0,03
MD2,8-40	1,66±0,01	3,66±0,01	1,09±0,02	21,1098±0,04
MD2,8-43	12,19±0,02	5,12±0,01	1,56±0,01	15,2185±0,04

На основу вредности приказаних у табели 9 види се да је до најзначајнијих промена дошло код AA_{DPPH} и витамина Це, и оне су израженије за вредности производа добијених помоћу инокулума са ртањским чајем и

наном. На основу претходно наведеног, може се закључити да витамин Це има већи утицај на AA_{DPPH} .

Оптимизација, односно статистичка анализа, антиоксидативне активности је урађена на основу вредности приказаних у табели 9.

4.8.1. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају

Резултати статистичке анализе за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају су представљени у табели 10. Коефицијенти у табели 10 се односе на испитане променљиве.

Резултати анализе варијансе за одабране одзиве су представљени у табели 11. Релативно високе вредности коефицијента детерминације (R^2), добијене за све одзиве, указују на добро слагање експерименталних података са једначином [1]. Сви полиномни модели испитани за одабране одзиве су били значајни при нивоу значајности 95%. F-вредност модела 68,14656, 35,73508, 9,331435 и 60,09839 за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це, редом, указује да су модели значајни за одабране одзиве.

Коефицијент детерминације за одзив AA_{DPPH} у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају износи 0,956 и указује на високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности, тј. да мање од 4,4% варијација не може бити објашњено моделом. Што се тиче значајности полиномних коефицијената, њихове р-вредности показују да је најважнији линеарни ефекат температура ферментације. Сем овог, квадратни ефекти млечне масти (ММ) и температуре ферментације су такође значајни на нивоу 0,05.

Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} су приказани на слици 38а. Јасно је да добијени модел предвиђа највише вредности AA_{DPPH} за садржај ММ у опсегу од 1,4-2,2% и температуру ферментације од 43°C (117).

Табела 10: Коефицијенти регресионе једначине моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају

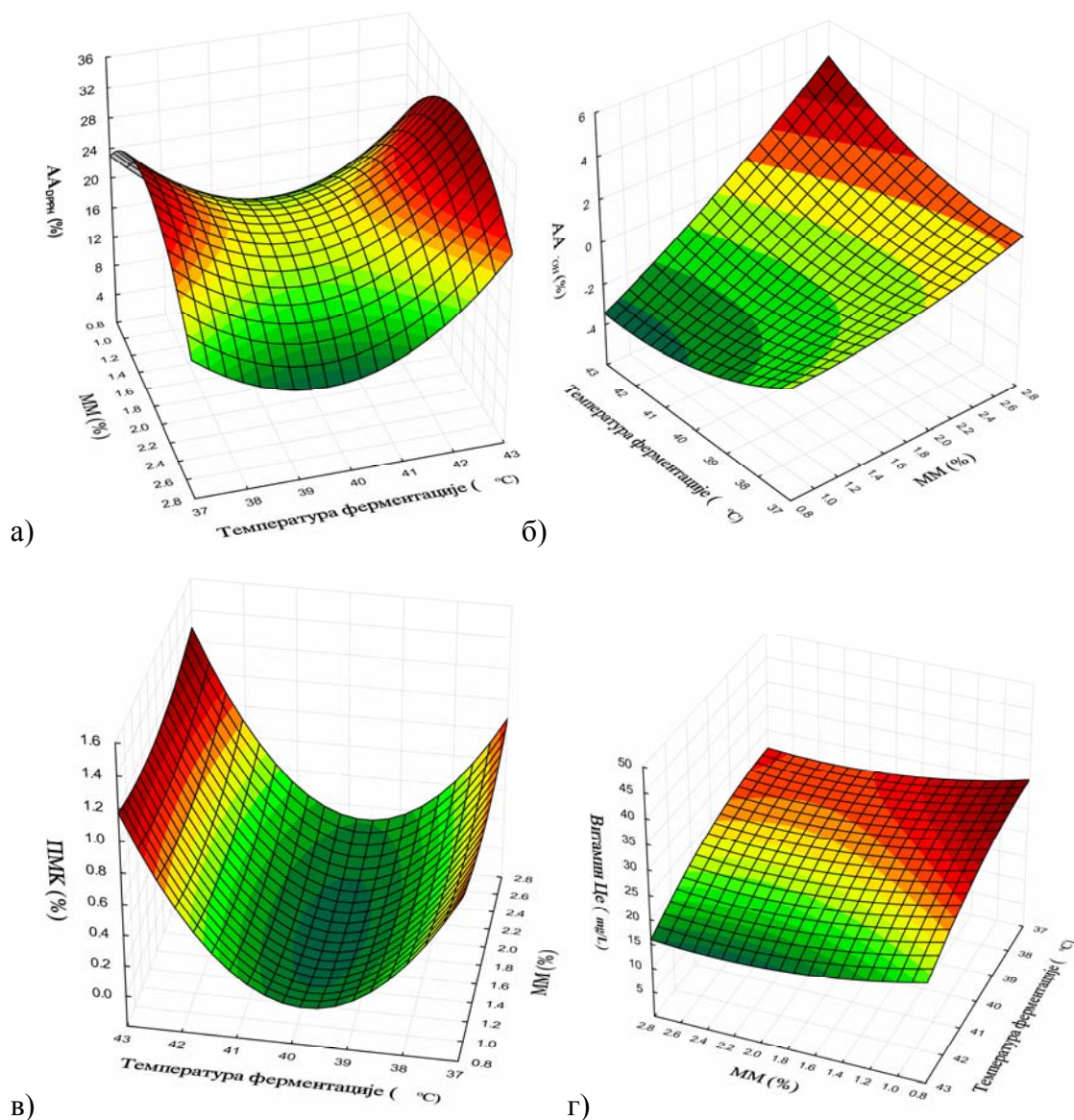
ефекти	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на ртањском чају							
	AA _{DPH} (%)		AA _{OH} (%)		ПМК (%)		витамин Це (mg/L)	
	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност
одсечак								
b ₀	1737,739	0,0266 ^a	184,4424	0,0532 ^b	170,0604	0,0277 ^a	-335,789	0,53466
линеарни								
b ₁	7,912	0,7658	-18,4581	0,0121 ^a	-0,7467	0,7771	-11,162	0,71048
b ₂	-86,676	0,0268 ^a	-8,5768	0,0632 ^b	-8,5328	0,0275 ^a	20,310	0,45957
квадратни								
b ₁₁	-8,764	0,0397 ^a	0,4132	0,3231	0,1236	0,6542	2,313	0,47337
b ₂₂	1,077	0,0271 ^a	0,0967	0,0800 ^b	0,1072	0,0267 ^a	-0,276	0,42502
интеракција								
b ₁₂	0,577	0,3786	0,4853	0,0084 ^a	0,0083	0,8906	0,014	0,98341

^aЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,05$ ^bЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,10$

Табела 11: Анализа варијансе (ANOVA) моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају

Одзив	Порекло								
	Резидуал			Модел			F-вредност	p-вредност	R ²
	DF	SS	MS	DF	SS	MS			
АА_{ДРРН} (%)	3,000000	34,356	11,4522	6,000000	4682,554	780,4257	68,14656	0,002696	0,956
АА_{ОН} (%)	3,000000	0,66919	0,223064	6,000000	47,82721	7,971201	35,73508	0,006975	0,993
ПМК (%)	3,000000	0,339533	0,113178	6,000000	6,336667	1,056111	9,331435	0,047171	0,926
витамин Це (mg/L)	3,000000	43,630	14,5435	6,000000	5244,230	874,0383	60,09839	0,003247	0,912

DF – степен слободe, SS – сума квадрата, MS – средња вредност квадрата



Слика 38: Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} (а), AA_{OH} (б), садржај ПМК (в) и витамина Це (г) за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на ртањском чају

Коефицијент детерминације за одзив AA_{OH} у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају износи 0,993, што указује на високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности. Само 0,7% варијација не може бити објашњено моделом. Значајност полиномних коефицијената, на основу р-вредности, показује да су најзначајнији фактори који утичу на AA_{OH} линеарни фактор ММ и интеракција између ММ и температуре ферментације. Позитивна интеракција између две независне променљиве (табела 10) указује на синергистички ефекат ММ и температуре ферментације на AA_{OH}. Сем овог, и линеарни и квадратни ефекти температуре ферментације су значајни на нивоу 0,10. Ефекти независних променљивих на AA_{OH} у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају су приказани на слици 38б. Из

приказаних резултата очигледно је да АА_{ОН} расте са порастом садржаја ММ на свим температурама ферментације. На нижим садржајима ММ АА_{ОН} опада на вишим вредностима температуре ферментације. Са друге стране, на вишим вредностима садржаја ММ са порастом температуре ферментације, АА_{ОН} расте. Добијени модел предвиђа највишу вредност АА_{ОН} за садржај ММ у опсегу од 2,4-2,8% и температуру ферментације између 41,5 и 43°C.

За одзив који се односи на садржај ПМК у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају, утврђено је да коефицијент детерминације износи 0,926 што указује да 7,4% варијација не може бити објашњено моделом. Међу полиномним коефицијентима значајан ефекат (и линеарни и квадратни) на нивоу 0,05 има температура ферментације. Ефекти независних променљивих на ПМК у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају су приказани на слици 38в. Из ових резултата је јасно да добијени модел предвиђа највише вредности садржаја ПМК на температури ферментације од 43°C и садржају ММ у опсегу 2,4-2,8%.

За садржај витамина Це у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају, утврђено је да коефицијент детерминације износи 0,912, те да мање од 8,8% варијација не може бити објашњено моделом. Ефекти ММ и температуре ферментације на садржај витамина Це у ферментисаним млечним производима добијеним помоћу комбухе култивисане на ртањском чају су приказани на слици 38г. Највише вредности овог одзива су предвиђене на најнижим вредностима ММ и температуре ферментације (117).

4.8.2. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане

Статистичка анализа резултата добијених за АА_{ДРРН}, АА_{ОН}, садржај ПМК и витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане су представљени у табели 12 и приказани коефицијенти се односе на испитане променљиве.

Табела 12: Коефицијенти регресионе једначине моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане

ефекти	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од нане							
	AA _{DPH} (%)		AA _{OH} (%)		ПМК (%)		витамин Це (mg/L)	
	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност
одсечак								
b ₀	442,0425	0,44160	103,4566	0,42963	150,8427	0,00798 ^a	-3692,54	0,03859 ^a
линеарни								
b ₁	67,8976	0,09713 ^b	-19,5728	0,05652 ^b	-2,2989	0,188868	42,66	0,52541
b ₂	-22,0782	0,44195	-4,3150	0,50263	-7,3518	0,00857 ^a	185,86	0,03793 ^a
квадратни								
b ₁₁	-11,0174	0,03328 ^a	-0,1507	0,83628	0,3972	0,06619 ^b	-4,10	0,55277
b ₂₂	0,2700	0,45037	0,0404	0,60892	0,0907	0,00885 ^a	-2,32	0,03792 ^a
интеракција								
b ₁₂	-0,7863	0,31752	0,5589	0,03333 ^a	0,0124	0,71904	-0,74	0,62776

^aЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,05$ ^bЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,10$

Резултати анализе варијансе за одабране одзиве су дати у табели 13. Релативно високе вредности коефицијента детерминације (R^2), добијене за све одзиве указују на добро слагање експерименталних података са једначином [1]. Сви испитани полиномни модели су били значајни при нивоу значајности од 95%. F-вредност модела од 27,50159, 8,739033, 41,40793 и 13,91380 за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це, редом, указује да су модели за одабране одзиве значајни.

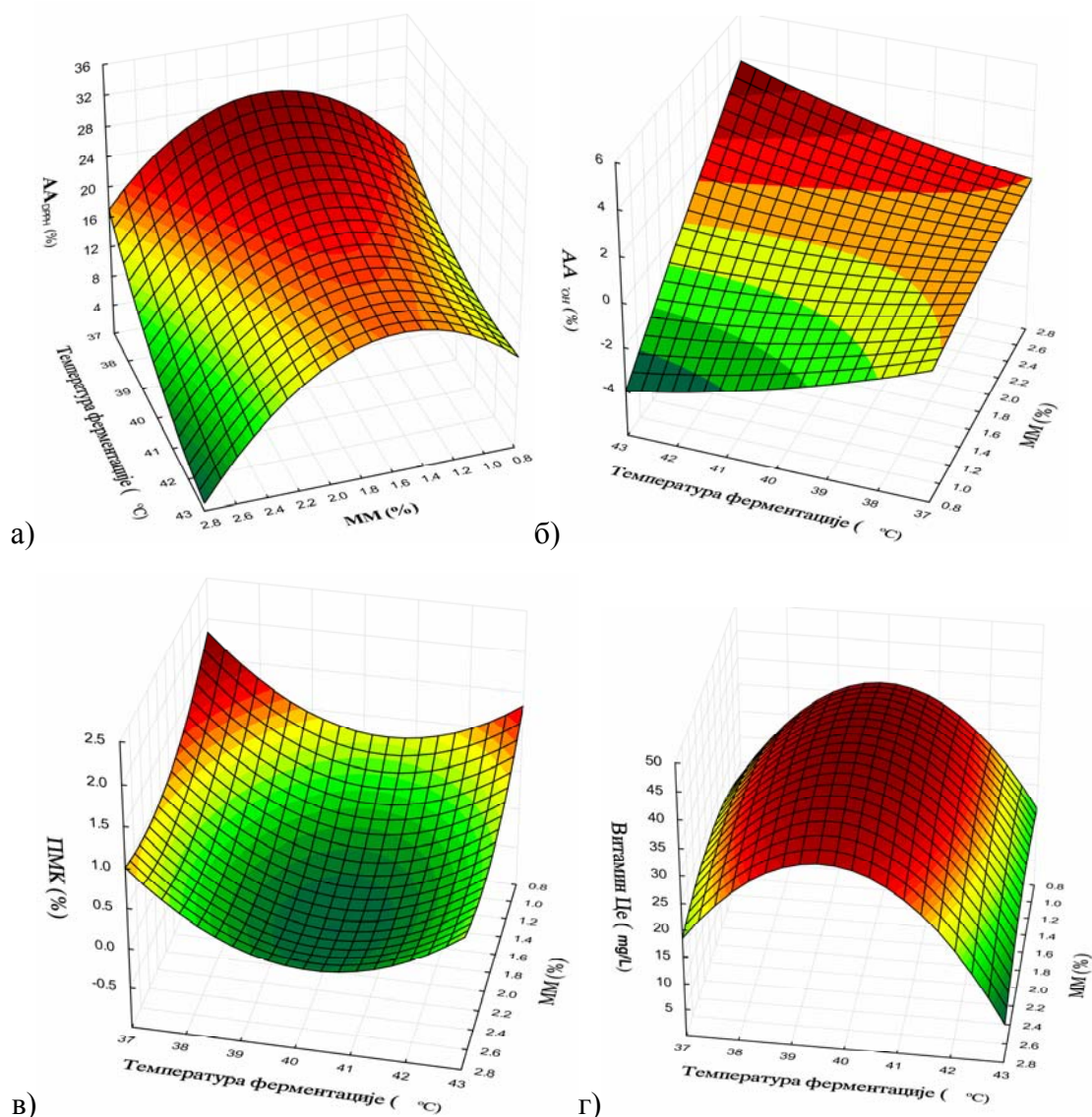
Коефицијент детерминације који се односи на AA_{DPPH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане износи 0,958. Наведена вредност упућује на високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности и значи да мање од 4,2% варијација не може бити објашњено моделом. Значајност полиномних коефицијената, на основу њихових р-вредности, указује да је на нивоу 0,05 најважнији фактор квадратни ефекат садржаја ММ. Линеарни ефекат исте независне променљиве је значајан на нивоу 0,10. Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} су приказани на слици 39а. Може се закључити да добијени модел предвиђа пораст вредности AA_{DPPH} током смањења температуре ферментације на свим садржајима ММ. Ипак, највише вредности AA_{DPPH} су предвиђене на температури ферментације од 37°C и садржају ММ у опсегу 1,4-2,2%.

Погодност слагања модела за одзив AA_{OH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане је проверена одређивањем коефицијента детерминације за који је утврђено да износи 0,972, што значи да мање од 2,8% варијација не може бити објашњено моделом. Када се ради о значајности полиномних коефицијената, њихове р-вредности указују да је најзначајнији фактор који утиче на AA_{OH} интеракција између ММ и температуре ферментације. Позитивна интеракција између две независне променљиве (табела 12) указује на синергистички ефекат ММ и температуре ферментације на AA_{OH} . Линеарни ефекат ММ је значајан на нивоу 0,10. Ефекти независних променљивих на AA_{OH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане су приказани на слици 39б и указују да AA_{OH} расте са порастом садржаја ММ на свим температурама ферментације. На нижим садржајима ММ, AA_{OH} опада на вишим вредностима температуре ферментације.

Табела 13: Анализа варијансе (ANOVA) моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане

Одзив	Порекло								
	Резидуал			Модел			F-вредност	p-вредност	R ²
	DF	SS	MS	DF	SS	MS			
АА_{ДРРН} (%)	3,000000	47,281	15,7603	6,000000	2600,606	433,4343	27,50159	0,010217	0,958
АА_{ОН} (%)	3,000000	2,44297	0,814322	6,000000	42,69833	7,116389	8,739033	0,051572	0,972
ПМК (%)	3,000000	0,107511	0,035837	6,000000	8,903589	1,483932	41,40793	0,005620	0,980
витамин Це (mg/L)	3,000000	206,914	68,9714	6,000000	5757,926	959,6543	13,91380	0,027104	0,912

DF – степен слобде, SS – сума квадрата, MS – средња вредност квадрата



Слика 39: Ефекти ММ и температуре ферментације на АА_{DPPH} (а), АА_{OH} (б), садржај ПМК (в) и витамина Це (г) за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од нане

Са друге стране, на вишим садржајима ММ са порастом температуре ферментације, АА_{OH} у наведеним производима такође расте. Дати модел предвиђа највишу вредност АА_{OH} за садржај ММ у опсегу од 2,4-2,8% и температури ферментације између 41,5 и 43°C и ови резултати одговарају резултатима који се односе на ферментисане млечне производе добијене применом комбухе култивисане на ртањском чају.

Одзив који се односи на садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане има коефицијент детерминације који износи 0,980 што указује да само 2,0% варијација не може бити објашњено моделом. Међу полиномним коефицијентима значајни ефекти на нивоу 0,05 су линеарни и квадратни ефекти

температуре ферментације. Сем њих, квадратни ефекат ММ је значајан на нивоу 0,10.

Ефекти независних променљивих на садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане су приказани на слици 39в. Из резултата се види да добијени модел предвиђа највише вредности садржаја ПМК при ММ од 0,8% и температури ферментације од 37-38°C.

За одзив који се односи на садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане, установљено је да коефицијент детерминације износи 0,912, што указује да мање од 8,8% варијација не може бити објашњено моделом. Полиномни коефицијенти показују да су значајни ефекти на нивоу 0,05 линеарни и квадратни ефекти температуре ферментације. Ефекти независних променљивих на садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од нане су дати на Слици 39г. Највише вредности одабраног одзива су предвиђене за температуру ферментације у опсегу од 39-41°C. Изван датог опсега модел предвиђа нижи садржај витамина Це при свим вредностима садржаја ММ.

4.8.3. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве

Резултати статистичке анализе за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве су представљени у табели 14. Коефицијенти у табели 14 се односе на испитане променљиве.

ANOVA резултати за одабране одзиве су приказани у табели 15. Релативно високе вредности коефицијента детерминације ($R^2 > 0,9$), добијене за све одзиве, указују на добро слагање експерименталних података са једначином [1]. F-вредност модела од 23,87218, 13,61834, 6,859321 и 49,38151 за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це, редом, показује да су модели за одабране одзиве значајни при нивоу значајности 95% (табела 15).

Табела 14: Коефицијенти регресионе једначине моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве

ефекти	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од коприве							
	AA _{DPH} (%)		AA _{OH} (%)		ПМК (%)		витамин Це (mg/L)	
	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност	коефицијент	р-вредност
одсечак								
b ₀	-1209,75	0,08261 ^б	136,2680	0,28416	-21,8609	0,70713	-34,2905	0,96179
линеарни								
b ₁	-87,02	0,04771 ^а	-19,5874	0,04629 ^а	-11,4216	0,03217 ^а	82,0702	0,11670
b ₂	66,21	0,06718 ^б	-5,9883	0,33573	1,5065	0,60868	1,7987	0,95991
квадратни								
b ₁₁	5,52	0,14049	-0,3375	0,62237	0,3618	0,32944	-16,8750	0,02249 ^а
b ₂₂	-0,87	0,05893 ^б	0,0611	0,41879	-0,0231	0,53360	-0,0315	0,94383
интеракција								
b ₁₂	1,57	0,08558 ^б	0,5862	0,02379 ^а	0,2579	0,03409 ^а	-0,5559	0,56703

^аЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,05$

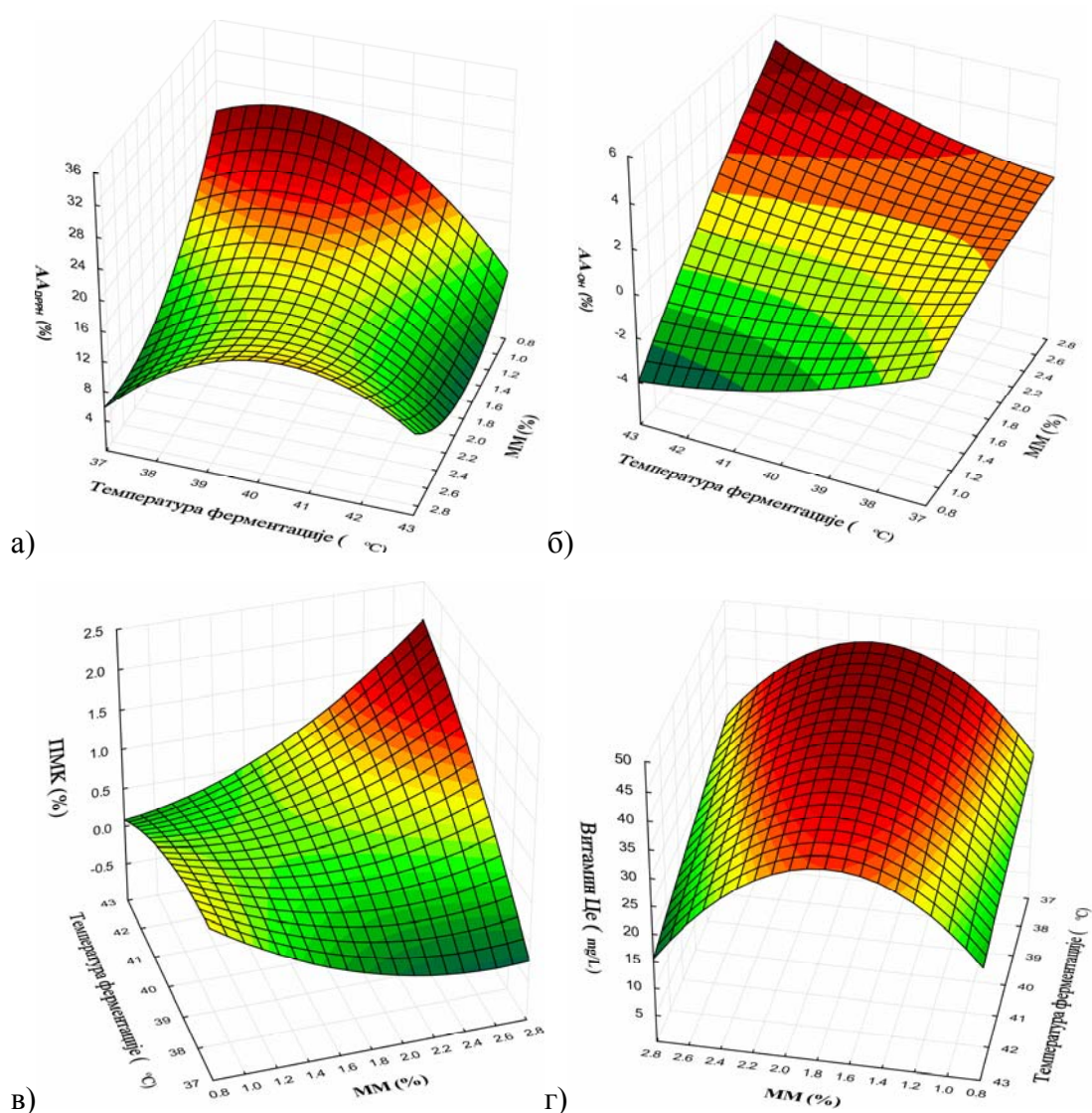
^бЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,10$

Табела 15: Анализа варијансе (ANOVA) моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве

Одзив	Порекло								
	Резидуал			Модел			F-вредност	p-вредност	R ²
	DF	SS	MS	DF	SS	MS			
АА_{ДРРН} (%)	3,000000	41,993	13,9976	6,000000	2004,922	334,1536	23,87218	0,012541	0,954
АА_{ОН} (%)	3,000000	2,07644	0,692146	6,000000	56,55526	9,425877	13,61834	0,027934	0,982
ПМК (%)	3,000000	0,529437	0,176479	6,000000	7,263163	1,210527	6,859321	0,071314	0,934
витамин Це (mg/L)	3,000000	82,270	27,423	6,000000	8125,270	1354,212	49,38151	0,004338	0,946

DF – степен слободe, SS – сума квадрата, MS – средња вредност квадрата

Коефицијент детерминације за одзив AA_{DPPH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве показује високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности, тј. да мање од 4,6% варијација не може бити објашњено моделом (табела 14). p -вредности полиномних коефицијената указују да је према значајности најважнији линеарни фактор ММ. Линеарни и квадратни ефекти температуре ферментације, као и интеракција између независних променљивих су значајни на нивоу 0,10. Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} су приказани на Слици 40а. Може се видети да добијени модел предвиђа највише вредности AA_{DPPH} на температури ферментације од 37-40°C и садржају ММ у опсегу од 0,8-1,2% (117).



Слика 40: Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} (а), AA_{OH} (б), садржај ПМК (в) и витамина Це (г) за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од коприве

Коефицијент детерминације за одзив АА_{ОН} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве приказује високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности (табела 15). Само 1,8% варијација не може бити објашњено моделом. Што се тиче значајности полиномних коефицијената, њихове р-вредности указују да су најзначајнији фактори који утичу на АА_{ОН} линеарни фактор ММ и интеракција између ММ и температуре ферментације. Према позитивној интеракцији између две независне променљиве (табела 14) постоји синергистички ефекат ММ и температуре ферментације на АА_{ОН}. Ефекти независних променљивих на АА_{ОН} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве су приказани на слици 40б. Из ових резултата је очигледно да АА_{ОН} расте на вишим садржајима ММ на свим температурама ферментације. Добијени модел предвиђа највише вредности АА_{ОН} за садржај ММ у опсегу од 2,4-2,8% и температуру ферментације између 42 и 43°C.

За одзив који се односи на садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве, коефицијент детерминације показује да 6,6% варијација не може бити објашњено моделом (табела 15). Међу полиномним коефицијентима значајан ефекат на нивоу 0,05 има линеарни фактор ММ и интеракција између ММ и температуре ферментације. Ефекти независних променљивих на садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве су приказани на слици 40в. На вишим вредностима садржаја ММ, посматрани одзив је побољшан са порастом температуре ферментације. Добијени модел предвиђа највише вредности садржаја ПМК на температури ферментације од 42-43°C и садржају млечне масти у опсегу од 2,4-2,8%.

За витамин Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве је установљено да на основу R^2 вредности мање од 5,4% варијација не може бити објашњено моделом (табела 15). Према значајности полиномних коефицијената, јасно је да је, на основу њихових р-вредности, најважнији фактор који утиче на садржај витамина Це, квадратни ефекат садржаја ММ. Ефекти обе независне променљиве на садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве су дати на слици 40г. Највише вредности овог одзива су предвиђене за садржај ММ од 1,6-2,2% и најниже вредности температуре ферментације (117).

4.8.4. Статистичка анализа антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

Статистичка анализе за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице је дата у табели 16, а коефицијенти се односе на испитане променљиве.

ANOVA резултати за одабране одзиве су представљени у табели 18. Вредности $R^2 > 0,9$ указују на добро слагање експерименталних података са једначином [1]. F-вредност модела од 42,28149, 8,270910, 33,80556 и 64,21972 за AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це, редом, потврђује да су модели за одабране одзиве значајни на нивоу поверења од 95% (табела 17).

Коефицијент детерминације за одзив AA_{DPPH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице указује на високу корелацију између експериментално добијених и предвиђених вредности, тј. да мање од 2,1% варијација не може бити објашњено моделом (табела 17). р-вредности полиномних коефицијената показују да су, према значајности на нивоу 0,05, значајни фактори линеарни и квадратни ефекти температуре ферментације, као и интеракција ММ и температуре ферментације. Квадратни ефекат млечне масти је значајан на нивоу 0,10. На слици 41а се види да добијени модел предвиђа највише вредности AA_{DPPH} на температури ферментације 43°C и садржају ММ 0,8%.

За одзив AA_{OH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице постоји висока корелација између експериментално добијених и предвиђених вредности (табела 17). Само 3,0% варијација не може бити објашњено моделом. р-вредности полиномних коефицијената указују да је најзначајнији фактор који утиче на AA_{OH} интеракција између ММ и температуре ферментације. Према позитивној интеракцији између две независне променљиве (табела 16) постоји синергистички ефекат ММ и температуре ферментације на AA_{OH} . Линеарни фактор ММ је значајан на нивоу 0,10. Ефекти независних променљивих на AA_{OH} ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице су представљени на слици 41б. Из приказаних резултата је очигледно да AA_{OH} расте са порастом ММ на свим температурама. При нижим ММ AA_{OH} опада на вишој температури ферментације, али при вишим вредностима ММ порастом температуре ферментације AA_{OH} такође расте. Добијени модел предвиђа највише вредности AA_{OH} за садржај ММ у опсегу од 2,4-2,8% и температуру ферментације између 41,5 и 43°C.

Табела 16: Коefицијенти регресионе једначине моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

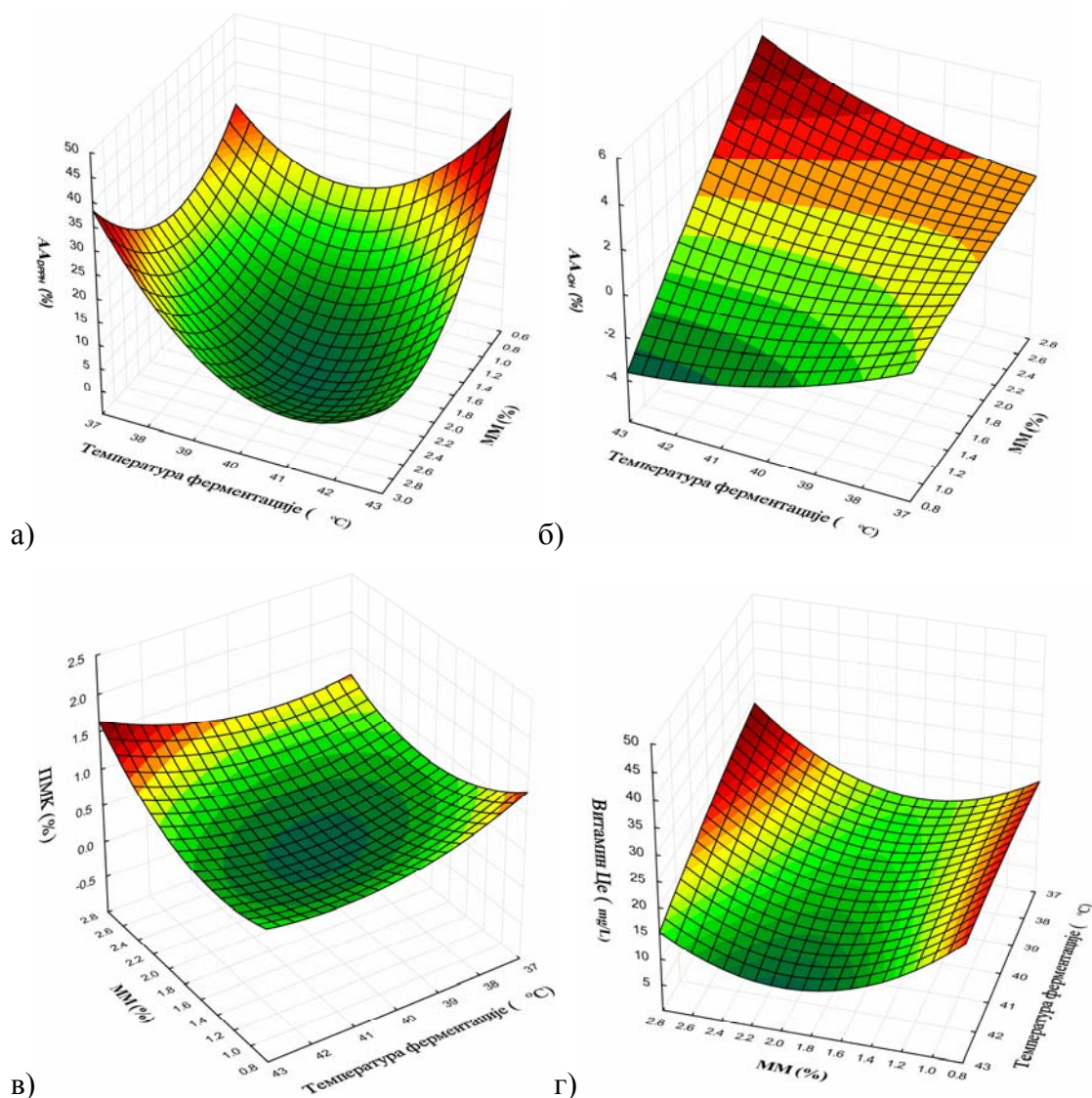
ефекти	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице							
	AA _{DPH} (%)		AA _{OH} (%)		ПМК (%)		витамин Це (mg/L)	
	коefицијент	р-вредност	коefицијент	р-вредност	коefицијент	р-вредност	коefицијент	р-вредност
одсечак								
b ₀	3005,258	0,01045 ^a	156,1828	0,33610	57,47428	0,12329	-141,585	0,74022
линеарни								
b ₁	68,446	0,10499	-20,4029	0,07892 ^b	-4,84048	0,05140 ^b	11,542	0,63864
b ₂	-152,008	0,01011 ^a	-6,9916	0,38149	-2,64003	0,14555	8,326	0,69764
квадратни								
b ₁₁	9,085	0,05993 ^b	-0,1465	0,86717	0,45903	0,06326 ^b	10,174	0,02128 ^a
b ₂₂	1,946	0,00942 ^a	0,0741	0,4490	0,03111	0,16215	-0,091	0,73362
интеракција								
b ₁₂	-2,648	0,03086 ^a	0,5898	0,04638 ^a	0,08399	0,09902 ^b	-1,208	0,09940 ^b

^aЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,05$ ^bЕфекти су статистички значајни, $\alpha = 0,10$

Табела 17: Анализа варијансе (ANOVA) моделованих одзива ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

Одзив	Порекло								
	Резидуал			Модел			F-вредност	p-вредност	R ²
	DF	SS	MS	DF	SS	MS			
АА_{ДРРН} (%)	3,000000	51,690	17,2301	6,000000	4371,099	728,5165	42,28149	0,005451	0,979
АА_{ОН} (%)	3,000000	3,53598	1,178661	6,000000	58,49162	9,748603	8,270910	0,055557	0,970
ПМК (%)	3,000000	0,138118	0,046039	6,000000	9,338282	1,556380	33,80556	0,007564	0,934
витамин Це (mg/L)	3,000000	28,688	9,5626	6,000000	3684,642	614,1070	64,21972	0,002943	0,956

DF – степен слобде, SS – сума квадрата, MS – средња вредност квадрата



Слика 41: Ефекти ММ и температуре ферментације на AA_{DPPH} (а), AA_{OH} (б), садржај ПМК (в) и витамина Це (г) за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице

Одзив садржаја ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице, према коефицијенту детерминације показује да 6,6% варијација не може бити објашњено моделом (табела 17). Међу полиномним коефицијентима значајан ефекат на нивоу 0,10 има линеарни и квадратни ефекат ММ. Ефекти независних променљивих на садржај ПМК ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице су приказани на слици 41в. Очигледно је да ПМК расте порастом ММ на свим температурама, тако да добијени модел предвиђа највише вредности ПМК при највишој ММ и температури ферментације.

За одзив витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице, установљено је на

основу R^2 вредности да мање од 4,4% варијација не може бити објашњено моделом (табела 17). Према значајности полиномних коефицијената, јасно је да је, на основу њихових p -вредности, значајан ефекат на нивоу 0,05 квадратни ефекат садржаја ММ. Интеракција између ММ и температуре ферментације је значајна на нивоу 0,10. Ефекти обе независне променљиве на садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице су дати на слици 41г. Највише вредности одабраног одзива су предвиђене за садржај ММ од 2,6-2,8% и температуру ферментације у опсегу од 37-39°C.

Садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на ртањском чају и чају од мајчине душице је око 50% виши у поређењу са традиционалним напитком добијеним помоћу комбухе култивисане на црном чају (40). Садржај витамина Це ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од коприве и чају од нане је до три пута виши у поређењу са традиционалним напитком добијеним помоћу комбухе култивисане на црном и зеленом чају (40).

4.8.5. Оптимизација процесних променљивих

Развијени модели могу да се користе за симулацију и оптимизацију променљивих фактора. Метода жељене функције је једна од највише коришћених метода у науци и инжењерству, која се примењује за оптимизацију процеса са вишеструким одзивима. Она комбинује вишеструке одзиве у један одзив који се назива жељена функција, избором вредности од 0 (један или више услова оптимизације није задовољено) до 1 (сви услови оптимизације су задовољени). Сваки од процењених одзива се трансформише у појединачну жељену вредност која је у опсегу од 0 (најлошија вредност) до 1 (најбоља вредност). Добијена жељена функција расте порастом вредности жељене функције одговарајућег одзива. Укупна жељена функција процеса је једнака геометријској средини појединачних жељених функција. Програм изискује дефинисање циљаних вредности процесних променљивих и одзива.

У првој комбинацији оптимизованих услова сва 4 одзива (AA_{DPPH} , AA_{OH} , садржај ПМК и витамина Це) су максимизована, док је у другом комплекту максимизација урађена само за AA_{DPPH} и AA_{OH} .

Резултати развијене оптимизације за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од коприве и ртањском чају су представљени у табели 18.

Табела 18: Оптимизоване вредности процесних променљивих и предвиђени одзиви за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од коприве и ртањском чају (117)

променљиве и одзиви	услов	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од коприве		ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на ртањском чају	
		оптимална вредност	укупна вредност жељене функције	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције
млечна маст (%)	у опсегу	0,94	0,52	1,74	0,63
температура (°C)	у опсегу	37,00		37,00	
АА _{ДРРН} (%)	максимално	21,27		29,60	
АА-ОН (%)	максимално	0,04		-0,18	
ПМК (%)	максимално	0,75		0,75	
витамин Це (mg/L)	максимално	31,97		26,46	
друга комбинација	услов	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције
млечна маст (%)	у опсегу	2,80	0,61	2,76	0,83
температура (°C)	у опсегу	40,95		42,91	
АА _{ДРРН} (%)	максимално	15,33		24,95	
АА-ОН (%)	максимално	3,24		4,09	
ПМК (%)	у опсегу	1,44		1,21	
витамин Це (mg/L)	у опсегу	20,34		16,20	

Током максимизације свих одзива, постигнуте су ниже вредности АА-ОН за одабрани оптимум вредности млечне масти од 0,94% и 1,74% за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од коприве и ртањском чају, редом, док је температура за оба коришћена инокулума била 37°C. Са друге стране, у случају максимизације само АА_{ДРРН} и

AA_{OH}, резултати указују да AA_{DRPH} има ниже вредности, док је пораст вредности AA_{OH} значајнији (табела 18).

Очигледно је да је за ову комбинацију оптималних вредности (млечна маст око 2,8% и температура око 41 и 43°C) антиоксидативна активност резултат неких других метаболита комбухе, а не само витамина Це, пошто су његове вредности ниже за другу комбинацију оптимизованих вредности. Међутим, за више вредности ПМК добија се боља укупна вредност жељене функције, што може да сугерише њихов већи утицај на AA у односу на витамин Це (табела 18).

Оптимизација вредности процесних променљивих и предвиђених одзива за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице и чају од нане су дати у табели 19.

При максимизацији свих одзива, постигнута је нешто нижа вредност AA_{OH} за одабрани оптимум вредности млечне масти од 1,47% за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од нане, док је температура износила 37,47°C. Вредност AA_{DRPH} претходно наведених производа је била иста за оба комплета оптимизованих вредности, док је у случају производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице вредност AA_{DRPH} била нижа, за оптималну вредност млечне масти од 2,8% и температуру од 37,52°C. Вредности садржаја ПМК за обе комбинације оптимизованих вредности су биле приближне (табела 19).

Табела 19: Оптимизоване вредности процесних променљивих и предвиђени одзиви за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице и чају од нане

променљиве и одзиви	услов	ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице		ферментисани млечни производи добијени помоћу комбухе култивисане на чају од нане	
		оптимална вредност	укупна вредност жељене функције	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције
прва комбинација					
млечна маст (%)	у опсегу	2,8	0,68	1,47	0,58
температура (°C)	у опсегу	37,52		37,47	
АА _{ДРРН} (%)	максимално	26,22		26,54	
АА-ОН (%)	максимално	1,82		0,14	
ПМК (%)	максимално	1,11		0,93	
витамин Це (mg/L)	максимално	28,20		27,03	
друга комбинација	услов	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције	оптимална вредност	укупна вредност жељене функције
млечна маст (%)	у опсегу	2,8	0,74	2,23	0,75
температура (°C)	у опсегу	37		37	
АА _{ДРРН} (%)	максимално	33,70		26,54	
АА-ОН (%)	максимално	1,73		0,78	
ПМК (%)	у опсегу	1,14		0,92	
витамин Це (mg/L)	у опсегу	29,14	21,45		

Јасно је да је у другој комбинацији оптимизованих вредности виша AA_{DPPH} у корелацији са вишим садржајем витамина Це, за производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице. Виша вредност AA_{OH} за производе добијене помоћу комбухе култивисане на чају од нане није у корелацији са садржајем витамина Це, пошто је његова вредност нижа у другој комбинацији оптимизованих вредности (табела 19).

У случају истовремене максимизације AA_{DPPH} и AA_{OH} , док су друга два одзива (ПМК и витамин Це) стављена у опсег добијених експерименталних резултата, жељена функција има више вредности у случају свих добијених производа.

Може се закључити да дефинисане оптималне вредности значајно варирају у оквиру различитих комбинација оптимизованих услова. У случају истовремене максимизације свих одабраних одзива жељена функција има ниже вредности за сва четири коришћена инокулума.

5. ЗАКЉУЧАК

- Применом одговарајућег поступка производње у лабораторијским условима, добијени су ферментисани млечни производи помоћу комбухе култивисане на чајевима од лековитог биља. Полазни супстрат је било млеко са 0,8, 1,6 и 2,8% млечне масти, док су процеси ферментације изведени на температурама 37, 40 и 43°C. Инокулум коришћен као стартер култура је био напиток од комбухе култивисане на ртањском чају, чају од нане, коприве и мајчине душице, а додаван је у млеко у количини од 10%.
- Процес ферментације је заустављен након достизања вредности рН од 4,5 или најдуже 17 часова. Ферментисани млечни производи су најбрже произведени коришћењем инокулума комбухе култивисане на ртањском чају (просечно 11 часова 40 мин), док је најдуже трајала ферментација изведена помоћу инокулума комбухе са мајчином душицом (просечно 12 часова 45 мин).
- Физичко-хемијске карактеристике и хемијски састав свих добијених ферментисаних млечних производа су у складу са Правилником и не разликују се значајно, што указује на уједначен квалитет производа.
- Највишу укупну сензорну оцену је добио узорак произведен из млека са 2,8% млечне масти додатком комбухе култивисане на ртањском чају, на температури од 43°C (100%), а која је резултат правилно формиране структуре гела, униформне беле боје и мириса и укуса карактеристичних за ферментисане млечне производе добијене применом комбуха-стартера са ртањским чајем.
- Најнижу вредност атерогеног индекса, који је индикатор ризика липида у исхрани на кардиоваскуларне болести, имао је ферментисани млечни производ добијен додатком комбухе култивисане на чају од коприве, из млека са 2,8% млечне масти, на температури од 43°C (2,12), што га чини најпогоднијим за здравље људи.
- Утврђена је релативна антиоксидативна активност добијених ферментисаних млечних производа према млеку на веома реактивне хидрокси и стабилне 1,1-дифенил-2-пикрил-хидразил радикале. Установљен је синергистички ефекат млечне масти и температуре ферментације на антиоксидативну активност на хидрокси радикале, за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на ртањском чају, чају од нане, коприве и мајчине душице. Оптимизација процеса производње ферментисаних млечних производа, у зависности од температуре ферментације, млека са различитим процентом млечне масти и различитог

инокулума комбухе, је изведена са циљем добијања производа најбољих антиоксидативних карактеристика.

- Моделовани одзиви и предвиђања за садржај полинезасићених масних киселина и антиоксидативну активност на хидрокси радикале су врло слични за ферментисане млечне производе добијене помоћу комбухе култивисане на ртањском чају и чају од коприве, као и за садржај полинезасићених масних киселина ферментисаних млечних производа добијених помоћу комбухе култивисане на чају од мајчине душице и чају од нане.
- Метода одзивних површина се показала као одговарајући начин моделовања математичког представљања за антиоксидативну активност на 1,1-дифенил-2-пикрил-хидразил радикале, антиоксидативне активности на хидрокси радикале, садржаја полинезасићених масних киселина и витамина Це, зависно од садржаја млечне масти и температуре ферментације и такође, као користан начин за оптимизацију услова процеса.
- Design expert анализа указује да антиоксидативна активност може бити резултат и осталих метаболита комбухе, осим витамина Це и полинезасићених масних киселина.
- Резултати антиоксидативне активности произведених напитака би могли да се примене у избору инокулума комбухе за добијање нових ферментисаних млечних производа изражених антиоксидативних својстава, што би могло да има и практичну примену. На основу добијене вредности жељене функције Design expert анализом и вредности испитаних антиоксидативних активности, инокулум комбухе са ртањским чајем се може препоручити за производњу.

6. ЛИТЕРАТУРА

1. Halliwell, B. (2011): Free radicals and antioxidants—*quo vadis?*. Trends in Pharmacological Sciences, 32(3), 125-130.
2. Mimić-Oka, J., Simić, D., Simić, T. (1999): Free radicals in cardiovascular diseases. The scientific journal ФАКТА UNIVERSITATIS (Series: Medicine and biology), 6(1), 11-22.
3. Арсић Комљеновић, Г., Микић, Д., Кенић, Ј. (2010): Стрес и реакција на стрес. Часопис за социјалну медицину, јавно здравље, здравствено осигурање, економику и менаџмент у здравству, 2, 9-15.
4. Mata, A.T., Proença, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araújo, M.E.M. (2007): Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food Chemistry, 103(3), 778-786.
5. Hsu, C. F., Zhang, L., Peng, H., Travas-Sejdic, J., Kilmartin, P. A. (2008): Scavenging of DPPH free radicals by polypyrrole powders of varying levels of overoxidation and/or reduction. Synthetic Metals, 158(21-24), 946-952.
6. Andallu, B., Shankaran, M., Ullagaddi, R., Allagadda, V.K. (2011): Efficacy of curry (*Murraya koeniggi*) leaves in scavenging free radicals *in vitro* and controlling oxidative stress *in vivo*. Biomedicine & Preventive Nutrition, 1(4), 263-267.
7. Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M.E. (2004): Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). Journal of Ethnopharmacology, 90(2-3), 205-215.
8. Pavlović, V., Cekić, S., Ranković, G., Stoiljković, N. (2005): Antioxidant and pro-oxidant effect of ascorbic acid. Acta Medica Medianae, 44(1), 65-68.
9. Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G., Prior, R.L. (2004): Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. Journal of Food Composition and Analysis, 17(3-4), 407-422.
10. Finley, J.W., Kong, A.N., Hintze, K.J., Jeffery, E.H., Ji, L.L., Lei, X.G. (2011): Antioxidants in foods: state of the science important to the food industry. Journal of Agricultural and food chemistry, 59(13), 6837-6846.
11. Fecka, I., Turek, S. (2008): Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. Food Chemistry, 108(3), 1039-1053.

12. Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Domínguez, J.M., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M.J., Parajó, J.C. (2001): Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
13. Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A., Prior, R.L. (1999): Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4638-4644.
14. Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401-436.
15. Chung, H.S., Chang, L.C., Lee, S.K., Shamon, L.A., van Breemen R.B., Mehta, R.G., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M., Douglas K.A. (1999): Flavonoids constituents of *Chorizanthe diffusa* with potential cancer chemopreventive activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 36-41.
16. Sawa, T., Nakao, M., Akaike, T., Ono, K., Maeda, H. (1999): Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 397-402.
17. Savatović, S., Četković, G., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S. (2012): Tomato waste: a potential source of hydrophilic antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(2), 129-137.
18. Vulić, J., Čanadanović-Brunet, J., Četković, G., Tumbas, V., Djilas, S., Četojević-Simin, D., Čanadanović, V. (2012): Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 4(3), 670-678.
19. Berger, R.G., Lunkenbein, S., Ströhle, A., Hahn, A. (2012): Antioxidants in food: mere myth or magic medicine?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(2), 162-171.
20. Малбаша, Р. (2009): Хемијска карактеризација производа од комбухе. Монографија, Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија.
21. Dufresne, C., Farnworth, E. (2000): Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33(6), 409-421.
22. Nguyen, V.T., Flanagan, B., Mikkelsen, D., Ramirez, S., Rivas, L., Gidley, M.J., Dykes, G.A. (2010): Spontaneous mutation results in lower cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha. *Carbohydrate Polymers*, 80(2), 337-343.

23. Teoh, A.L., Heard, G., Cox, J. (2004): Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 119–126.
24. Bhattacharya, S., Gachhui, R., Sil, P.C. (2011): Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, 18(3), 221-234.
25. Hesseltine, C.W. (1965): A Millenium of Fungi, Food, and Fermentation. *Mycologia*, 57(2), 149-197.
26. Bauer-Petrovska, B., Petrushevska-Tozi, L. (2000): Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(2), 201–205.
27. Chen, C., Liu, B.Y. (2000): Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 834–839.
28. Belloso-Morales, G., Hernández-Sánchez, H. (2003): Manufacture of a beverage from cheese whey using a „tea fungus“ fermentation. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 45(1-2), 5-11.
29. Malbaša, R., Milanović, S., Lončar, E., Đurić, M., Carić, M., Iličić, M., Kolarov, Lj. (2009): Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chemistry*, 112(1), 178-184.
30. Iličić, M., Kanurić, K., Milanović, S., Lončar, E., Djurić, M., Malbaša, R. (2012): Lactose fermentation by Kombucha-a process to obtain new milk-based beverages. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(1), 7013-7021.
31. Milanović, S., Kanurić, K., Vukić, V., Hrnjez, D., Iličić, M., Ranogajec, M., Milanović, M. (2012): Physicochemical and textural properties of kombucha fermented dairy products. *African Journal of Biotechnology*, 11(9), 2320-2327.
32. Pejić, B., Milanović, S., Lazić, V., Iličić, M., Vukić, V., Kanurić, K., Krkić, N., Ranogajec, M. (2012): Influence of packaging conditions on the properties of milk-based kombucha beverage. *Milchwissenschaft*, 67(3), 253-257.
33. Frank, G.W. (1995): *Das Teepilz-Getränk*. Ennsthaler Verlag, A-4402 Steyr.
34. Sadeghizade, S., Malekaneh, M., Zarban, A. (2011): Effect of Kombucha tea on blood biochemical markers of alloxan induced diabetic rats. *Clinical Biochemistry*, 44(13 Supplement), 348.
35. Jayabalan, R., Baskaran, S., Marimuthu, S., Swaminathan, K., Yun, S. E. (2010): Effect of Kombucha Tea on Aflatoxin B₁ Induced Acute Hepatotoxicity in Albino Rats-prophylactic and Curative Studies. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53(4), 407-416.

36. Bhattacharya, S., Manna, P., Gachhui, R., Sil, P. (2011): Protective effect of kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 49(7), 511-524.
37. Yapar, K., Cavusoglu, K., Oruc, E., Yalcin, E. (2010): Protective effect of kombucha mushroom (KM) tea on phenol-induced cytotoxicity in albino mice. *Journal of Environmental Biology*, 31(5), 615-621.
38. Chu, S.C., Chen, C. (2006): Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502-507.
39. Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., Swaminathan, K. (2008): Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227-234.
40. Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Čanadanović-Brunet, J.M. (2011): Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731.
41. Sai Ram, M., Anju, B., Pauline, T., Prasad, D., Kain, A.K., Mongia, S.S., Sharma, S.K., Singh, B., Singh, R., Ilavazhagan, G., Kumar, D., Selvamurthy, W. (2000): Effect of Kombucha tea on chromate(VI)-induced oxidative stress in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1-2), 235-240.
42. Konovalov, I.N., Semenova, M.N. (1955): K fiziologii „čajnogo griba“. *Botanicheskiy zhurnal, Moskva*, 40(4), 567-570.
43. Steinkraus, K.H., Shapiro, K.B., Hotchkiss, J.H., Mortlock, R.P. (1996): Investigations into the Antibiotic Activity of Tea Fungus/Kombucha Beverage. *Acta Biotechnologica.*, 16(2-3), 199-205.
44. Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., Steinkraus, K.H. (1998): Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented Tea *Kombucha*. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*, 31(3), 291-296.
45. Sreeramulu, G., Zhu, Y., Knol, W. (2000): Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589-2594.
46. Battikh, H., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2012): Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 71-77.
47. Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., Yun, S.E. (2010): Biochemical Characteristics of Tea Fungus Produced During Kombucha Fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 843-847.

48. Murugesan, G.S., Sathishkumar, M., Swaminathan, K. (2005): Supplementation of waste tea fungal biomass as adietary ingredient for broiler chicks. *Bioresource Technology*, 96(16), 1743-1748.
49. Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A., Bhat, R. (2012): Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19(1), 109-117.
50. Малбаша, Р. (2004): Истраживање антиоксидативне активности напитка од чајне гљиве. Докторска дисертација, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад.
51. Mukhtar, H., Ahmad, N. (2000): Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1698-1702.
52. Markov, S.L., Malbaša, R.V., Hauk, M.J., Cvetković, D.D. (2001): Investigation of tea fungus microbe associations. I. The Yeasts. *Acta Periodica Technologica*, 32, 133-138.
53. Reiss, J. (1994): Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 198(3), 258–261.
54. Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U., Teuber, M. (1995): Microbiology and fermentation balance in kombucha beverage obtained from a tea fungus fermentation. *Systems Applied Microbiology*, 18(4), 590–594.
55. Диклић, Н. (1974): Род *Satureia*. In: Флора СР Србије, VI том, 455-458.
56. de Oliveira, T.L.C., de Araújo Soares, R., Mendes Ramos, E., das Graças Cardoso, M., Alves, E., Hilsdorf Piccoli, R. (2011): Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3), 546-555.
57. Zavatti, M., Zanolli, P., Benelli, A., Rivasi, M., Baraldi, C., Baraldi, M. (2011): Experimental study on *Satureja montana* as a treatment for premature ejaculation. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 629-633.
58. Јанковић, М.М. (1974): Род *Mentha*. In: Флора СР Србије, VI том, 512-526.
59. Akdogan, M., Ozguner, M., Kocak, A., Oncu, M., Cicek, E. (2004): Effects of peppermint teas on plasma testosterone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. *Urology*, 64(2), 394-398.

60. Telci, İ., Kacar, O., Bayram, E., Arabacı, O., Demirtaş, İ. Yılmaz, G., Özcan İ., Sönmez, Ç., Göksu, E. (2011): The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected (*Mentha piperita* L.) clones peppermint. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 1193-1197.
61. Areias, F.M., Valentão, P., Andrade, P.B., Ferreres, F., Seabra, R.M. (2001): Phenolic fingerprint of peppermint leaves. *Food Chemistry*, 73(3), 307-311.
62. Блечић, В. (1970): Род *Urtica*. In: Флора СР Србије, II том, 62-65.
63. Cummings, A.J., Olsen, M. (2011): Mechanism of Action of Stinging Nettles. *Wilderness & Environmental Medicine*, 22(2), 136-139.
64. Hojnik, M., Škerget, M., Knez, Ž. (2007): Isolation of chlorophylls from stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Separation and Purification Technology*, 57(1), 37-46.
65. Диклић, Н. (1974): Род *Thimus*. In: Флора СР Србије, VI том, 475-509.
66. Stahl-Biskup, E., Venskutonis, R.P. (2004): 19. Thyme, in: *Handbook of herbs and spices* (Ed. Peter, K.V.), vol. 2, Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge, England.
67. Царић, М., Милановић, С. (1997): *Топљени сир*, ИП Наука, Београд.
68. Ристић, Г., Обрадовић, Д., Карић, А. (1999): Млеко и млечни производи као „функционална храна“, *Прехрамбена индустрија-Млеко и млечни производи*, 10(1-2), 2-6.
69. Tamime, A.Y. (2006): *Fermented milks*. Blackwell Science Ltd, a Blackwell Publishing company, Oxford.
70. Nauth, K.R. (2006): Yogurt, In: *Handbook of Food Science, Technology and Engineering, Volume 4*, Ed.: Hui, Y. H., et al., Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York, 152-1 – 152-15.
71. Prasanna, P.H.P., Grandison, A.S., Charalampopoulos (2013): Microbiological, chemical and rheological properties of low fat set yoghurt produced with exopolysaccharide (EPS) producing *Bifidobacterium* strains. *Food Research International*, 51(1), 15-22.
72. Милановић, С. (1997): Ферментисани млечни напаци за специјалне намене, In: *Квалитет млека и ферментисаних производа*. Д. Обрадовић и сар., Београд, 49-55.
73. Renner, E., Schaafsma, G., Scott, K.J. (1989): Micronutrients in Milk, In: *Micronutrients in Milk and Milk Based Food Products*. Ed. Renner E., Elsevier Applied Science, Essex, 1-70.

74. Coban, E.P., Biyik, H.H., Yavuz, M. (2012): Comparison of antimicrobial activity of different yoghurt samples. 15th European Congress on Biotechnology, 23–26 September 2012, Istanbul, Turkey, Abstracts, Volume 29, Supplement, 116.
75. Обрадовић, Д. (2008): Ферментисана млека – Савремени трендови. Биотехнологија у сточарству, 101.
76. Xiao-Hua, C., Shu-Jun C., Yu, W., Jian-Rong, H. (2013): Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 349-352.
77. Puerari, C., Teixeira Magalhães, K., Freitas Schwan, R. (2012): New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634-640.
78. Wszolek, M., Kupiec-Teahan, B., Skov Guldager, H., Tamime, A.Y. (2006): Production of Kefir, Koumiss and other related products, In: *Fermented milks*. Ed. Tamime, A.Y., Blackwell Science, 175-203.
79. Piermaria, J., Mariano de la Canal, Abraham, A. (2008): Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *Food Hydrocolloids*, 22(8), 1520-1527.
80. Царић, М., Милановић, С., Вуцеља, Д. (2000): Стандардне методе анализе млека и млечних производа, Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду Прометеј, Нови Сад.
81. Dodić, J.M., Vučurović, D.G., Grahovac, J.A., Dodić, S.N., Popov, S.D., Jokić, A.I. (2011): Utilization of maltose enriched spent grains liquor for xanthan production. *Acta Periodica Technologica*, 42, 211-221.
82. Врбашки, Љ., Марков, С. (1992): Практикум из микробиологије, Прометеј, Нови Сад, Србија.
83. Ancerewicz, J., Migliavacca, E., Carrupt, P.A., Testa, B., Brée, F., Zini, R., Tillement, J.P., Labidalle, S., Guyot, D., Chauvet-Monges, A.M., Crevat, A., Le Ridant, A. (1998): Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(1), 113-120.
84. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
85. Живковић, Ј., Сунарић, С., Трутић, Н., Павловић, Р., Коцић, Г., Николић, Г., Јовановић, Т. (2009): DPPH radical-scavenging activity of pasteurized cow milk. *Food industry-Milk and dairy products*, 20(1-2), 45-47.

86. Deeseenthum, S., Pejovic, J. (2010): Bacterial inhibition and antioxidant activity of kefir produced from Thai jasmine rice milk. *Biotechnology*, 9(3), 332-337.
87. Малбаша, Р.В., Лончар, Е.С., Коларов, Љ.А. (2009): Одређивање витамина Це у ферментисаним млечним производима од комбухе. *Прехрамбена индустрија-Млеко и млечни производи*, 20(1-2), 31-34.
88. Kravić S., Suturović Z., Brezo T., Karišik-Đurović A., Vitas J., Malbaša R., Švarc-Gajić J., Stojanović Z. (2011): Characterization of fatty acid composition in milk-based kombucha products. 2nd CEFSE (Center of Excellence in Food Safety and Emerging Risks) WORKSHOP Persistent organic pollutants in food and the environment. 26th Symposium on Recent Developments in Dairy Technology. BIOXEN seminar Novel approaches for environmental protection, 8-10 September 2011, Novi Sad, Serbia Proceedings, 268-272.
89. Атамер, М., Царић, М., Милановић, С., Гаварић, Д. (1996): Квалитет јогурта произведеног из УФ млека. *Зборник матице српске за природне науке*, Матица српска Нови Сад, 91, 19-26.
90. Guzmán-González, M., Morais, F., Ramos, M., Amigo, L. (1999): Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(8), 1117-1122.
91. Радовановић, Р., Попов-Раљић, Ј. (2001): Сензорна анализа прехранбених производа. Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет-Београд, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад.
92. Иличић, М. (2010): Оптимизација технолошког процеса производње функционалног ферментисаног млечног напитка. Докторска дисертација, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад.
93. Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., Tiwary, A.K. (2012): Optimization of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, 132(3), 1113-1120.
94. STATISTICA (Data Analysis Software System), v. 10, StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2010).
95. Design-Expert 7.1.6, 2002. Stat-Ease, Inc., MN, USA.
96. Правилник о квалитету производа од млека и стартер култура (2010). „Сл. гласник РС“, бр. 33/2010 и 69/2010.
97. Lindmark Månsson, H. (2008): Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*, 52, doi: 10.3402/fnr.v52i0.1821.

98. Kneifel, W., Paquin, P., Abert, T., Richard, J.-P. (1991): Water-Holding Capacity of Proteins with Special Regard to Milk Proteins and Methodological Aspect – A Review. *Journal of Dairy Science*, 74(7), 2027-2041.
99. Lucey, J.A., Tamehana, M., Singh, H., Munro, P.A. (2001): Effect of heat treatment on the physical properties of milk gels made with both rennet and acid. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 559-565.
100. Jovanović, S., Maćej, O., Barać, M. (2004): Influence of various coagulation factors on chemical composition of sera gained by centrifugation from casein gel. *Journal of Agricultural Sciences*, 49(2), 219-232.
101. Jenness R., (1988): Composition of milk. In: Wong N.P., Keeney M. & Marth E.H., eds. *Fundamentals of dairy chemistry*, 3rd ed. New York, USA: Van Nostrand Reinhold Company.
102. Collomb M., Bühler T. (2000): Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait. 1. Optimisation et validation d'une méthode générale à haute résolution. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 91, 306-332.
103. Mensink, R., Katan, M. (1992): Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 12(8), 911-919.
104. Aro, A., Jauhiainen, M., Partanen, R., Salminen, I., Mutanen, M. (1997): Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65(5), 1419-1426.
105. Hu, F., Stampfer, M., Manson, J., Ascherio, A., Colditz, G., Speizer, F., Hennekens, C., Willet, W. (1999): Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(6), 1001-1008.
106. Ulbricht, T., Southgate, D. (1991): Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338(8773), 985-992.
107. Molyneux, P. (2004): The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and technology*, 26(2), 211-219.
108. Osman, A.M. (2011): Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH[•]) with (+)-catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH[•] and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 412(3), 473-478.

109. Faure, A.M, Andersen, M.L., Nyström, L. (2012): Ascorbic acid induced degradation of beta-glucan: Hydroxyl radicals as intermediates studied by spin trapping and electron spin resonance spectroscopy. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2160-2168.
110. Xiang, Q., Yu, J., Wong, P.K. (2011): Quantitative characterization of hydroxyl radicals produced by various photocatalysts. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357(1), 163-167.
111. Certik, M., Shimizu, S. (1999): Biosynthesis and Regulation of Microbial Polyunsaturated Fatty Acid Production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 87(1), 1-14.
112. Fang, Y-Z., Yang, S., Wu, G.(2002): Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.
113. Petrović, M., Gačić, M., Karačić, V., Gottstein, Ž., Mazija, H., Medić, H. (2012): Enrichment of eggs in n-3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. *Food Chemistry*, 135(3), 1563-1568.
114. Stojiljkovic, N., Stoiljkovic, M., Randjelovic, P., Veljkovic, S., Mihailovic, D. (2012): Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(1-2), 69-74.
115. Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001): Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(7), 703-725.
116. Schlueter, A.K., Johnston, C.S. (2011): Vitamin C: Overview and Update. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(1), 49-57.
117. Vitas, J.S., Malbaša, R.V., Grahovac, J.A., Lončar, E.S. (2013): The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quaterly*, 19(1), 129-139.

7. БИОГРАФИЈА

Рођена сам 1985. године у Госпићу, Република Хрватска, од оца Саве и мајке Милене. Основну школу „Вук Караџић“ у Бајмоку завршила сам 2000. године, а Средњу медицинску школу „Др Ружица Рип“ у Сомбору, смер фармацеутски техничар, 2004. године. И у основној, и у средњој школи била сам носилац Вукове дипломе.

Након завршетка средње школе уписала сам Технолошки факултет у Новом Саду, на коме сам дипломирала 15. јула 2009. године, са оствареном укупном просечном оценом у току студија од 9,18. У току школске 2008/2009. године била сам стипендиста Фонда за младе таленте Републике Србије.

Школске 2009/2010. године уписала сам докторске студије на Технолошком факултету у Новом Саду. Од фебруара 2010. до децембра 2011. године била сам ангажована као стипендиста-докторант Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, на два пројекта:

- ❖ Пројекат ТР 20008 „Функционални ферментисани млечни напиток – нова технологија“, Министарство за науку и технолошки развој Републике Србије, 2008-2010.
- ❖ Пројекат ИИИ 46009 „Унапређење и развој хигијенских и технолошких поступака у производњи намирница животињског порекла у циљу добијања квалитетних и безбедних производа конкурентних на светском тржишту“, потпројекат „Развој и унапређење технологије функционалних производа од млека“, Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, 2011-

Од децембра 2011. до јануара 2013. била сам запослена као истраживач-сарадник на Технолошком факултету у Новом Саду, на пројекту ИИИ 46009, а од 01.01.2013. изабрана сам за асистента за ужу научну област Технолошко-инжењерске хемије, на истом факултету.

Говорим енглески и немачки језик.